

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

ISABELA BORGES DE MELO

**Efeito de polimorfismos genéticos do gene TRPA1 sobre
as alterações hemodinâmicas induzidas pelo propofol**

Ribeirão Preto
2022

ISABELA BORGES DE MELO

Efeito de polimorfismos genéticos do gene TRPA1 sobre as alterações hemodinâmicas induzidas pelo propofol

Versão corrigida. A versão original encontra-se disponível tanto na Biblioteca da Unidade que aloja o Programa, quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD).

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Anestesiologia

Orientadora: Prof. Dra. Waynice Neiva de Paula Garcia

Ribeirão Preto
2022

Autorizo a reprodução e divulgação parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Melo, Isabela Borges de

Efeito de polimorfismos genéticos do gene TRPA1 sobre as alterações hemodinâmicas induzidas pelo propofol / Isabela Borges de Melo - Ribeirão Preto, 2022.

83p.: il.; 30cm

Dissertação (Mestrado em Ciências) – Área de Concentração: Anestesiologia – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, 2022
Orientadora: Paula-Garcia, Waynice Neiva de

Versão corrigida

1. Anestesia. 2. TRPA1 3. Pressão arterial 4. Polimorfismos genéticos 5. Propofol.

MELO, I. B. Efeito de polimorfismos genéticos do gene TRPA1 sobre as alterações hemodinâmicas induzidas pelo propofol. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Aos meus pais, Heloísa e Moacir, por serem meu maior incentivo na alçada dos meus objetivos.

Aos meus irmãos, Nathália e Lucas, por serem âncoras e estarem ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

A minha família, em especial aos meus pais: Heloísa Helena Borges de Melo e Moacir de Melo Júnior, que sempre me incentivam na busca pelo conhecimento, não medindo esforços para a educação de seus filhos. Agradeço por serem minhas maiores referências profissionais e pessoais, sempre pautados no amor.

A minha orientadora: Prof^a. Dra. Waynice Neiva de Paula Garcia, por ser um exemplo de dedicação e maestria. Agradeço pela sua disponibilidade incomparável e apoio incondicional, guiando e orientando todo o percurso até aqui. Agradeço imensamente a oportunidade de ser sua aluna.

Aos professores: Prof^o. Dr. José Eduardo Tanus dos Santos e Riccardo Lacchini pela imensa colaboração na pesquisa.

Ao Prof^o. Dr Luís Vicente Garcia, a quem admiro profundamente e que tanto contribui para minha formação profissional e científica. Agradeço toda a confiança e orientação no presente estudo.

Ao Dr Gustavo Henrique Oliveira de Paula pela atenção, apoio, gentileza e orientação nos muitos momentos ao longo desta jornada, sendo imprescindível para a viabilização deste estudo.

A Dra Letícia Perticarrara Ferezin pela disponibilidade e enorme dedicação. Agradeço a colaboração amigável e profissional.

A todo o corpo docente que compõem a pós-graduação da USP-RP por todo o conhecimento compartilhado, contribuindo constantemente para minha formação.

Ao meu amigo, Rodrigo Vital de Miranda, pelo apoio desde o início, sendo fundamental para meu crescimento acadêmico e científico.

A todo corpo técnico-administrativo da secretaria de pós-graduação em Ciências da Saúde Aplicadas ao Aparelho Locomotor, em especial a Rita de Cássia Stela Cossalter.

Aos funcionários do Setor de Endoscopia do HCFMRP, pela atenção e colaboração, sempre prestativos.

Aos membros do Laboratório de Farmacologia pela colaboração imprescindível no manejo do material do estudo.

Aos voluntários que participaram deste estudo e a FAEPA pelo apoio financeiro.

Agradecimento especial à Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior – CAPES.

“O rio não quer chegar, mas ficar largo e profundo...” (GUIMARÃES ROSA, J., 1956, p. 37).

RESUMO

MELO, I. B. **Efeito de polimorfismos genéticos do gene TRPA1 sobre as alterações hemodinâmicas induzidas pelo propofol.** Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

O propofol é um dos anestésicos endovenosos mais utilizados em todo mundo. Suas propriedades anestésicas permitem que ele seja usado tanto para anestésias realizadas em centro cirúrgico quanto em procedimentos ambulatoriais. Contudo, os efeitos hipotensores associados ao propofol são cerne de preocupações entre anestesiológicos e demais médicos, visto que a hipotensão pode ser deletéria no pós-operatório ao aumentar a incidência de eventos isquêmicos cardiogênicos, delirium em pacientes idosos e despertar prolongado com retardo do retorno ao estado pré-anestésico. O gene TRPA1, presente no endotélio vascular, contribui para o efeito vasodilatador dos anestésicos, a citar o propofol. No presente estudo, testou-se a hipótese de que os polimorfismos rs920829, rs16937976 e rs13218757 do gene TRPA1 modulem os efeitos do propofol sobre parâmetros hemodinâmicos, quando analisados genótipos e haplótipos. Este estudo analisou 200 pacientes com medidas iniciais da pressão arterial e frequência cardíaca no momento 0'. Administrou-se então uma dose de 2 mg/kg de propofol e colheram-se os valores de pressão arterial e frequência cardíaca nos minutos 2, 4 e 10. Uma amostra de sangue foi colhida no momento 0' e 10'. Os resultados mostraram que para dois dos polimorfismos estudados (rs16937976 e rs13218757), houve maior queda na pressão arterial sistólica, média e diastólica para os genótipos homocigotos dominantes. Considerando-se os haplótipos, a menor queda nos valores de pressão arterial foi para o haplótipo CGA. Para os diferentes genótipos e haplótipos estudados, não se encontrou relação entre uma queda mais significativa da pressão arterial e um aumento dos níveis de NOx, nitrato e nitrito. Em relação à variação da frequência cardíaca, nenhum dos polimorfismos estudados apresentou alteração significativa. Com o melhor conhecimento genético da população e de como as medicações atuam nos pacientes, é possível planejar no futuro anestésias com menores efeitos colaterais mantendo o objeto clínico de cada medicação.

Palavras-Chave: Anestesia. TRPA 1. Pressão arterial. Polimorfismos genéticos. Propofol.

ABSTRACT

MELO, I. B. **Effect of TRPA1 gene polymorphisms on propofol-induced hemodynamic changes.** Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Propofol is one of the most widely used intravenous anesthetics worldwide. Its anesthetic properties allow it to be used both for anesthesia performed in the operating room and in outpatient procedures. However, the hypotensive effects associated with propofol are of concern among anesthesiologists and other physicians, as hypotension can be deleterious in the postoperative period by increasing the incidence of cardiogenic ischemic events, delirium in elderly patients and prolonged awakening with late return to the state preanesthetic. The TRPA1 gene, present in vascular endothelium, contributes to the vasodilator effect of anesthetics, including propofol. In the present study, it was tested the hypothesis whether the TRPA1 gene polymorphisms rs920829, rs16937976 and rs13218757 modulate the effects of propofol on hemodynamic parameters, when analyzing genotypes and haplotypes. This study analyzed 200 patients with baseline blood pressure and heart rate measurements at time 0'. A 2 mg/kg dose of propofol was then administered and blood pressure and heart rate values were collected at 2, 4 and 10 minutes. A blood sample was taken at time 0' and 10'. The results showed that for two of the studied polymorphisms (rs16937976 and rs13218757), there was a greater drop in systolic, mean and diastolic blood pressure for the dominant homozygous genotypes. Considering the haplotypes, the lowest drop in blood pressure values was for the CGA haplotype. For the different genotypes and haplotypes studied, there was not a relationship between a more significant drop in blood pressure and an increase in the levels of NOx, nitrate, and nitrite. Regarding heart rate variation, none of the studied polymorphisms showed significant change. With the best genetic knowledge of the population and of how medications work in patients, it is possible to plan anesthesia in the future with fewer side effects, keeping the clinical goal of each medication.

Keywords: Anesthesia. TRPA 1. Blood pressure. Genetic polymorphisms. Propofol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismos envolvidos na formação do óxido nítrico (NO) e na vasodilatação mediada pelo mesmo.....	24
Figura 2 - Traços de corrente representativos de correntes internas evocadas por propofol.....	25
Figura 3 - Fluxograma dos participantes estudo.....	37
Figura 4 - Efeitos dos genótipos CC (n = 127) e TC (n = 35) para o polimorfismo rs920829 do gene TRPA1 sobre as variações (Δ) na PA após a administração do propofol	40
Figura 5 - Efeitos dos genótipos CC (n = 119), CG + GG (n = 44) para o polimorfismo rs16937976 do gene TRPA1 sobre as variações (Δ) na PA após a administração do propofol.....	40
Figura 6 - Efeitos dos genótipos GG (n = 120) e AG + AA (n = 42) para o polimorfismo rs13218757 do gene TRPA1 sobre as variações (Δ) na PA após a administração do propofol.....	41
Figura 7 - Efeitos dos haplótipos do gene TRPA1 sobre as variações (Δ) na PA após a administração do propofol.....	43
Figura 8 - Efeitos de polimorfismos no gene TRPA1 sobre as variações (Δ) na FC após a administração do propofol.....	44
Figura 9 – Efeitos dos genótipos TRPA1 na pressão arterial (PA) antes da anestesia com propofol.....	46
Figura 10 - Efeitos dos haplótipos TRPA1 na pressão arterial (PA) antes da anestesia com propofol.....	47
Figura 11 – Impacto dos genótipos TRPA1 nas alterações nas concentrações de NOx, nitrito e nitrato induzidas pelo propofol.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características clínicas e laboratoriais dos pacientes.....	38
Tabela 2 – Frequência de genótipos, alelos e haplótipos do gene TRPA1 nos pacientes do estudo.....	39
Tabela 3 – Efeito do polimorfismo rs920839 no gene TRPA1 nas mudanças na pressão arterial induzida por propofol após ajuste para variáveis selecionadas.....	41
Tabela 4 – Efeito do polimorfismo rs16937976 no gene TRPA1 nas mudanças de pressão arterial induzida por propofol após ajuste para variáveis selecionadas.....	42
Tabela 5 - Efeito do polimorfismo rs13218757 no gene TRPA1 nas mudanças na pressão arterial induzida por propofol após ajuste para variáveis selecionadas.....	42
Tabela 6 - Efeito dos haplótipos TRPA1 nas mudanças na pressão arterial induzida por propofol após ajuste para variáveis selecionadas.....	43
Tabela 7 – Efeito dos genótipos TRPA1 nas mudanças na frequência cardíaca induzida pelo propofol após o ajuste para variáveis selecionadas.....	44
Tabela 8 – Efeito dos haplótipos TRPA1 nas mudanças na frequência cardíaca induzida pelo propofol após o ajuste para variáveis selecionadas.....	45
Tabela 9 – Análise descritiva dos diferentes genótipos do polimorfismo rs920829 relativo aos parâmetros idade e IMC.....	47
Tabela 10 - Análise descritiva dos diferentes genótipos do polimorfismo rs16937976 relativo aos parâmetros idade e IMC.....	48
Tabela 11 Análise descritiva dos diferentes genótipos do polimorfismo rs13218757 relativo aos parâmetros idade e IMC.....	48
Tabela 12 – Distribuição relativa a sexo para os diferentes polimorfismos.....	49

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1 PROPOFOL: ASPECTOS FARMACOLÓGICOS E CLÍNICOS.....	15
1.2 ALTERAÇÕES HEMODINÂMICAS INDUZIDAS PELO PROPOFOL.....	16
1.3 IECA E O RISCO PARA HIPOTENSÃO DURANTE A ANESTESIA COM PROPOFOL.....	17
1.4 RECEPTOR DE POTENCIAL TRANSITÓRIO ANQUIRINA 1 E RECEPTOR DE POTENCIAL TRANSITÓRIO VANILOIDE 1.....	19
1.5 TRPA1.....	21
2. HIPÓTESES	27
3. OBJETIVOS	29
4. MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1 SELEÇÃO DOS PARTICIPANTES.....	31
4.2 AVALIAÇÃO DE POSSÍVEIS ASSOCIAÇÕES ENTRE POLIMORFISMOS GENÉTICOS TRPA1 E SEUS HAPLÓTIPOS E OS EFEITOS HEMONDINÂMICOS EXERCICIDOS PELO PROPOFOL.....	31
4.3 PROCEDIMENTOS REALIZADOS.....	32
4.4 MÉTODOS.....	32
4.4.1 Extração do DNA Genômico.....	32
4.4.2 Medição das concentrações de nitrito e nitrato plasmático... ..	33
4.4.3 Genotipagens.....	33
4.4.4 Estimativa dos Haplótipos.....	34
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
5. RESULTADOS	37
6. DISCUSSÃO	53
7. CONCLUSÃO	61

REFERÊNCIAS.....	63
ANEXO.....	80
ANEXO - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.....	80
APÊNDICE.....	82
APÊNDICE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	82

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 PROPOFOL: ASPECTOS FARMACOLÓGICOS E CLÍNICOS

Do grego, anestesia significa “ausência de sensação”. O objetivo da anestesia é possibilitar que o paciente esteja em um condição reversível de estabilidade fisiológica, imobilidade e conforto durante e após a realização de um procedimento que seria danoso, amedrontador e doloroso (STOELTING; MILLER, 2007). Partindo disso, agentes anestésicos foram introduzidos durante o século XIX, o que possibilitou uma desejável revolução na área cirúrgico-anestésica, tornando a realização dos procedimentos segura e benéfica (TRAPANI et al., 2000). Por mais de cem anos, éter, clorofórmio e óxido nitroso foram utilizados amplamente, contudo a inalação desses líquidos voláteis para induzir a anestesia não era o bastante para produzir uma anestesia adequada (TRAPANI et al., 2000; URMAN; DESAI, 2012). Visto sua segurança, os anestésicos endovenosos são atualmente utilizados. O propofol (2,6 - diisopropilfenol) é um dos principais representantes dessa classe, sendo amplamente utilizado. (MARIK, 2004).

A partir de compostos fenólicos - que demonstraram efeitos hipnóticos em animais – o potencial anestésico do propofol foi confirmado clinicamente em 1977 (MARIK, 2004). O principal mecanismo de ação do propofol relaciona-se à modulação positiva da função inibitória do neurotransmissor ácido γ - aminobutírico (GABA), por meio da ativação direta do complexo ionóforo cloreto-receptor $GABA_A$ pós-sináptico, o que aumenta a condutância a íons cloreto e leva à hiperpolarização neuronal (HALES; LAMBERT, 1991; HARA et al., 1993; ORSER et al., 1994; ORSER et al., 1995). Somando-se a isso, ocorre também a redução da transmissão excitatória, inibindo o receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) do sistema glutamatérgico, possivelmente pela modulação alostérica do canal (HANS et al., 1994; (ORSER et al., 1995).

Os efeitos do propofol também se devem pela sua atuação sobre os canais lentos de cálcio, reduzindo o influxo desses íons, e à sua ação inibitória sobre os canais de sódio voltagem-dependentes (LINGAMANENI; HEMMING, 2003; OUYANG et al., 2003).

A rápida distribuição, o rápido clearance metabólico e o lento retorno para o compartimento periférico constituem o perfil farmacocinético do propofol (BRYSON;

FULTON; FAULDS, 1995). O resultado dessas características é um rápido início de ação e curta duração do efeito. O propofol é amplamente distribuído para tecidos altamente vascularizados, em seguida para o tecido muscular e então para o tecido adiposo (BRYSON; FULTON; FAULDS, 1995). Apresenta uma meia-vida entre um e oito minutos, considerada rápida, e outra lenta, que dura entre 30 e 70 minutos (MARIK, 2004). Seu metabolismo hepático deve-se à conjugação a glucoronídeos e sulfatos, formando compostos inativos de excreção renal (MARIK, 2004). Comorbidades como doenças hepáticas moderadas ou insuficiência renal não alteram significativamente seu perfil farmacocinético (BRYSON; FULTON; FAULDS, 1995). Contudo, recomenda-se parcimônia na administração da droga em pacientes cardiopatas e em idosos, visto possuírem um clearance reduzido (KIRKPATRICK et al., 1988).

Em prol de suas propriedades farmacológicas, apesar de promover analgesia mínima, o propofol apresenta efeitos sedativos, hipnóticos e amnésicos (BRYSON; FULTON; FAULDS, 1995). Pacientes recebendo propofol possuem respostas autonômicas menores aos estímulos dolorosos (MARIK, 2004). O propofol tem rápido início de ação, recuperação precoce e baixa incidência de náuseas e vômitos (SMITH et al., 1994). Considerando todas essas características, o propofol é utilizado em expressivos casos para indução e manutenção anestésica, apresentando um notável padrão de segurança (MARIK, 2004). Apesar disso, monitoração constante durante a administração dessa medicação é imprescindível, uma vez que alterações hemodinâmicas ocorrem e podem se associar a eventos adversos. (GRAGASIN et al., 2012).

1.2 ALTERAÇÕES HEMODINÂMICAS INDUZIDAS PELO PROPOFOL

A redução da pressão arterial é a alteração hemodinâmica mais importante decorrente do uso do propofol (REICH et al., 2005). Estudos demonstraram que ocorre uma redução da pressão arterial em torno de 30% quando utilizada a dose de indução de 2 mg.kg⁻¹ de propofol (MONK et al., 1987; CLAEYS et al., 1988). Parte desses efeitos hipotensores é proveniente da queda da resistência vascular periférica pela inibição do sistema nervoso simpático, causando vasodilatação (ROBINSON et al., 1997). Essa inibição do sistema nervoso simpático também causa uma redução da frequência cardíaca e da contratilidade miocárdica, sendo assim o propofol não

provoca taquicardia reflexa (NATHAN; ODIN, 2007). O propofol diminui a sensibilidade ao barorreflexo, sugerem estudos, o que justifica a ausência de taquicardia reflexa, o qual é um mecanismo fisiológico importante para o controle da pressão arterial a curto prazo e manutenção, pois, da estabilidade hemodinâmica. (KEYL et al., 2000; SATO et al., 2005).

O propofol também é capaz de provocar diretamente o relaxamento dos vasos efeito atribuído, em parte, ao estímulo a produção de óxido nítrico (NO) sanguíneos (PARK et al., 1995; MORENO et al., 1997; BOILLOT et al., 1999). Os efeitos vasodilatadores do propofol podem se relacionar a seus efeitos antioxidantes também, uma vez que esse anestésico possui estrutura similar ao α -tocoferol (vitamina E) (ANSLEY et al., 1998).

A estimativa é de que 68% dos pacientes anestesiados com propofol apresentam hipotensão induzida pelo fármaco (CHAUDHRI; KENNY, 1992; BENDEL et al., 2007; JONES et al., 2014). Apesar de serem manejáveis, as respostas hipotensoras provenientes do propofol podem prejudicar a pressão de perfusão dos órgãos e, assim, levar a desfechos cardiovasculares desfavoráveis, especialmente em populações especiais, a citar os idosos e pacientes hipertensos em uso de inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) (JENSEN et al., 1989; JONES et al., 2006; DEVEREAUX et al., 2008; RAILTON et al., 2010).

Ebert et al. (1992) mostraram que o propofol reduz a pré-carga, o que atribui-se em partes à ação na complacência venosa. Além disso, a queda na pós-carga também aparece como um mecanismo hipotensor. Contudo, visto não haver alterações nas concentrações plasmáticas de adrenalina e noradrenalina questionou-se a influência do tônus vascular simpático. O propofol então mostrou-se como um inibidor simpático, o que levaria a hipotensão. Ebert et al. (1992) demonstraram que o propofol atenua a regulação do barorreflexo. A combinação de níveis tônicos reduzidos de atividade simpática, uma resposta simpática prejudicada e vasodilatação direta podem resultar em uma queda sustentada nos valores de pressão arterial (EBERT et al., 1992).

1.3 IECA E O RISCO PARA HIPOTENSÃO DURANTE A ANESTESIA COM PROPOFOL

A hipertensão arterial sistêmica é uma doença multifatorial em que há valores elevados e sustentados de pressão arterial. Ela é responsável por mais de 7 milhões de mortes por ano no mundo e atinge cerca de um bilhão de indivíduos (CHOBANIAN et al., 2003; KEARNEY et al., 2005). O tratamento dos pacientes hipertensos constitui dieta adequada, prática regular de atividades físicas, perda de peso e medicação anti-hipertensiva, visando controlar os valores de pressão arterial e prevenir lesões de órgãos-alvo. (CHOBANIAN et al., 2003; TURNBULL, 2003). Considerando-se isso, os medicamentos do tipo inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) – que exercem efeitos benéficos para reduzir a morbimortalidade cardiovascular – são utilizados amplamente na terapia de hipertensão (LUEDER; KRUM, 2013).

Os IECAs possuem indiscutíveis efeitos benéficos para o tratamento da hipertensão, entretanto respostas hipotensoras indesejáveis aparecem durante a anestesia de pacientes em tratamento com tais medicações, podendo causar consequências cardiovasculares deletérias (CORIAT et al., 1994; BERTRAND et al., 2000; COMFERE et al., 2005; MALINOWSKA-ZAPRZALKA et al., 2005).

Neste contexto, a hipotensão provoca uma redução no fluxo sanguíneo cerebral em pacientes hipertensos tratados com o captopril, um dos IECA, porém não observada naqueles em tratamento com β -bloqueadores (JENSEN et al., 1989). Somado a isso, a hipotensão perioperatória aumenta a mortalidade de pacientes tratados com IECA submetidos à correção cirúrgica de aneurisma de aorta abdominal (RAILTON et al., 2010). Considerando-se o propofol, pacientes hipertensos tratados cronicamente com o IECA enalapril apresentaram uma resposta hipotensora maior ao anestésico comparados aos não-tratados (MALINOWSKA-ZAPRZALKA et al., 2005). Quanto maior a dose de propofol em pacientes tratados com IECA, maior a incidência de episódios de hipotensão (WEISENBERG et al., 2010).

Embora haja muitas evidências clínicas, os mecanismos dessas respostas hipotensoras pronunciadas pelo uso de propofol ainda não estão totalmente elucidados. A inibição da enzima conversora de angiotensina reduz a formação da angiotensina II e aumenta os níveis de bradicinina, gerando os efeitos anti-hipertensivos dos IECA com a vasodilatação e melhora da função endotelial (MENTZ et al., 2013). A bradicinina promove a liberação de óxido nítrico (NO) ao estimular o receptor de bradicinina B2 nas células endoteliais (LINZ et al., 1999). Tanto a vasodilatação causada pelos IECA quanto pelo propofol envolvem sinalização mediada pelo NO.

O NO é uma pequena molécula lipofílica e gasosa, que possui baixa meia-vida e desempenha um importante papel na homeostase cardiovascular, regulando o fluxo sanguíneo regional, o tônus vascular e a pressão arterial. Ele também confere propriedades tromborresistentes e ateroprotetoras ao endotélio (COCKCROFT, 2005; COOKE; DZAU, 1997). Ele é formado pelas enzimas NO-sintases (NOS), as quais catalisam a conversão de L-arginina em L-citrulina e NO. Existem três isoformas dessa enzima, são elas: endotelial (eNOS ou NOS3), induzida (iNOS ou NOS2) e neuronal (nNOS ou NOS1) (MONCADA; HIGGS, 1993). A iNOS é expressa em processos inflamatórios, contudo tanto a nNOS quanto a eNOS são isoformas constitutivas cálcio-dependentes, logo elas necessitam do aumento dos níveis de cálcio intracelular e da ligação desse com a calmodulina para sua ativação (MONCADA; HIGGS, 1993).

Recentemente foi demonstrado que o aumento da biodisponibilidade do NO parece corroborar para a exacerbação dos efeitos hipotensores do propofol em pacientes tratados com IECA. (OLIVEIRA et al., 2016).

Tal estudo examinou se os genótipos dos polimorfismos PRKCA (proteína quinase C alfa) e seus haplótipos, e as interações dos genótipos PRKCA e NOS3 (óxido nítrico sintase 3), impactam nos efeitos hipotensivos do propofol. As principais conclusões deste estudo foram que os genótipos variantes para os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) rs1010544 e rs16960228 PRKCA foram associados a efeitos hipotensivos aumentados e a aumentos mais elevados nas concentrações de nitrito induzidos pelo propofol. Também observaram que o haplótipo CCG foi associado a respostas hipotensivas aumentadas e maiores aumentos nos níveis de nitrito induzidos pelo propofol. Além disso, as interações significativas entre os genótipos PRKCA e NOS3 modificam os efeitos do propofol na redução da pressão arterial. A suspeita é que pacientes carregando os genótipos variantes para o SNP rs16960228 (GA + AA) podem expressar níveis mais elevados de PRKCA do que os portadores do genótipo GG, portanto, mais PKC α poderia estar disponível para ser ativado pelo propofol. Isso levaria a um aumento da ativação de NOS3 mediada por PKC α e, conseqüentemente, a níveis mais elevados de NO e a diminuições aumentadas na pressão arterial em resposta ao propofol.

1.4 RECEPTOR DE POTENCIAL TRANSITÓRIO ANQUIRINA 1 E RECEPTOR DE POTENCIAL TRANSITÓRIO VANILOIDE 1

O receptor de potencial transitório anquirina 1 (TRPA1) e o receptor de potencial transitório vaniloide 1 (TRPV1) são canais catiônicos controlados por ligante que desempenham papéis essenciais na regulação da dor e nas vias inflamatórias. Evidências recentes surgiram demonstrando um papel proeminente do TRPV1 na regulação da função vascular e embora os estudos que investigam o papel do TRPA1 na vasculatura sejam controversos, alguns relatórios recentes confirmaram que o canal do TRPA1 está envolvido na regulação do tônus vasomotor (SINHA et al., 2015). Além disso, a suprarregulação da expressão do TRPV1 apareceu como mediadora de condições fisiopatológicas relacionadas à hipertensão e diabetes, embora faltem estudos que investiguem o papel do TRPA1 no ambiente fisiopatológico.

O propofol ativa o TRPA1 e, até certo ponto, o TRPV1 em neurônios sensoriais e sistemas de expressão heterólogos. Na verdade, uma variedade de agentes anestésicos demonstrou interagir com os canais do TRP e ativar ou sensibilizar o canal. Além disso, o propofol restaura a sensibilidade do TRPV1 à estimulação agonista por meio de uma via dependente de TRPA1 envolvendo a ativação da proteína quinase C épsilon, demonstrando interferência entre os canais nos neurônios sensoriais (SINHA et al., 2015).

Sinha et al. (2015) em seu estudo mostraram que a redução de valores de pressão arterial média foi maior em camundongos que possuíam o TRPA1. Além disso, a inibição dos canais da sintase endotelial de óxido nítrico (eNOS) ou Canais de potássio dependentes de cálcio (BKCa) individualmente atenua acentuadamente a resposta depressora induzida por propofol, enquanto a inibição combinada virtualmente abole o efeito vasodilatador. Além disso, o efeito da inibição de eNOS e BKCa é perdido em camundongos em que foram abolidos o TRPA1 e TRPAV (SINHA et al., 2015).

Dois membros que são relevantes da família do receptor de potencial transitório (TRP), o TRPV1 e o TRPA1, são extremamente coexpressos em neurônios sensoriais periféricos e funcionam como transdutores sensoriais de estímulos nocivos. (PALAZZO; ROSSI; MAIONE, 2008). A sensibilidade relativa desses receptores para seus respectivos agonistas desempenha um papel importante na transdução de sinal nociceptivo. Diogenes et al (2007) mostraram que o fator de crescimento nervoso participa da regulação positiva do TRPA1 em neurônios do gânglio trigeminal. Essas atividades intensificadas do TRPA1 podem desempenhar um papel importante no desenvolvimento de hiperalgesia após lesão nervosa e inflamação na região orofacial.

As respostas relacionadas à dor induzida por propofol em camundongos foram abolidas em animais nulos para TRPA1 e não afetadas em animais nulos para TRPV1 (MATTA et al., 2007). Fischer et al (2010) demonstraram uma ativação induzida por propofol de TRPA1 e TRPV1 em células embrionárias de rim humano (HEK 293) transfectadas; entretanto, em neurônios ganglionares da raiz dorsal, a ativação induzida por propofol se correlacionou melhor com TRPA1 do que com TRPV1.

1.5 FÁRMACOS ANESTÉSICOS E O TRPA1

Apesar de os anestésicos serem utilizados há anos, os mecanismos moleculares de suas ações ainda estão sendo estudados. Estudos mostraram que o receptor de potencial transitório anquirina 1 (TRPA1), canal iônico nociceptivo, é alvo para óleo de mostarda (isotiocianato de alila, ou AITC) e wasabi (JORDT et al., 2004, 2006). O TRPA1 é responsável pelos efeitos nocivos dos anestésicos gerais (MATTA et al., 2008). Os anestésicos gerais estimulam os neurônios sensoriais de uma maneira dependente do TRPA1, estando o efeito excitatório ausente em neurônios deficientes em TRPV1. Além disso, Matta et al mostraram que os comportamentos de dor induzida por propofol são abolidos em animais em que o TRPA1 está ausente. Assim, TRPA1 parece essencial para a nocicepção evocada pelos anestésicos. Em uma nota prática, esses dados sugerem que antagonistas seletivos de TRPA1 podem representar uma estratégia de tratamento eficaz para prevenir os efeitos pró nociceptivos dos anestésicos gerais (MATTA et al., 2008).

Ademais, dor à infusão venosa de propofol, hiperalgesia evocada por isoflurano (EILERS et al., 2010) e a broncoscontração induzida pelo desflurano (SATO; YAMAKAGE, 2009; EILERS et al., 2010) não ocorrem em animais TRPA1-*null*. Somado a isso, os camundongos TRPA-1 *null* são mais rapidamente induzidos pelo isoflurano com menor irritação respiratória, quando comparados aos camundongos do tipo selvagem (WT) ou os camundongos TRPV1-*null*. (LI et al., 2015). O isoflurano induz hiperalgesia mecânica em camundongos por um mecanismo dependente do TRPA1. O isoflurano também induz constrição dependente de TRPA1 de brônquios isolados. Os anestésicos não irritantes não ativam o TRPA1 e não produzem hiperalgesia e constrição brônquica. Os anestésicos gerais produzem efeitos excitatórios, como irritação das vias aéreas, e contribuem para a dor pós-operatória. A ativação do TRPA1 pode contribuir para esses efeitos adversos (EILERS et al.,

2010). Não somente considerando-se a nocicepção, o TRPA1 localizado no endotélio vascular contribui para o efeito vasodilatador dos anestésicos, a citar o propofol (SINHA et al., 2015).

Contudo, os mecanismos moleculares envolvidos na detecção dos anestésicos pelo TRPA1 não são conhecidos. Estudos sugerem uma interação direta dos anestésicos com o TRPA1 (CORNETT et al., 2008; MATTA et al., 2008; TON et al., 2017).

Primeiramente, a ativação do TRPA1 é retida em placas livres de células, sugerindo uma ação delimitada por membrana. Em segundo lugar, a capacidade dos anestésicos de ativar o TRPA1 (isoflurano e desflurano são ativos; halotano e sevoflurano são inativos) não se correlaciona com a capacidade dos anestésicos de se dividirem na membrana, argumentando contra a sinalização por meio da fluidez da membrana. Terceiro, os álcoois de cadeia longa (que se prevê que imitem a ligação do anestésico volátil) exibem um corte de comprimento da cadeia de carbono no TRPA1 entre o octanol e o decanol, consistente com sua ligação a uma bolsa molecular definida no TRPA1.

Estudos anteriores identificaram dois domínios-chave necessários para a ativação do TRPA1. Compostos eletrofílicos são conhecidos por ativar TRPA1 através da modificação covalente de cisteínas e uma lisina na região N-terminal (HINMAN et al., 2006; MACPHERSON et al., 2007). Além disso, o domínio S5 / S6 pode servir como uma região alvo para agonistas não eletrofílicos, incluindo mentol (XIAO et al., 2008), eudesmol (OHARA et al., 2015), e prótons (DE LA ROCHE et al., 2013), ou vários antagonistas (MOLDENHAUER et al., 2014; TAKAISHI et al., 2014), incluindo o potente inibidor A- 967079 (XIAO et al., 2008; KLEMENT et al., 2013; BANZAWA et al., 2014). Além disso, Paulsen et al (2015) em um estudo de crio-microscopia eletrônica (crio-EM) revelaram a estrutura de alta resolução do TRPA1 ligado a um agonista ou antagonistas.

Semelhante ao TRPV1 (LIAO et al., 2013) a estrutura mostra quatro subunidades se reunindo para formar um canal, com cada subunidade composta por seis segmentos transmembranares (TM) (S1 - S6) e grandes domínios intracelulares N- e C-terminais. Inesperadamente, as hélices α do terminal C são reveladas para formar uma bobina enrolada e uma hélice de domínio TRP, não prevista anteriormente para TRPA1, que corre paralela à membrana e liga os domínios intracelular e S6. Duas hélices de poro estão localizadas entre S5 e S6, a segunda das quais define a

boca extracelular e a seletividade catiônica. Além disso, dois locais de restrição na hélice de poro 1 e S6 são propostos para formar portas superior e inferior, respectivamente. Notavelmente, o estudo identificou um bolso de ligação para o potente antagonista A-967079, formado por S5, S6 e hélice de poro 1, que é consistente com um papel importante para esta região no canal de passagem.

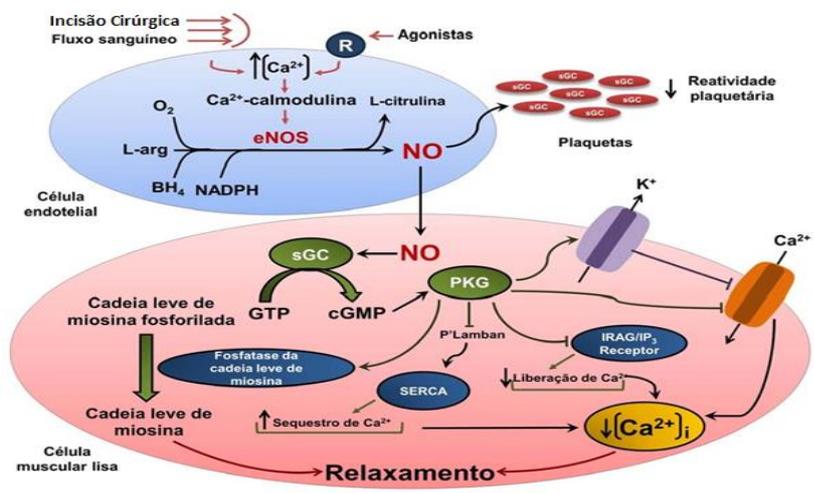
Matta et al. (2008) mostraram uma atividade bimodal no TRPA1: ativação em baixa e bloqueio em alta concentração de propofol. Estudos têm mostrado que TRPA1 é o principal atuante nas propriedades algogênicas do propofol, contribuindo para a dor pós-operatória e vasodilatação induzida por propofol. Já Kelie et al. (2017) analisaram duas abordagens complementares, mas distintas: mutagênese e estudos de fotomarcção. Eles sugeriram que o propofol possui um local de ativação localizado dentro do bolso S5-S6 do TRPA1. Além disso, mostraram que o propofol, em altas concentrações, tem atividade que é característica de bloco de poro não específico. Este estudo forneceu suporte adicional para o mecanismo de ação do propofol no TRPA1.

Um estudo partindo do conhecimento de que canais TRPA1 de *Drosophila* para humanos são sensíveis a agonistas eletrofílicos como isotiocianato de alila (AITC) Kang et al. (2010) observou que o mesmo se aplicava a anestésicos gerais. Tanto o isoflurano (0,9 mM) quanto o propofol (100 μ M) ativaram correntes retificadas externamente em células 293 de rim embrionárias humanas (HEK293) fixadas por voltagem que expressam TRPA1 humano ou de rato. A retificação na presença de isoflurano e propofol decorre da dependência de voltagem do *gating* TRPA1, bem como de um efeito inibitório adicional dos anestésicos em potenciais negativos (MATTA et al., 2008). A corrente média (medida em +100 mV) evocada por isoflurano ou propofol foi aproximadamente 30–40% e aproximadamente 70–80% da resposta máxima obtida com AITC. Em contraste, o ortólogo de *Drosophila* (dTRPA1) era completamente insensível a esses anestésicos. Assim, esses dados revelaram que os anestésicos isoflurano e propofol são agonistas de mamíferos, mas não *Drosophila* TRPA1.

O NO forma-se nas células endoteliais pela sintase endotelial do óxido nítrico (eNOS) a partir da L-arginina (L-arg) e então se difunde para a célula muscular lisa, promovendo o seu relaxamento por promover o desencadeamento de eventos que resultam na redução das concentrações intracelular de cálcio. (Figura 1). Sinha et al (2015) indicaram que a inibição de eNOS com L-NAME antes da administração de

propofol atenuou a resposta depressora induzida por propofol em camundongos controle e naqueles considerados nulos para TRPV1, um efeito que não foi observado em camundongos nulos para TRPA1. A conclusão a partir disso foi que a estimulação dos canais TRPA1, resulta na ativação de eNOS e produção de NO que medeia aproximadamente 50% da resposta depressora induzida por propofol in vivo. Wu et al. (2013) demonstraram que os canais TRPV1 e BK têm a capacidade de formar um complexo de sinalização.

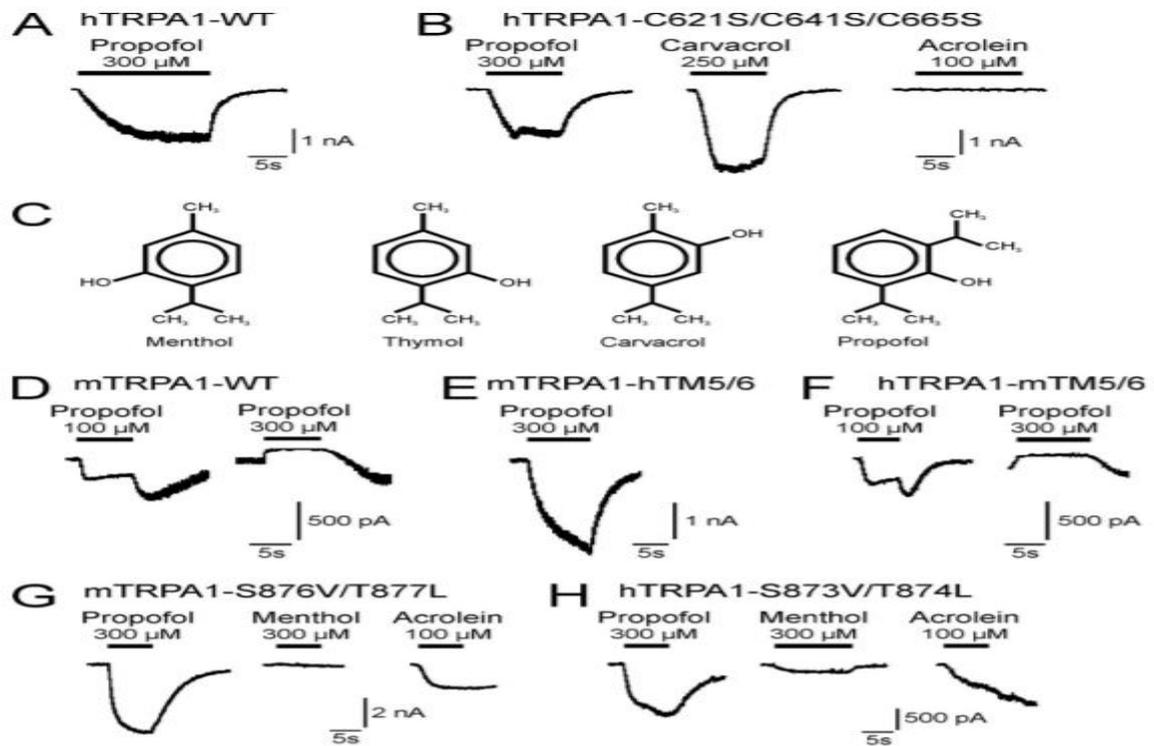
Figura 1 – Mecanismos envolvidos na formação do óxido nítrico (NO) e na vasodilatação mediada pelo mesmo.



Fonte: Oliveira et al. (2016b).

Fischer et al. (2010) conduziu um estudo em que expôs os locais de interação do propofol com o TRPA1. Na figura acima (obtida do estudo em questão) observa-se traços de corrente representativos de correntes internas evocadas por propofol. O domínio 5 da transmembrana é um determinante para a ativação de diferentes espécies de TRPA1 pelo propofol.

Figura 2 - Traços de corrente representativos de correntes internas evocadas por propofol.



Fonte: Fischer et al. (2010).

HIPÓTESES

2. HIPÓTESES

Levando-se em consideração que: 1- polimorfismos no gene TRPA1 possam ser capazes de modular a resposta a fármacos anestésicos; 2- pacientes hipertensos tratados com IECA apresentam respostas hipotensoras ao propofol mais intensas em relação a pacientes não tratados com estes medicamentos e 3- A ação do propofol no receptor TRPA1 poderia ocasionar maior liberação de NO, as hipóteses do presente estudo são:

- Polimorfismos no gene TRPA1 seriam capazes de modular os efeitos que o propofol exerce sobre parâmetros hemodinâmicos e o uso de IECA de intensificar a resposta hipotensora nos pacientes tratados com este fármaco.

- Os genótipos e haplótipos do TRPA1 influenciam as alterações nos níveis plasmáticos de NOx, nitrato e nitrito em resposta à anestesia com propofol?

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

Com base nas hipóteses levantadas, o presente estudo teve como objetivos:

- Identificar possíveis associações entre genótipos e haplótipos do gene TRPA1 e os efeitos exercidos pelo propofol sobre os parâmetros hemodinâmicos .

- Caso identificada alguma influência dos polimorfismos e haplótipos do TRPA1, avaliar se o uso de IECA e variáveis clínicas dos pacientes teriam algum impacto nos resultados encontrados, assim como gênero, índice de massa corporal e idade.

- Identificar variação nos níveis de NOx, nitrato e nitrito conforme genótipos e haplotipos do gene TRPA1 após anestesia com propofol.

MATERIAIS E MÉTODOS

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 SELEÇÃO DOS PARTICIPANTES

O presente estudo bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (Processo nº 2387/2013). O estudo foi registrado no Clinical Trials (NCT02442232). Todos os pacientes envolvidos neste estudo foram atendidos na Seção de Endoscopia Digestiva do HCFMRP-USP, para a realização de exames de colonoscopia. Somente participaram do estudo os indivíduos que, após a explicação detalhada do trabalho, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Os participantes foram enquadrados no estudo conforme objetivo proposto neste trabalho.

4.2 AVALIAÇÃO DE POSSÍVEIS ASSOCIAÇÕES ENTRE POLIMORFISMOS GENÉTICOS DO GENE TRPA1 E SEUS HAPLÓTIPOS E OS EFEITOS HEMODINÂMICOS EXERCIDOS PELO PROPOFOL

Neste estudo, avaliamos genótipos e haplótipos do gene TRPA1 envolvendo os polimorfismos rs920829, rs16937976 e rs13218757. Para isso, nosso N amostral incluiu inicialmente de 200 pacientes, sendo que foram efetivamente analisados os dados de 164 pacientes (corrigindo para os fatores de confusão, conforme será descrito na seção que trata das análises estatísticas). Os critérios de inclusão foram: estado físico para a escala ASA I ou II, idade entre 20 e 80 anos e IMC \leq 30 kg/m². Dessa forma, evitaram-se as possíveis consequências prejudiciais dos efeitos cardiovasculares do propofol associados a pacientes com comorbidades mal controladas, extremos de idade, dose alta da medicação administrada.

Indivíduos com evidência de hipertensão mal controlada, doenças respiratórias, renais, hepáticas ou hematológicas não controladas e histórico de acidente vascular encefálico ou infarto agudo do miocárdio foram excluídos do estudo. Os pacientes com episódios de hipotensão que exigiram a administração de drogas vasopressoras também foram excluídos do estudo, uma vez que este procedimento afeta os parâmetros hemodinâmicos avaliados no presente estudo. Histórico de alergias à droga utilizada também foi critério de exclusão ao presente estudo.

4.3 PROCEDIMENTOS REALIZADOS

Os pacientes do estudo foram submetidos aos procedimentos descritos a seguir.

Após a avaliação inicial, uma amostra de sangue venoso (basal) foi colhida e propofol 2 mg/kg foi administrado por via intravenosa, por injeção em bolus. Dez minutos após a indução anestésica, uma nova amostra de sangue foi colhida. Em cada coleta de sangue, os valores de pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) e frequência cardíaca (FC) foram registrados.

As amostras de sangue foram imediatamente centrifugadas a 1000 g durante 3 minutos, e alíquotas de plasma foram armazenadas a -70°C até as análises. Além disso, alíquotas de sangue total foram armazenadas a -20°C para posterior extração de DNA. Para evitar qualquer influência sobre os parâmetros hemodinâmicos e bioquímicos, os procedimentos de colonoscopia só iniciaram após a segunda coleta de sangue, quando o período do estudo terminou. Com a utilização do monitor multiparamétrico Dixtal 2020®, todos os pacientes foram monitorados continuamente para FC, pressão arterial, saturação de oxigênio e eletrocardiografia até a completa recuperação.

As alterações nos parâmetros hemodinâmicos foram calculados pela subtração de valores observados a 4 minutos após a anestesia com propofol a partir daqueles observados antes da administração do anestésico (basal). O motivo é a meia-vida de 2 a 4 minutos de distribuição após bolus da medicação. Ao passo que para avaliar as alterações nos parâmetros bioquímicos, a citar óxidos de nitrogênio (NO_x), nitrito e nitrato, subtraíram-se valores observados a 10 minutos após a anestesia com propofol a partir daqueles observados antes da administração do anestésico.

4.4 MÉTODO

4.4.1 Extração do DNA Genômico

Para a extração do DNA genômico utilizamos amostras de sangue total. Para tanto, foram preparadas três soluções: solução A, contendo Triton X a 1%, MgCl_2 a 5 mM, sacarose a 0,32 M e Tris-HCl a 10 mM em pH 8; solução B, contendo Na_2EDTA a 20 mM, NaCl a 20 mM e Tris-HCl a 20 mM; solução C contendo SDS a 20%, 25 μL

de solução B 2X, 12,5 µL de água e proteinase K (20 mg/mL).

Em tubos eppendorfs de 2 mL adicionamos 500 µL de sangue total e 1,5 mL de solução A. Após repouso de 15 minutos no gelo, os tubos foram centrifugados por 5 minutos à velocidade máxima. Descartamos o sobrenadante e completamos o tubo com solução A. Adicionamos então 50 µL de solução C e deixamos em repouso em banho-maria a 56°C por 2h. Na sequência, adicionamos 50 µL de tris-ácido etileno diamino tetra acético (TE) e 300 µL de fenol, com posterior homogeneização e centrifugação.

A fase superior (aquosa) foi coletada e foram adicionados 150 µL de fenol e 150 µL de solução clorofórmio / álcool isoamílico (24:1), seguindo os mesmos passos da adição de fenol descrita acima. Adicionamos então 1/10 do volume de acetado de sódio 3M e dois volumes de etanol absoluto gelado (-20°C). Após homogeneização e centrifugação por 10 minutos à velocidade máxima, armazenamos os tubos a - 20°C por algumas horas.

Após o descarte do sobrenadante foram adicionados 500 µL de etanol gelado a 70%, com posterior centrifugação e novo descarte do sobrenadante. Adicionamos então 100 µL de TE e deixamos em repouso em banho-maria à 40°C por 12h. Posteriormente, realizamos a quantificação de DNA genômico em espectrofotômetro apropriado.

4.4.2 Medição das concentrações de nitrito e nitrato plasmático

Medimos os níveis de nitrito no plasma usando um ensaio de quimioluminescência redutiva à base de ozônio (METZGER et al., 2006) e a reação de Griess mediu as concentrações plasmáticas de NOx (nitrito + nitrato) (SILVA et al., 2011). As concentrações de nitrato foram calculadas subtraindo as concentrações de nitrito medidas por quimioluminescência dos níveis plasmáticos de NOx medidos pela reação de Griess.

4.4.3 Genotipagens

Os genótipos para os polimorfismos rs920829, rs16937976 e rs13218757 foram determinados pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em tempo real, utilizando ensaios “Taqman® Allele Discrimination Assay” (Applied Biosystems,

Foster City, CA, USA). Os *primers* e sondas para análise dos polimorfismos (rs920829, rs16937976 e rs131218757) foram desenhados pela Applied Biosystems. Para a realização das genotipagens foi preparada uma solução com um volume final de 10 μ L por amostra (sendo 5 ng de DNA genômico, 1X Taqman PCR Master Mix e 1X Primer Assay). O controle de qualidade da genotipagem foi realizado usando controles positivos e negativos previamente avaliados. Além disso, repetimos aleatoriamente a genotipagem para 10% de toda a amostra e alcançamos 100% de consistência. As reações ocorreram nas condições preconizadas pelo fabricante, sendo a fluorescência captada pelo equipamento StepOne Plus. Os resultados foram analisados com o software do fabricante.

4.4.4 Estimativa dos Haplótipos

As frequências dos haplótipos do gene TRPA1 foram estimadas com a utilização do *software* de análise PHASE 2.1, que reconstrói haplótipos e estima a taxa de recombinação a partir de dados populacionais (STEPHENS; SMITH; DONNELLY, 2001). Os haplótipos possíveis para os três polimorfismos estudados (rs920829, rs16937976 e rs13218757) foram: CCA, CGA, CGG, CCG, TCA, TCG, TGA, TGG.

Os haplótipos encontrados entre os pacientes do presente estudo FORAM CCG, CGA, CGG, CCA, TCG, TGA. Já os haplótipos CGG, CCA e TGA apresentaram baixa frequência e por isso foram excluídos das análises estatísticas.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis contínuas foram submetidas ao teste de normalidade antes das análises estatísticas. Os dados foram analisados usando Prism (GraphPad Software, La Jolla, CA) e são apresentados como médias \pm DP. A significância estatística foi avaliada com ANOVA de uma via, com interações de tratamento avaliadas pelo teste de comparações múltiplas post hoc de Tukey. Os tamanhos das amostras foram ajustados após a coleta inicial de dados. O estudo foi uma pesquisa exploratória e não testou uma hipótese nula estatística pré-especificada; portanto, os valores P são descritivos.

Os dados contínuos foram testados quanto à normalidade. As características clínicas e laboratoriais dos pacientes são expressas como médias \pm DP. Em contraste, as alterações nos parâmetros hemodinâmicos e bioquímicos após a indução da anestesia com propofol são expressas como médias \pm SEM. Um teste qui-quadrado avaliou o desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os efeitos dos marcadores genéticos TRPA1 nos parâmetros hemodinâmicos e bioquímicos foram testados por análise de variância seguida pelo pós-teste de Tukey ou Kruskal-Wallis seguido pelo pós-teste de Dunn. Quando apropriado, o teste t de Student ou teste de Mann - Whitney foi usado de acordo com o número de grupos e distribuições paramétricas ou não paramétricas de dados quantitativos. Um $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo em todas as análises. Os cálculos de análise de poder determinaram os efeitos mínimos que poderíamos detectar com nosso tamanho de amostra.

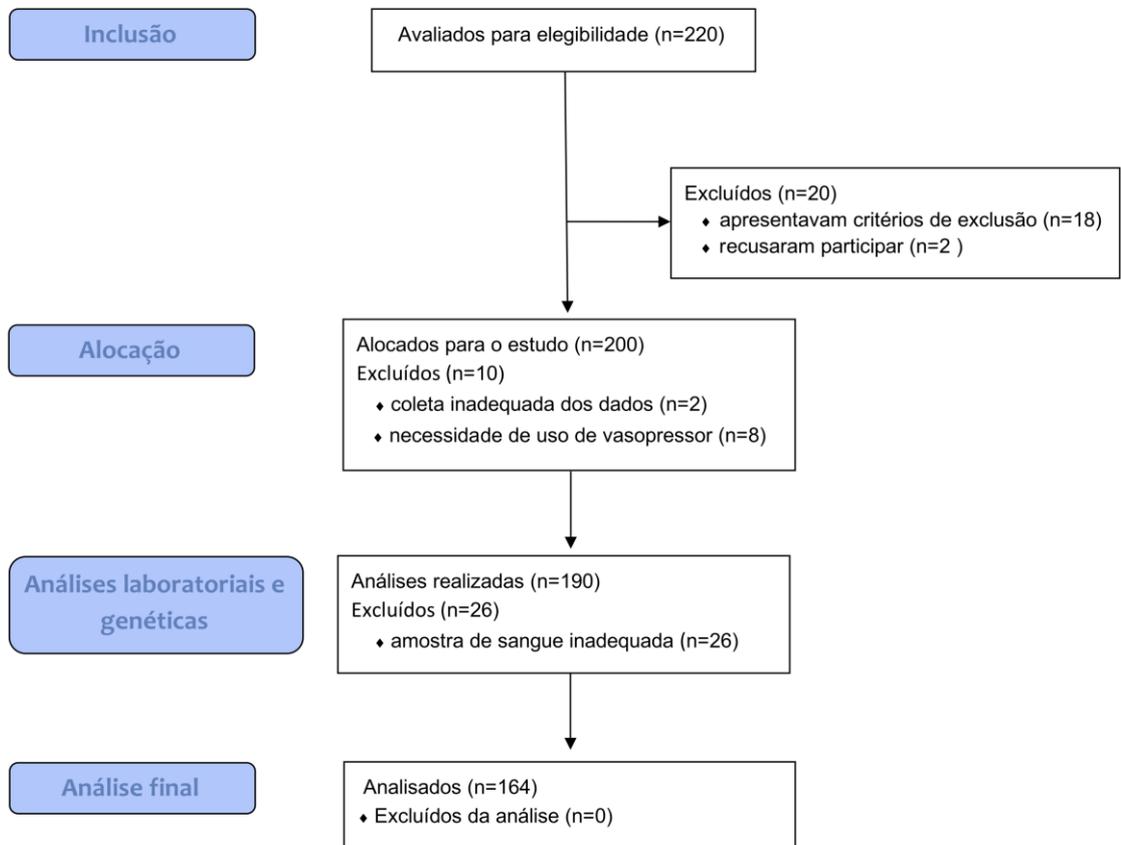
Realizamos análises de regressão linear múltipla (RLM) para avaliar a contribuição do uso de IECA para estimativa de pressão (PE) separadamente. Os coeficientes de regressão bruta (β) e os intervalos de confiança (IC) de 95% dos possíveis preditores foram, respectivamente, estimados com RLM (modelo 1). Além disso, ajustamos minimamente as características basais (idade e IMC) no modelo 2 e ajustamos totalmente as características basais (idade e IMC) e fatores clínicos (pressão arterial basal) no modelo 3. Essas covariáveis foram ajustadas como mediadores da associação. Em modelos mútuos ajustados, incluímos simultaneamente todas as variáveis explicativas e polimorfismos (modelo 4). Para isso, usamos uma combinação dos genótipos TC de TRPA1 rs920829 C> T SNP, CG + GG genótipos de TRPA1 rs16937976 C> G SNP e dos genótipos AG + AA de TRPA1 rs13218757 G> A SNP, que correspondem aos genótipos com o alelo variante de acordo com dbSNP. Alpha foi estabelecido em 0,05, e todos os valores de p eram bilaterais. Os dados foram analisados usando o programa Jamovi (versão 1.8, 2021) Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

RESULTADOS

5 RESULTADOS

O estudo foi clínico, prospectivo, não randomizado e encoberto, conforme esquema apresentado na figura 3. Após a assinatura do TCLE, 26 indivíduos foram excluídos por seleção inadequada, fatores de exclusão e intercorrência com amostras sanguíneas.

Figura 3 - Fluxograma dos participantes estudo.



Fonte: Elaborada pela autora (modelo diagrama STROBE).

A tabela 1, sumariza as características clínicas e laboratoriais dos 164 pacientes incluídos no Estudo.

Tabela 1 – Características clínicas e laboratoriais dos pacientes.

Parâmetros	Pacientes
N	164
Homens/Mulheres	72/96
Idade (anos)	55 ± 14
Etnia (brancos)	136
IMC (kg/m ²)	25,8 ± 4,7
Colesterol total (mg/dl)	188 ± 64
Glicose (mg/dl)	96 ± 18
Ureia (mg/dl)	32 ± 12
Creatinina (mg/dl)	0,90 ± 0,3
Potássio (mM)	4,4 ± 0,5
Hemoglobina (g/dl)	12,7 ± 1,9
PAS basal (mmHg)	124 ± 17
PAD basal (mmHg)	78 ± 12
FC basal (batimentos/min)	80 ± 15
Uso total de propofol (mg)	190 ± 62

Fonte: Elaborado pela autora.

FC: frequência cardíaca; IMC: índice de massa corporal; PAD: pressão arterial diastólica; PAS: pressão arterial sistólica. Os dados são apresentados como média ± DP.

A distribuição dos genótipos para os três polimorfismos do gene TRPA1 estudado não apresentou nenhum desvio em relação ao equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P < 0,05$). A tabela 2 apresenta a frequência de genótipos, alelos e haplótipos do gene TRPA1 nos pacientes do estudo.

Tabela 2 – Frequência de genótipos, alelos e haplótipos do gene TRPA1 nos pacientes do estudo.

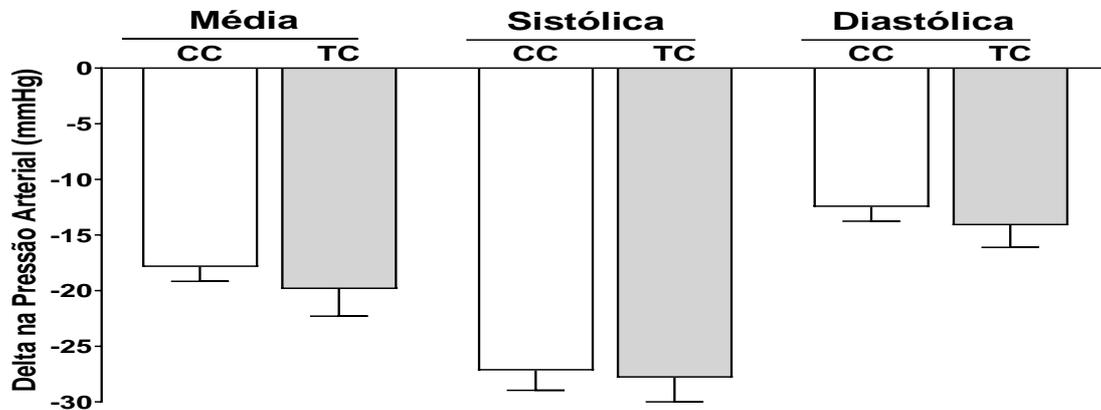
Polimorfismos/haplótipos	N	%
rs920829		
CC	127	77,4
TC	35	21,3
TT	-----	-----
Alelo C	289	89,1
Alelo T	35	10,8
rs16937976		
CC	119	72,5
CG	37	22,5
GG	7	4,2
Alelo C	275	84,3
Alelo G	51	15,6
rs13218757		
GG	120	73,1
AG	35	21,3
AA	7	4,2
Alelo G	275	84,8
Alelo A	49	15,1
Haplótipos		
CCG	243	74,5
CGA	46	14,1
TCG	32	9,8

Fonte: Elaborado pela autora.

As figuras a seguir apresentam as variações (Δ) na PAS, PAD, PAM e FC dos pacientes após a administração de propofol (análise simples- teste t de Student). Os valores foram obtidos a partir da subtração dos valores de PAS, PAD, PAM e FC observados após 4 minutos da administração do propofol daqueles observados antes da administração do anestésico (momento 0). Os pacientes estão divididos conforme o genótipo que apresenta para cada polimorfismo ($P < 0,05$).

As variações de PAS, PAM, PAD após a administração de propofol não foram diferentes entre os genótipos do polimorfismo rs920829 (figura 4; $P < 0,05$).

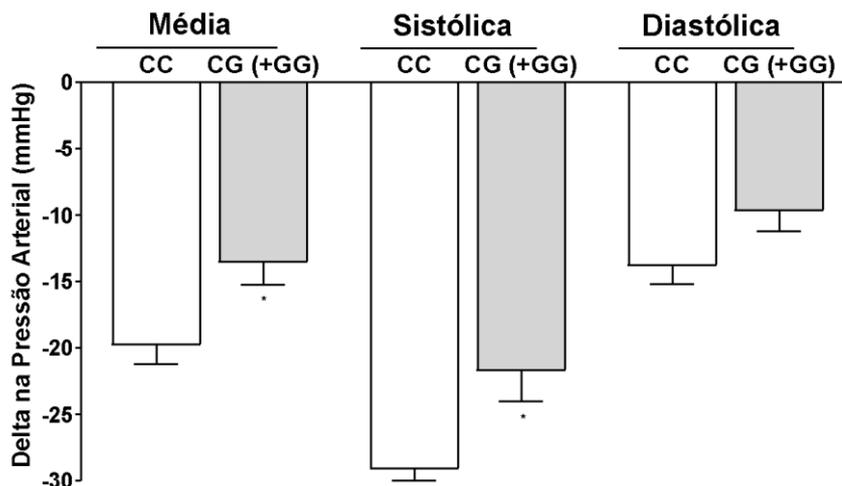
Figura 4 - Efeitos dos genótipos CC (n = 127) e TC (n = 35) para o polimorfismo rs920829 do gene TRPA1 sobre as variações (Δ) na PA após a administração do propofol. Os dados são apresentados como média \pm EPM. *P<0,05 versus genótipo ancestral.



Fonte: Elaborado pela autora.

Interessantemente, os pacientes portadores do genótipo CC para o polimorfismo rs16937976 apresentaram maiores quedas na PAS, PAM em resposta ao propofol do que os portadores do genótipo CG + GG (figura 5; P<0,05).

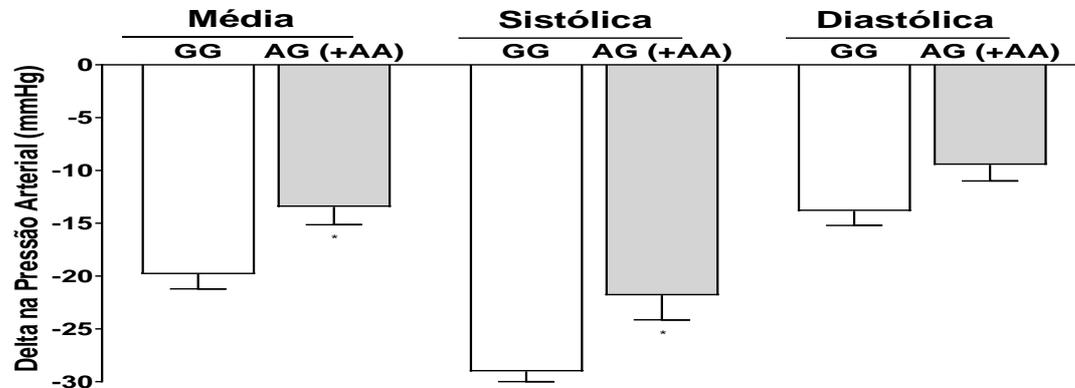
Figura 5 - Efeitos dos genótipos CC (n = 119), CG + GG (n = 44) para o polimorfismo rs16937976 do gene TRPA1 sobre as variações (Δ) na PA após a administração do propofol. Os dados são apresentados como média \pm EPM. *P<0,05 versus genótipo ancestral.



Fonte: Elaborado pela autora.

Em relação ao polimorfismo rs1321875, os pacientes portadores do genótipo GG para o apresentaram maiores quedas na PAS, PAM em resposta ao propofol do que os portadores do genótipo AG + AA (figura 6; P<0,05).

Figura 6 - Efeitos dos genótipos GG (n = 120) e AG + AA (n = 42) para o polimorfismo rs13218757 do gene TRPA1 sobre as variações (Δ) na PA após a administração do propofol. Os dados são apresentados como média \pm EPM. *P<0,05 versus genótipo ancestral.



Fonte: Elaborado pela autora.

Conforme previamente demonstrado (figura 4), a análise simples (teste t não pareado) não encontrou nenhum impacto dos diferentes genótipos para o polimorfismo rs920829. Mesmo após ajuste das características basais (idade e IMC) e fatores clínicos (PA basal e uso de iECA) este resultado não se alterou (tabela 3).

Tabela 3 - Efeito do polimorfismo rs920829 no gene TRPA1 nas mudanças na pressão arterial induzida por propofol após ajuste para variáveis selecionadas.

rs 920829 ^a	Variação na PAS (mmHg)			Variação na PAM (mmHg)			Variação na PAD (mmHg)		
	R ² =0,40	RMSE=15,00		R ² =0,28	RMSE=12,20		R ² =0,23	RMSE=11,90	
Fonte	β	95% IC	P	β	95% IC	P	β	95% IC	P
Uso of iECA	+1,64	-6,65 a 9,94	0,695	-2,18	-8,84 a 4,47	0,518	-1,36	-7,87 a 5,15	0,680
Idade(anos)	-0,02	-0,24 a 0,19	0,804	-0,04	-0,21 a 0,13	0,636	+0,00	-0,15 a 0,17	0,943
IMC (kg/m ²)	+0,58	-0,05 a 1,21	0,071	+0,72	0,21 a 1,24	<0,006*	+0,67	0,17 a 1,18	0,009*
PAB	-0,61	-0,76 a -0,47	<0,001*	-0,43	-0,56 a -0,31	<0,001*	-0,40	-0,53 a -0,27	<0,001*
TC	-3,71	-10,09 a 2,65	0,251	-2,65	-7,83 a 2,51	0,311	-2,77	-7,83 a 2,29	0,281

Abreviações: β , Estimativa; IC, intervalo de confiança; PAB, pressão arterial basal. ^aGenótipo de referência: CC. * p<0.05.

Fonte: Elaborado pela autora.

Quanto aos os polimorfismos rs16937976 e rs13218757, a análise simples (teste t não pareado) não foi capaz de detectar a diferença entre os genótipos com respeito à PAD (figuras 4 e 5). Entretanto, após realizada RLM foi encontrada diferença em relação à todas as medidas de pressão arterial: sistólica, diastólica e média. Dados apresentados nas tabelas 4 e 5.

Tabela 4 - Efeito do polimorfismo rs16937976 no gene TRPA1 nas mudanças na pressão arterial induzida por propofol após ajuste para variáveis selecionadas.

rs16937976 ^b	Variação na PAS (mmHg)			Variação na PAM (mmHg)			Variação na PAD (mmHg)		
	R ² =0,42	RMSE=15,40		R ² =0,32	RMSE=11,80		R ² =0,26	RMSE=11,70	
Fonte	β	95% IC	P	β	95% IC	P	β	95% IC	P
Uso of iECA	+0,97	-7,49 a 9,44	0,820	-1,98	-8,43 a 4,45	0,543	-1,20	-7,60 a 5,18	0,709
Idade (anos)	-0,11	-0,33 a 0,11	0,318	-0,04	-0,20 a 0,12	0,612	+0,00	-0,15 a 0,16	0,954
IMC (kg/m ²)	+1,20	+0,55 a 1,85	<0,001*	+0,82	0,32 a 1,13	0,001*	+0,75	0,25 a 1,25	0,003*
PAB	-0,62	-0,77 a -0,47	<0,001*	-0,44	-0,56 a -0,32	<0,001*	-0,40	-0,53 a -0,28	<0,001*
CG (+GG)	+7,53	1,62 a 13,43	0,013*	+7,15	2,61 a 11,70	0,002*	+5,18	0,67 a 9,70	0,025*

Abreviações: **β**, Estimativa; **IC**, intervalo de confiança; **PAB**, pressão arterial basal. ^bGenótipo de referência: CC. * p<0.05.

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 5 - Efeito do polimorfismo rs13218757 no gene TRPA1 nas mudanças na pressão arterial induzida por propofol após ajuste para variáveis selecionadas.

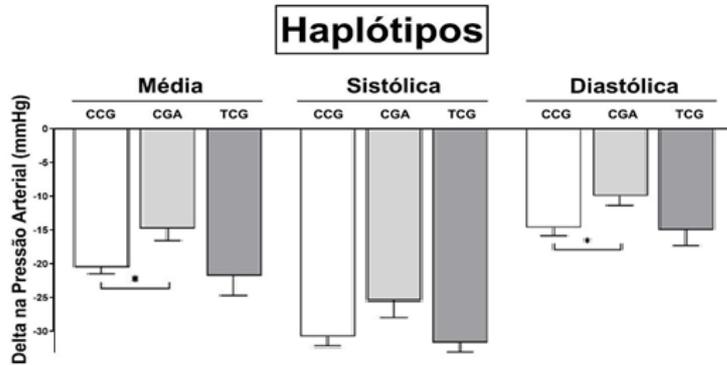
rs13218757 ^c	Variação na PAS (mmHg)			Variação na PAM (mmHg)			Variação na PAD (mmHg)		
	R ² =0,42	RMSE=15,30		R ² =0,33	RMSE=11,70		R ² =0,26	RMSE=11,70	
Fonte	β	95% IC	P	β	95% IC	P	β	95% IC	P
Uso of iECA	+0,82	-7,62 a 9,26	0,848	-2,13	-8,55 a 4,27	0,511	-1,31	-7,70 a 5,07	0,685
Idade (anos)	-0,10	-0,32 a 0,11	0,339	-0,03	-0,20 a 0,12	0,637	+0,00	-0,15 a 0,16	0,932
IMC (kg/m ²)	+1,24	+0,59 a 1,89	<0,001*	+0,86	0,36 a 1,36	<0,001*	+0,77	0,28 a 1,27	0,002*
PAB	-0,62	-0,77 a -0,47	<0,001*	-0,44	-0,56 a -0,31	<0,001*	-0,40	-0,53 a -0,27	<0,001*
AG (+AA)	+8,11	2,12 a 14,10	0,008*	7,66	3,06 a 12,27	0,001*	5,62	1,04 a 10,21	0,016*

Abreviações: **β**, Estimativa; **IC**, intervalo de confiança; **PAB**, pressão arterial basal. ^cGenótipo de referência: GG. * p<0.05.

Fonte: Elaborado pela autora.

A figura 7 apresenta os efeitos de haplótipos envolvendo os três polimorfismos no gene TRPA1 estudados sobre as variações (Δ) na PAS, PAM e PAD após a administração do propofol no quarto minuto. A menor variação na PAM e PAD apareceram para o haplótipo CGA (p<0,05).

Figura 7 - Efeitos dos haplótipos do gene TRPA1 sobre as variações (Δ) na PA após a administração do propofol. Os dados são apresentados como média \pm EPM. *P<0,05 versus haplótipo mais prevalente (CCG).



Fonte: Elaborado pela autora.

A análise de RLM relativa ao estudo dos haplótipos dos polimorfismos estudados está apresentada na tabela a seguir (tabela 6).

Tabela 6 - Efeito dos haplótipos TRPA1 nas mudanças na pressão arterial induzida por propofol após ajuste para variáveis selecionadas.

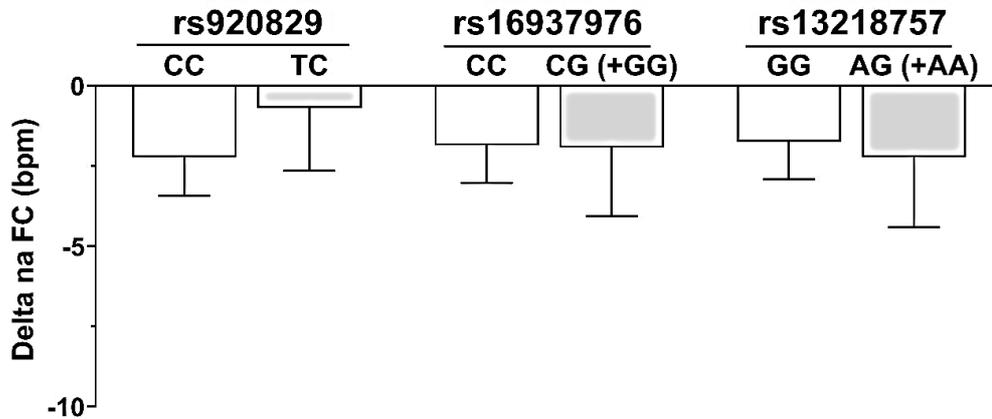
	Variação na PAS (mmHg)			Variação na PAM (mmHg)			Variação na PAD (mmHg)		
	R ² =0,39	RMSE=15,40		R ² =0,28	RMSE=11,70		R ² =0,24	RMSE=11,70	
Fonte	β	95% IC	P	β	95% IC	P	β	95% IC	P
Uso of iECA	-0,09	-0,23 a 0,05	0,207	-0,07	-0,17 a 0,03	0,199	-0,00	-0,11 a 0,09	0,877
Idade (anos)	+0,98	0,56 a 1,41	<0,001*	+0,72	0,39 a 1,04	<0,001*	+0,63	0,31 a 0,95	<0,001*
IMC (kg/m ²)	-0,74	-4,78 a 6,27	0,790	-1,46	-5,64 a 2,72	0,493	+0,10	-4,06 a 4,26	0,962
PAB	-0,60	-0,70 a -0,50	<0,001*	-0,40	-0,49 a -0,32	<0,001*	-0,38	-0,47 a 0,30	<0,001*
Haplótipos^d									
CGA	+6,04	0,90 a 11,08	0,021*	+5,74	1,81 a 9,67	0,004*	+4,55	0,65 a 8,45	0,022*
CGG	+3,73	-27,16 a 34,63	0,812	+2,02	-21,58 a 25,62	0,866	-0,04	-23,52 a 23,42	0,997
TCG	+0,41	-5,58 a 6,41	0,892	-1,27	-5,854 a 3,31	0,586	-1,90	-5,64 a 3,45	0,636

Abreviações: β , Estimativa; **CI**, intervalo de confiança; **PAB**, pressão arterial basal. ^dHaplótipo de referência: CCG. *p<0.05.

Fonte: Elaborado pela autora.

A variação de FC após a administração de propofol não foi diferente nos genótipos de todos os polimorfismos estudados (figura 8; p<0,05).

Figura 8 - Efeitos de polimorfismos no gene TRPA1 sobre as variações (Δ) na FC após a administração do propofol.



Fonte: Elaborado pela autora.

Este resultado se manteve inalterado mesmo após a análise de RLM relativa aos genótipos (tabela 7) e haplótipos (tabela 8) conforme se segue:

Tabela 7 – Efeito dos genótipos TRPA1 nas mudanças na frequência cardíaca induzida pelo propofol após o ajuste para variáveis selecionadas.

	FC (bpm)		
		R ² =0,25	RMSE=11,10
Fonte	β	95% CI	P
Idade (anos)	-0,10	-0,20 a 0,00	0,034*
IMC (kg/m ²)	-0,09	-0,40 a 0,20	0,525
Uso de iECA	-1,70	-5,66 a 2,23	0,394
PAB	-0,40	-0,49 a -0,31	<0,001*
Genótipos			
rs920829 ^a	+3,31	-1,18 a 7,82	0,148
rs16937976 ^b	+5,52	-17,29 a 28,34	0,633
rs13218757 ^c	-4,01	-27,04 a 19,01	0,731

Abreviaturas: β , Estimativa de parâmetro; IC, intervalo de confiança; HR, frequência cardíaca; PAB, pressão arterial basal, genótipo ^a Genótipo de referência: CC; ^b Genótipo de referência: CC; ^c Genótipo de referência: GG, * p <0,05.

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 8– Efeito dos haplótipos TRPA1 nas mudanças na frequência cardíaca induzida pelo propofol após o ajuste para variáveis selecionadas

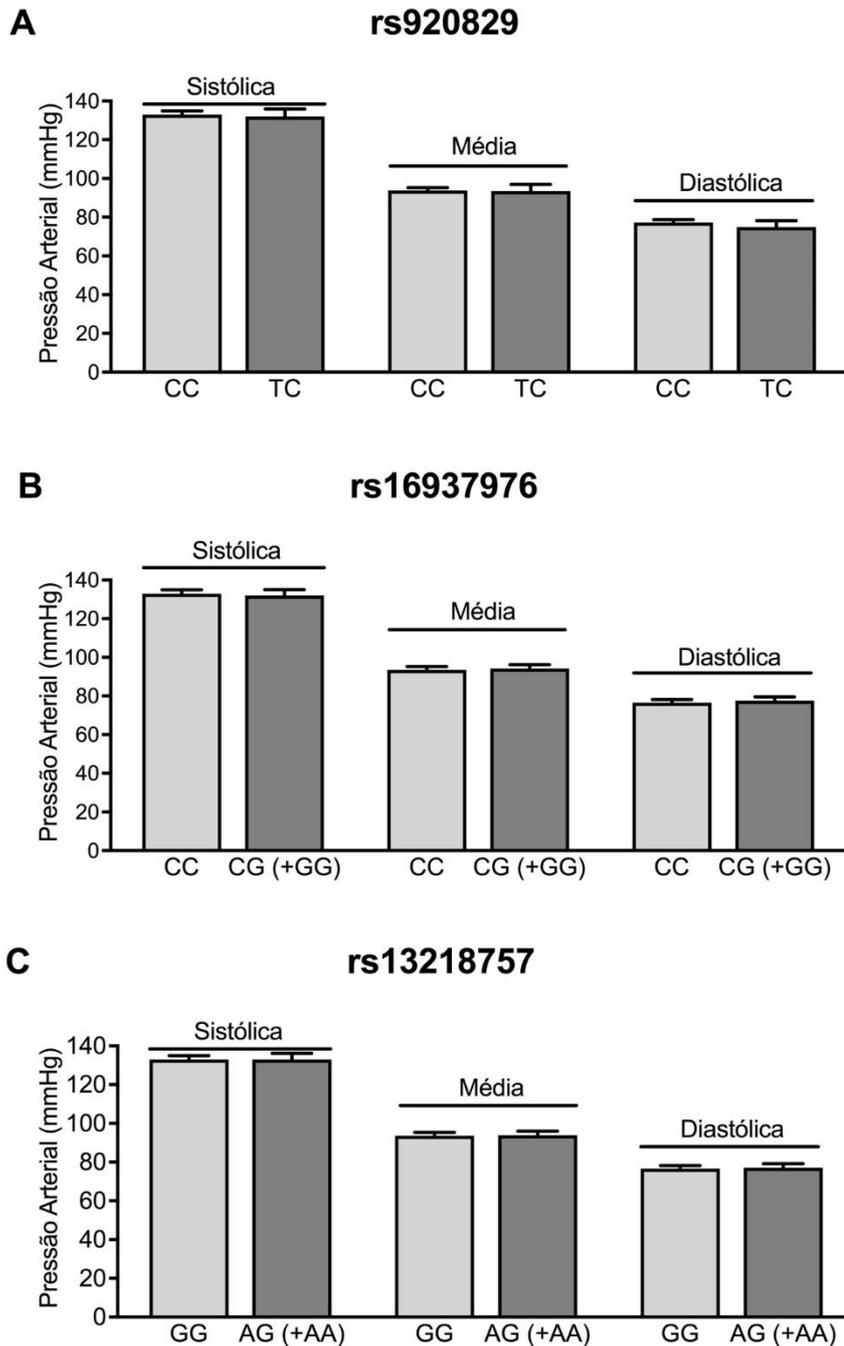
HR (bpm)			
R ² =0,24 RMSE=11,10			
Fonte	β	95% CI	P
Idade (anos)	-0,10	-0,20 a 0,00	0,034*
IMC (kg/m ²)	-0,09	-0,40 a 0,20	0,525
Uso de iECA	-1,70	-5,66 a 2,23	0,394
PAB	-0,40	-0,49 a -0,31	<0,001*
Haplótipos			
CGA	+1,00	-2,70 a 4,72	0,594
CGG	+4,82	-17,49 a 27,14	0,671
TCG	+2,58	-1,75 a 6,91	0,243

Abreviaturas: β , Estimativa de parâmetro; **IC**, intervalo de confiança; **HR**, frequência cardíaca; **PAB**, pressão arterial basal, genótipo ^a Haplótipo de referência: CCG. * p<0.05.

Fonte: Elaborada pela autora.

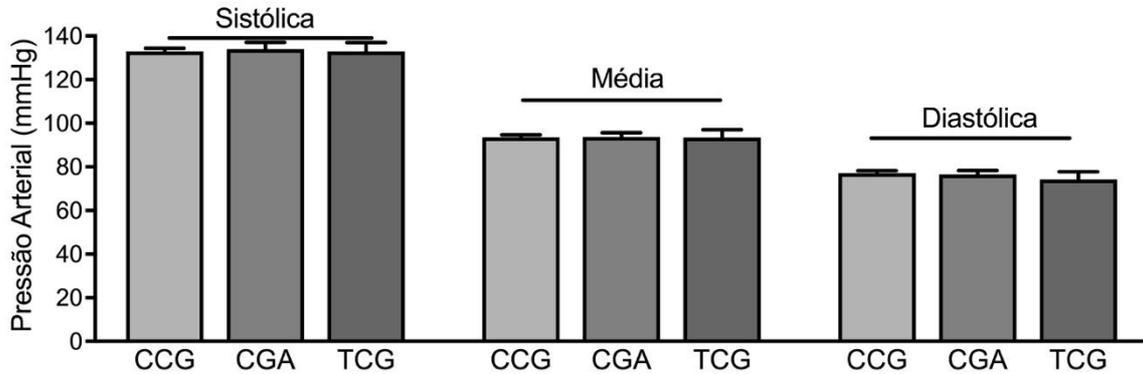
Outro achado importante é que nenhum genótipo ou haplótipo dos polimorfismos do TRPA1 aqui estudados afetaram os valores basais (antes da injeção de propofol) para valores basais de PAS, PAM e PAD, conforme figuras 9 e 10 apresentadas a seguir (P> 0,05).

Figura 9 - Efeitos dos genótipos TRPA1 na pressão arterial (PA) antes da anestesia com propofol. (A) Efeitos dos genótipos CC (n = 127) e TC (n = 35) para o polimorfismo rs920829 nos efeitos da PA sistólica, média e diastólica. (B) dos genótipos CC (n = 119), CG + GG (n = 44) para o polimorfismo rs16937976 na PA sistólica, média e diastólica. (C) Efeitos do GG (n = 120) e AG + AA (n = 42) genótipos para o polimorfismo rs13218757 na PA sistólica, média e diastólica. Os dados são apresentados como médias \pm EPM.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 10 - Efeitos dos haplótipos TRPA1 na pressão arterial (PA) antes da anestesia com propofol. Efeitos dos haplótipos CCG (n = 240), CGA (n = 46) e TCG (n = 31) TRPA1 na PA sistólica, média e diastólica. Os dados são apresentados como médias \pm EPM.



Fonte: Elaborado pela autora.

A análise de cada polimorfismo em relação a idade, ao IMC e ao sexo para avaliar a prevalência (apresentada em %).

Para todos os polimorfismos rs920829, rs16937976 e rs13218757, não se observou diferença significativa na amostra quanto à idade e ao IMC para os genótipos estudados. Dados apresentados nas tabelas de contingência 9, 10 e 11 respectivamente.

Tabela 9 – Análise descritiva dos diferentes genótipos do polimorfismo rs920829 relativo aos parâmetros idade e IMC.

	Genótipo	N	Média	Mediana	DP	EP	p
IDADE	CC	118	55,7	57,0	13,65	1,257	0,630
	TC	30	54,3	55,5	15,58	2,845	
IMC	CC	114	25,3	24,9	4,15	0,389	0,412
	TC	29	24,6	25,2	4,08	0,758	

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 10 - Análise descritiva dos diferentes genótipos do polimorfismo rs16937976 relativo aos parâmetros idade e IMC.

	Genótipo	N	Média	Mediana	DP	EP	p
IDADE	CC	108	55,3	56,5	14,17	1,364	0,931
	CG(+GG)	41	55,5	0,630	13,61	2,126	
IMC	CC	105	25,4	25,3	4,10	0,400	0,312
	CG(+GG)	39	24,6	0,412	4,19	0,670	

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 11 - Análise descritiva dos diferentes genótipos do polimorfismo rs13218757 relativo aos parâmetros idade e IMC.

	Genótipo	N	Média	Mediana	DP	EP	p
IDADE	GG	109	55,3	56,0	14,11	1,352	0,998
	AG(+AA)	39	55,3	55,0	13,74	2,201	
IMC	GG	106	25,4	25,2	4,08	0,397	0,253
	AG(+AA)	37	24,5	24,0	4,20	0,691	

Fonte: Elaborado pela autora.

Considerando-se o sexo, para o polimorfismo rs920829 observou-se que 82,5% pacientes do sexo feminino possuem o genótipo GG enquanto 17,5% possuem o genótipo TC. Já os pacientes do sexo masculino, 76,5% apresentaram o genótipo CC e 23,5% apresentaram o genótipo TC. Para o polimorfismo rs16937976 observou-se que 68,8% pacientes do sexo feminino possuem o genótipo CC enquanto 31,3% possuem o genótipo CG. Já os pacientes do sexo masculino, 76,8% apresentaram o genótipo CC e 23,2% apresentaram o genótipo CG. Quanto ao polimorfismo rs13218757 observou-se que 69,6% pacientes do sexo feminino possuem o genótipo GG enquanto 30,4% possuem o genótipo AG. Já os pacientes do sexo masculino,

78,3% apresentaram o genótipo GG e 21,7% apresentaram o genótipo AG (tabela 12).

Tabela 12 - Distribuição relativa a sexo para os diferentes polimorfismos.

SEXO		TRPA1 #1 rs920829		Total
		CC	TC	
F	Observado	66	14	80
	% do total	44,6 %	9,5 %	54,1 %
M	Observado	52	16	68
	% do total	35,1 %	10,8 %	45,9 %
Total	Observado	118	30	148

SEXO		TRPA1 #2 rs16937976		Total
		CC	CG (+GG)	
F	Observado	55%	25%	80%
	% do total	36,9 %	16,8 %	53,7 %
M	Observado	53%	16%	69%
	% do total	35,6 %	10,7 %	46,3 %
Total	Observado	108	41	149

SEXO		TRPA1 #3 rs13218757		Total
		GG	AG(+AA)	
F	Observado	55	24	79
	% do total	37,2 %	16,2 %	53,4 %
M	Observado	54	15	69
	% do total	36,5 %	10,1 %	46,6 %
Total	Observado	109	39	148

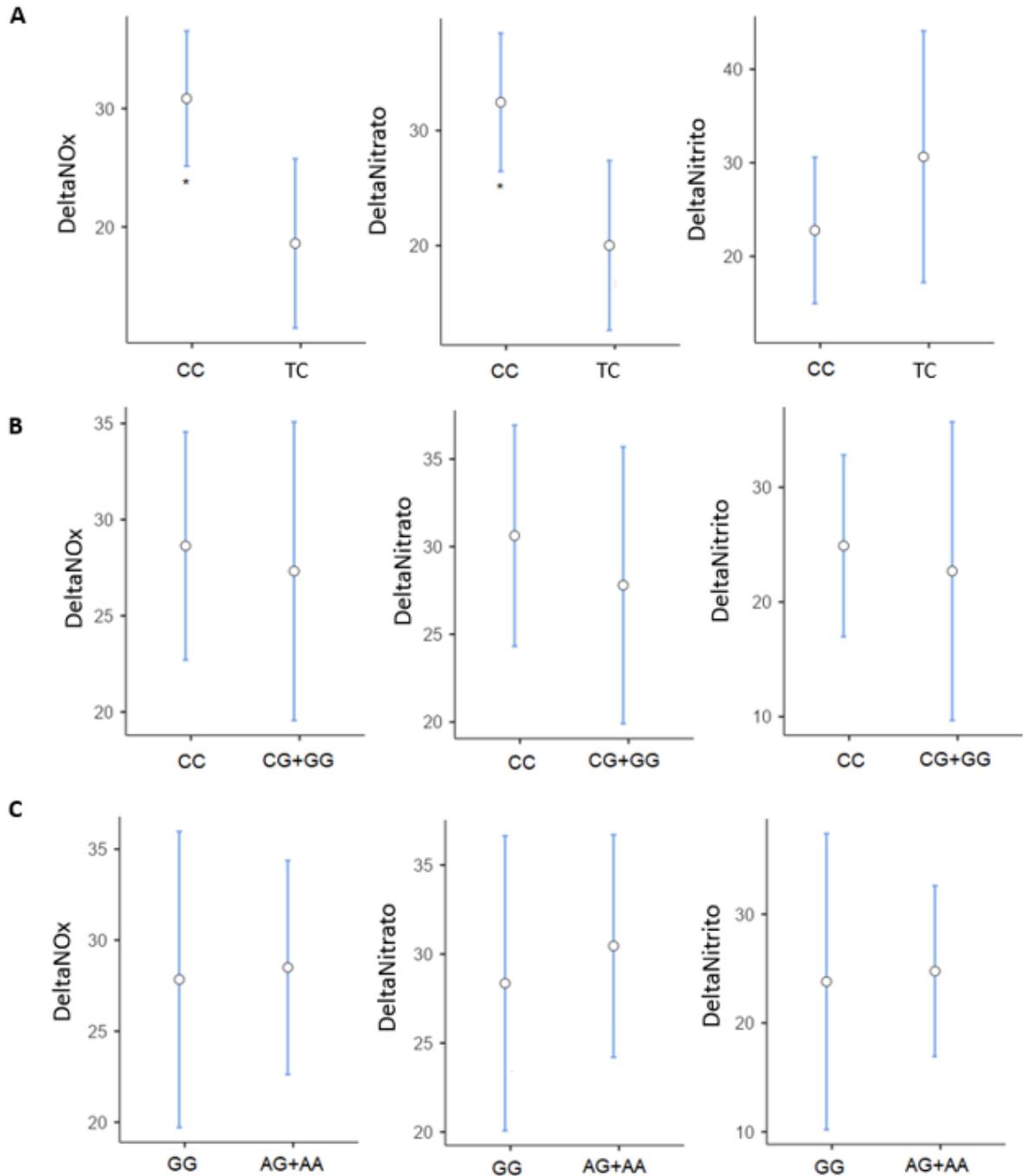
Fonte: Elaborado pela autora.

Outra questão que precisávamos responder é se os diferentes genótipos e haplótipos do TRPA1, avaliados neste estudo, impactariam nos níveis plasmáticos de NOx, nitrato e nitrito em resposta à anestesia com propofol.

Para o polimorfismo rs920829, os pacientes portadores do genótipo CC apresentaram aumentos maiores nos níveis de NOx e nitrato em resposta ao propofol do que aqueles portadores do genótipo TC. Figura 11A, $p < 0,05$. Contudo, não houve

impacto na pressão arterial. Por outro lado, os polimorfismos rs16937976 e rs13218757 e o haplótipo CGA impactaram na redução da pressão arterial sem afetar os níveis de NOx, nitrito e nitrato após a anestesia com propofol (Figuras 11B e 11C; $P > 0,05$).

Figura 11 - Impacto dos genótipos TRPA1 nas alterações nas concentrações de NOx, nitrito e nitrato induzidas pelo propofol. (A) Efeitos dos genótipos CC (n = 127) e TC (n = 35) para o SNP rs920829. (B) Efeitos dos genótipos CC (n = 119), CG + GG (n = 44) para o SNP rs16937976. (C) Efeitos dos genótipos GG (n = 120) e AG + AA (n = 42) para o SNP rs13218757. Os dados são mostrados como médias \pm DP. * P < 0,05.



Fonte: Elaborado pela autora

Nenhum dos haplótipos estudados mostrou uma mudança significativa para variações de Nox, nitrato e nitrito. (P > 0,05; dados não mostrados).

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Os principais achados do presente trabalho foram que: (I) o propofol exerceu efeitos hipotensores semelhantes em pacientes hipertensos tratados com IECA; (II) o genótipo CG(+GG) para o polimorfismo rs16937976 e o genótipo AG(+AA) para o polimorfismo rs13218757 foram associados a menores quedas na PAS, PAM e PAD em resposta ao propofol; (III) o polimorfismo rs920829 não teve impacto nos parâmetros hemodinâmicos; (IV) o haplótipo CGA apresentou menor queda nos valores da pressão arterial média e diastólica quando comparado ao referência CCG. (V) os valores de Pressão Arterial (PAS/PAM/PAD) e idade e após a anestesia propofol se correlacionaram negativamente; (VI) os valores de Pressão Arterial (PAS/PAM/PAD) e IMC e após a anestesia propofol se correlacionaram positivamente; (VII) o genótipo CC para o polimorfismo rs920829 mostrou maior aumento nos níveis de NOx e nitrato em resposta ao propofol do que os portadores do genótipo TC. (VIII) não houve alteração nos níveis de NOx, nitrato e nitrito após anestesia com propofol para os polimorfismos rs16937976 e rs13218757 e para os haplótipos. (IX) não houve impacto nos valores de frequência cardíaca em nenhum dos polimorfismos estudados e seus haplótipos.

Nosso estudo foi pioneiro em avaliar se os genótipos TRPA1 e haplótipos afetam os parâmetros hemodinâmicos e a biodisponibilidade de NO após anestesia com propofol.

Os efeitos nocivos e hemodinâmicos de certos anestésicos limitam seu uso clínico. Em particular, o propofol, o mais amplamente utilizado anestésico intravenoso em todo o mundo, produz dor à injeção que não pode ser totalmente evitada com as estratégias atuais e hipotensão, ambas em grande parte atribuíveis à ativação do TRPA1 (MATTA et al., 2008; SINHA et al., 2015).

O propofol é um dos anestésicos intravenosos mais comumente usados para a indução e manutenção da anestesia geral e sedação. Além de suas propriedades anestésicas, o propofol tem vários efeitos não anestésicos, um dos quais é a modulação da função do receptor do TRP. (MATTA et al., 2008). Os anestésicos gerais ativam um canal iônico nociceptivo para aumentar a dor e a inflamação. Proc et al. (2008) indicou que o propofol ativa diretamente os receptores TRPA1 em células 293 de rim embrionárias humanas, além disso, o propofol restaura a sensibilidade dos receptores TRPV1 após a dessensibilização induzida por agonistas e atenua a

dessensibilização induzida por agonista por meio de uma via de sinalização dependente da proteína quinase C em neurônios sensoriais do gânglio da raiz dorsal (DRG) de camundongos.

Zhang et al. (2011), testou a hipótese de que o propofol restaura a sensibilidade do receptor TRPV1 à estimulação agonista por meio de uma via dependente de TRPA1. Além disso, também testaram a hipótese de que a ativação do TRPA1 restaura a sensibilidade do receptor TRPV1 à estimulação agonista. Descobriram que é dose dependente de propofol a restauração da sensibilidade do TRPV1 à estimulação do agonista via TRPA1 numa via de sinalização dependente e que a ativação TRPA1 restaura a sensibilidade do TRPV1 à estimulação agonista em neurônios sensoriais. Os resultados também implicam que TRPA1 e TRPV1 poderiam interagir diretamente e formar um heterômetro.

Estudos anteriores mostraram que o canal TRPA1 está envolvido na regulação do tônus vasomotor (EARLEY, S.; GONZALES, A.L.; CRNICH, R., 2009), canais de receptor potencial transitório e função vascular, evidenciando a relevância fisiológica dos receptores TRPA1 no sistema cardiovascular *in vivo*. Além disso, foi demonstrado que o propofol ativa e modula a sensibilidade do canal iônico TRPA1 à ativação agonista em neurônios sensoriais e sistemas de expressão heterólogos (FISCHER et al., 2010). No entanto, uma ligação entre os anestésicos e a ativação do TRPA1 na modulação do tônus vasomotor *in vivo* ainda não foi estabelecida.

Sinha et al. (2015) mostraram que as respostas depressoras induzidas por propofol *in vivo* são mediadas, pelo menos em parte, por TRPA1. No estudo deles, *in vivo*, a resposta depressora ao propofol foi realmente atenuada em camundongos TRPA1 *null* numa dose de propofol de 2,5 mg / kg, a qual é clinicamente relevante para uso em anestesia (2–2,5 mg / kg). Portanto, aqueles dados indicaram que os canais TRPA1 desempenham um papel importante na mediação da resposta depressora induzida por propofol observada *in vivo*.

Numerosos estudos identificaram que o propofol tem propriedades vasodilatadoras expressivas *in vivo* (SILVA et al., 2011; PEREIRA et al., 2013) e *in vitro* (KASSAM et al., 2011; KLOCKGETHER-RADKER et al., 2000) .

Além disso, foi demonstrado que o propofol ativa e modula a sensibilidade do canal iônico TRPA1 à ativação agonista em neurônios sensoriais e sistemas de expressão heterólogos (Fischer et al., 2010). No entanto, uma ligação entre os anestésicos e a ativação do TRPA1 na modulação do tônus vasomotor *in vivo* ainda

não foi estabelecida.

Para Ton et al. (2017) utilizaram a análise filogenética, combinada com a modelagem molecular e estudos funcionais de TRPA1, para identificar locais críticos para ativação por anestésicos gerais. Revelaram que o isoflurano e o propofol compartilham um bolso de ligação potencial com A-967079, localizado no S5, S6 e na primeira hélice do poro. Além disso, mostraram que esses anestésicos gerais nocivos interagem com um conjunto distinto de aminoácidos necessários para seus efeitos agonísticos.

Por outro lado, a inibição combinada de canais eNOS ou BKCa virtualmente abole o efeito vasodilatador, enquanto a inibição individual atenua marcadamente a resposta depressora induzida por propofol. Ainda, de acordo com Sinha et al. (2015), o efeito da inibição de eNOS e BKCa é perdido em camundongos knockout para TRPA1 (KO). Mais recentemente, Talavera et al. (2020) descreveram claramente dois mecanismos que foram propostos para explicar a vasodilatação dependente do TRPA1: a vasodilatação induzida pelo nervo e a vasodilatação dependente do endotélio. A ativação do canal TRPA1 nos nervos sensoriais perivascularares leva a um influxo de Ca^{2+} que subsequentemente causa a liberação do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) dos nervos sensoriais que inervam a parede vascular. O CGRP se liga ao seu receptor acoplado à proteína G (GPCR) nas células do músculo liso (SMC) e causa hiperpolarização da membrana, relaxamento dos miócitos e dilatação arterial. Os agonistas do TRPA1 na corrente sanguínea podem ativar o canal nas células endoteliais, resultando no influxo de Ca^{2+} . O Ca^{2+} intracelular alto leva à hiperpolarização das células endoteliais por meio da estimulação dos canais de K^{+} ativados por Ca^{2+} (KCa).

O mecanismo pelo qual o propofol atua na vasculatura é controverso. Pode envolver a modulação direta do tônus vascular de forma endotélio-dependente ou independente, dependendo da espécie (rato, suíno e humano) e do leito vascular (torácico e coronário) de onde foram obtidas as arteríolas (TALAVERA et al., 2020). Especificamente, desnudamento endotelial (KLOCKGETHER-RADKE et al., 2000) e inibição de e-NOS (PARK et al., 1995) resultaram em dilatação sustentada por propofol e demonstraram um papel dos canais BK na resposta.

O mecanismo clássico proposto para o efeito vasorelaxante do propofol é por meio da regulação positiva do NO. De fato, o propofol promove efeitos hipotensivos dependentes da dose que estão, pelo menos em parte, relacionados a aumentos na

formação de NO derivado da eNOS (SINHA et al., 2015; OLIVEIRA-PAULA et al., 2018). Alinhado com essa evidência, observamos aumento das concentrações de nitrito plasmático após a administração de propofol, sugerindo um aumento da biodisponibilidade de NO induzida por este anestésico.

Pereira et al. (2013) atenua a nocicepção visceral por um mecanismo independente de células residentes inflamatórias, óxido nítrico e sistema opioide. Eur et al. (2013) descobriram que o bloqueio do TRPA1 atenua a nocicepção visceral por um mecanismo independente da modulação das células residentes, óxido nítrico e vias opioides. Da mesma forma, nossos achados sugerem que alguns polimorfismos e haplótipos do TRPA1 podem reduzir a resposta à hipotensão do propofol por um mecanismo independente das vias do óxido nítrico.

No presente estudo, estudamos 3 polimorfismos para o gene TRPA1. Eles foram rs920829, rs16937976 e rs13218757. Identificamos o papel de dois deles nas variações das pressões arteriais. Tanto o polimorfismo rs16937976 quanto o rs13218757 mostraram maiores quedas de pressão arterial sistólica, pressão arterial média e pressão arterial diastólica no quarto minuto após injeção endovenosa de propofol na dose proposta para o genótipo ancestral. Já o polimorfismo rs920829 não apresentou variações nas pressões arteriais sistólicas, diastólica e média expressiva em nenhum dos genótipos estudados. Também não houve variação nos valores de frequência cardíaca para nenhum dos polimorfismos estudados.

Outro dado que analisamos foi o da pressão arterial no momento 0' dos participantes do estudo e se elas possuíam tendência a serem mais elevadas de acordo com o genótipo. Para nenhum dos polimorfismos estudados, houve correlação entre valores altos de pressão arterial basal e genótipo.

A descoberta do TRPA1, o qual é localizado em 60-75% do TRVP1, proporcionou melhor conhecimento do mecanismo da ativação dos neurônios sensoriais e liberação de neuropeptídeos (BAUTISTA et al., 2005). Contudo, para efeitos cardiovasculares, ainda há necessidade de maiores dados. Quando deletado o TRPA1 em camundongos, não houve efeito sobre a pressão arterial ou função cardíaca em condições basais ou em resposta à angiotensina II. (BODKIN et al., 2014). No entanto, a administração sistêmica de cinamaldeído agonista TRPA1 altamente seletivo induziu uma resposta hipotensiva transitória em camundongos do tipo selvagem (WT), mas não em camundongos knockout para TRPA1 (KO). Segundo Pozsgai et al. (2010), sugerindo que o TRPA1 pode estar envolvido na regulação da

resposta autonômica vasovagal. O TRPA1 possui papel na regulação do tônus vascular periférico. Aubdool et al. (2016) mostraram que a estimulação do TRPA1 pelo cinamaldeído pode mediar a vasodilatação neurogênica periférica majoritariamente pelo neuropeptídeo sensorial CGRP.

Os resultados dessa equipe sugerem que a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (RONS) induzida por cinamaldeído, especialmente peroxinitrito, está possivelmente ligado à ativação *downstream* do TRPA1 por cinamaldeído. No entanto, uma vez produzido, não podemos excluir a possibilidade de RONS atuar diretamente no TRPA1 para mediar os efeitos vasculares, pois o TRPA1 pode atuar como um sensor das espécies reativas de oxigênio. A conclusão a que se chegou é que é possível que a formação de peroxinitrito induzida por TRPA1 após o tratamento com cinamaldeído pode diretamente ativar TRPA1, levando a uma ação modulatória positiva de RONS em TRPA1, para mediar a vasodilatação na vasculatura da pele.

Ton et al. (2017) identificaram um sítio de ligação anestésica putativo no TRPA1 e aminoácidos essenciais necessários ao reconhecimento anestésico. Mostraram também que o isoflurano e o propofol compartilham o mesmo sítio de ligação e interagem com os resíduos de serina e metionina para ativarem o TRPA1. Curiosamente, os resíduos de metionina podem representar alvos primários para anestésicos.

Assim, a informação estrutural da ligação do propofol ao TRPA1 identificada por Ton et al. (2017) associada aos nossos achados acerca dos polimorfismos deste gene podem auxiliar no projeto de compostos que podem combater esses efeitos, incluindo drogas que bloqueiam a ligação do propofol sem afetar de outra forma o *gating* do TRPA1.

Em relação à interferência dos polimorfismos estudados, verificamos que os níveis de NOx e Nitrato foram afetados pelo polimorfismo rs920829. Pacientes com genótipo CC apresentaram maiores aumentos nos níveis de NOx e nitrato em resposta ao propofol do que portadores do genótipo TC. No entanto, isso foi insuficiente para produzir hipotensão mais intensa e afetar os níveis de nitrito após a infusão de propofol por razões desconhecidas. Na verdade, o NO tem uma meia-vida muito breve, limitando a avaliação da produção de NO endógeno in vivo. Portanto, a medição dos produtos de oxidação do NO (nitrito e nitrato) é comumente usada como um índice de biodisponibilidade do NO (METZGER et al., 2006).

Embora a avaliação do nitrato no plasma tenha sido frequentemente usada como um parâmetro de formação de NO, vários estudos têm demonstrado consistentemente que a medição das concentrações de nitrito circulante resulta em informações muito melhores (KLEINBONGARD et al., 2006)

Então, a utilidade clínica da avaliação do nitrato para avaliar a formação de NO pode ser limitada por muitos fatores interferentes, como dieta, condições clínicas, medicamentos, tabagismo e outros fatores ambientais (ELLIS et al., 1998). Portanto, os possíveis efeitos das variantes do TRPA1 na sinalização de NO podem não ser refletidos pelos níveis de nitrato plasmático.

Os polimorfismos rs16937976 e rs13218757 e os haplótipos não apresentaram impacto adicional nos níveis de NOx, Nitrito e Nitrato, levando-nos a concluir que esses polimorfismos de TRPA1 podem modificar a diminuição da pressão arterial induzida por propofol por meio de outro mecanismo que não a modulação da biodisponibilidade de NO. Estudos recentes de estrutura-função, modelagem molecular e rotulagem de fotoafinidade sugerem fortemente que o propofol se liga ao TRPA1 em vários locais (TON et al., 2017).

Agonistas de TRPA1 causam dilatação de várias artérias, e essas respostas são menores quando os vasos são tratados com bloqueadores de TRPA1 ou em preparações isoladas de camundongos deficientes em TRPA1 (QIAN et al., 2013). Notavelmente, a vasodilatação mediada por TRPA1 em anéis de artéria mesentérica de camundongo ocorre de maneira endotelial e independente de neuropeptídeos (POZSGAI et al., 2010). Esses achados levantam a possibilidade de que não apenas os mecanismos mediados pelos nervos sensoriais sejam responsáveis pelo vasorelaxamento dependente do TRPA1.

Além disso, a resposta depressora provocada pelo propofol não é totalmente abolida quando o TRPA1 é excluído (SINHA et al., 2015). Mesmo a inibição combinada dos canais eNOS e BKCa anula o efeito, sugerindo que o propofol pode interagir diretamente com os canais eNOS e / ou BKCa in vivo (SINHAROY et al., 2015). Alternativamente, outros mediadores e canais também podem estar envolvidos. Alguns relatórios anteriores demonstraram um papel para os canais de K⁺ dependentes de ATP e produtos da ciclooxigenase na mediação das respostas depressoras induzidas por propofol (LAM et al., 2010).

Assim, os polimorfismos rs16937976 e rs13218757 possivelmente modificaram esses mecanismos, levando a um valor menor da pressão arterial após a infusão de

propofol. Além disso, os agonistas do TRPA1 causam a liberação de adrenalina do córtex adrenal (IWASAKI et al., 2008), levando a alterações cardiovasculares sistêmicas e uma variedade de ações vasculares em leitos vasculares diferentes.

Existem algumas limitações no presente estudo. Não examinamos outros polimorfismos em genes que codificam proteínas relacionadas à modulação do TRPA1 que poderiam afetar as respostas hipotensivas ao propofol, como PRKCA e VEGF (OLIVEIRA-PAULA et al., 2017). Portanto, outros polimorfismos genéticos ainda precisam ser avaliados.

CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

Nossos resultados mostram que a anestesia com propofol induz respostas hipotensoras mais intensas em pacientes portadores de genótipos ancestrais CC e GG para os polimorfismos rs16937976 e rs13218757 do gene TRPA1. A menor variação foi para o haplótipo CGA. Os valores pressóricos basais não foram impactados pelos diferentes genótipos e haplótipos estudados.

Para os diferentes genótipos e haplótipos estudados, não encontramos relação entre uma queda mais significativa da pressão arterial e um aumento dos níveis de NOx, nitrato e nitrito. Apenas o genótipo CC para o polimorfismo rs920829 mostrou maior aumento nos níveis de NOx e nitrato em resposta ao propofol do que os portadores do genótipo TC. Contudo, não houve impacto na resposta hipotensora, corroborando para a hipótese de que outras vias e canais possam estar envolvidos na resposta hemodinâmica.

Mais estudos são necessários e desejados nesse sentido. Com melhor conhecimento genético, a expectativa é que no futuro as medicações sejam melhores indicadas para cada paciente conforme seu genótipo e haplótipo. Além da possibilidade de formulação de medicações com menos efeitos colaterais com potencialização do objetivo clínico de cada uma.

REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS

AARTS, L.; VAN DER HEE, R.; DEKKER, I.; DE JONG, J.; LANGEMEIJER, H.; BAST, A. **The widely used anesthetic agent propofol can replace alpha-tocopherol as an antioxidant.** FEBS Lett, v. 357, n. 1, p. 83-5, 1995.

ABE, K et al. **Increase in the transcriptional activity of the endothelial nitric oxide synthase gene with fluvastatin:** a relation with the -786T>C polymorphism. Pharmacogenet Genomics, v. 15, n. 5, p. 329-36, 2005.

ALBRECHT, E. W.; STEGEMAN, C. A.; HEERINGA, P.; HENNING, R. H.; VAN GOOR, H. **Protective role of endothelial nitric oxide synthase.** J Pathol, v. 199, n. 1, p. 8-17, 2003.

ANSLEY, D. M.; LEE, J.; GODIN, D. V.; GARNETT, M. E.; QAYUMI, A. K. **Propofol enhances red cell antioxidant capacity in swine and humans.** Can J Anaesth, v. 45, n. 3, p. 233-9, 1998.

AUBDOOL, A. A.; KODJI, X.; ABDUL-KADER, N.; HEADS, R.; FERNANDES, E. S.; BEVAN S. **TRPA1 activation leads to neurogenic vasodilatation: involvement of reactive oxygen nitrogen species in addition to CGRP and NO.** Br J Pharmacol. v. 173, n. 15, p. 2419-33, 2016.

BAUTISTA, D.M.; PELLEGRINO, M.; TSUNOZAKI, M. **TRPA1:** a gatekeeper for inflammation. Annu Rev Physiol 75:181–200, 2005.

BENDEL, S.; RUOKONEN, E.; POLONEN, P.; UUSARO, A. **Propofol causes more hypotension than etomidate in patients with severe aortic stenosis: a double-blind, randomized study comparing propofol and etomidate.** Acta Anaesthesiol Scand, v. 51, n. 3, p. 284-9, 2007.

BERTRAND, M.; GODET, G.; MEERSSCHAERT, K.; BRUN, L.; SALCEDO, E.; CORIAT, P. **Should the angiotensin II antagonists be discontinued before surgery?** Anesth Analg, v. 92, n. 1, p. 26-30, 2001.

BODKIN, J. V.; THAKORE, P.; AUBDOOL, A. A.; LIANG, L., FERNANDES, E. S., NANDI, M. et al. **Investigating the potential role of TRPA1 in locomotion and cardiovascular control during hypertension.** Pharmacol Res Perspect., v. 2, n. 4, 2014.

BOILLOT, A.; LAURANT, P.; BERTHELOT, A.; BARALE, F. **Effects of propofol on vascular reactivity in isolated aortae from normotensive and spontaneously hypertensive rats.** *Br J Anaesth*, v. 83, n. 4, p. 622-9, 1999.

BRYAN, N. S.; RASSAF, T.; MALONEY, R. E.; RODRIGUEZ, C. M.; SAIJO, F.; RODRIGUEZ, J. R.; FEELISCH, M. **Cellular targets and mechanisms of nitros(yl)ation: an insight into their nature and kinetics in vivo.** *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 101, n. 12, p. 4308- 13, 2004.

BRYSON, H. M.; FULTON, B. R.; FAULDS, D. **Propofol. An update of its use in anaesthesia and conscious sedation.** *Drugs*, v. 50, n. 3, p. 513-59, 1995.

CHAUDHRI, S.; KENNY, G. N. **Sedation after cardiac bypass surgery: comparison of propofol and midazolam in the presence of a computerized closed loop arterial pressure controller.** *Br J Anaesth*, v. 68, n. 1, p. 98-9, 1992.

CHEN, J.; CHEN, W.; ZHU, M.; ZHU, Y.; YIN, H.; TAN, Z. **Propofol attenuates angiotensin II-induced apoptosis in human coronary artery endothelial cells.** *Br J Anaesth*, v. 107, n. 4, p. 525-32, 2011.

CHOBANIAN, A. V. et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *Jama*, v. 289, n. 19, p. 2560-72, 2003.

CLAEYS, M. A.; GEPTS, E.; CAMU, F. **Haemodynamic changes during anaesthesia induced and maintained with propofol.** *Br J Anaesth*, v. 60, n. 1, p. 3-9, 1988.

COCKCROFT, J. R. **Exploring vascular benefits of endothelium-derived nitric oxide.** *Am J Hypertens*, v. 18, n. 12 Pt 2, p. 177S-183S, 2005.

COLLINS, F. S.; MCKUSICK, V. A. **Implications of the Human Genome Project for medical science.** *Jama*, v. 285, n. 5, p. 540-4, 2001.

COMFERE, T.; SPRUNG, J.; KUMAR, M. M.; DRAPER, M.; WILSON, D. P.; WILLIAMS, B. A.; DANIELSON, D. R.; LIEDL, L.; WARNER, D. O. **Angiotensin system inhibitors in a general surgical population.** *Anesth Analg*, v. 100, n. 3, p. 636-44, table of contents, 2005.

COOKE, G. E.; DOSHI, A.; BINKLEY, P. F. **Endothelial nitric oxide synthase gene: prospects for treatment of heart disease.** *Pharmacogenomics*, v. 8, n. 12, p. 1723- 34, 2007.

- COOKE, J. P.; DZAU, V. J. **Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease.** *Annu Rev Med*, v. 48, p. 489-509, 1997.
- CORIAT, P.; RICHER, C.; DOURAKI, T.; GOMEZ, C.; HENDRICKS, K.; GIUDICELLI, J. F.; VIARS, P. **Influence of chronic angiotensin-converting enzyme inhibition on anesthetic induction.** *Anesthesiology*, v. 81, n. 2, p. 299-307, 1994.
- CORNETT PM, MATTA JA, AHERN GP. **General anesthetics sensitize the capsaicin receptor transient receptor potential V1.** *Mol Pharmacol* 74:1261–126, 2008.
- CRAWFORD, D. C.; NICKERSON, D. A. **Definition and clinical importance of haplotypes.** *Annu Rev Med*, v. 56, p. 303-20, 2005.
- CAVANAGH, E. M.; INSERRA, F.; TOBLLI, J.; STELLA, I.; FRAGA, C. G.; FERDER, L. ENALAPRIL. **Attenuates oxidative stress in diabetic rats.** *Hypertension*, v. 38, n. 5, p. 1130-6, 2001.
- DENNINGER, J. W.; MARLETTA, M. A. **Guanylate cyclase and the .NO/cGMP signaling pathway.** *Biochim Biophys Acta*, v. 1411, n. 2-3, p. 334-50, 1999.
- DEVEREAUX, P. J. et al. **Effects of extended-release metoprolol succinate in patients undergoing non-cardiac surgery (POISE trial): a randomised controlled trial.** *Lancet*, v. 371, n. 9627, p. 1839-47, 2008.
- DIOGENES, A.; AKOPIAN, A.N.; HARGREAVES, K. M. **NGF up-regulates TRPA1: implications for orofacial pain.** *J Dent Res*, v. 86, n. 6, p. 550-5, 2007.
- DUDZINSKI, D. M.; MICHEL, T. **Life history of eNOS: partners and pathways.** *Cardiovasc Res*, v. 75, n. 2, p. 247-60, 2007.
- EARLEY S, GONZALES AL, CRNICH R. **Endothelium-dependent cerebral artery dilation mediated by TRPA1 and Ca²⁺-Activated K⁺ channels.** *Circ Res*, v.104, n.8, p.987-94, 2009.
- EILERS, H.; CATTARUZZA, F.; NASSINI, R.; MATERAZZI, S.; ANDRE, E.; CHU, C. et al. **Pungent General Anesthetics Activate Transient Receptor Potential-A1 to Produce Hyperalgesia and Neurogenic Bronchoconstriction.** *Anesthesiology*, v. 112, p. 1452-63, 2010.

EISENHARDT, A.; SPERLING, H.; HAUCK, E.; PORST, H.; STIEF, C.; RUBBEN, H.; MULLER, N.; SIFFERT, W. **ACE gene I/D and NOS3 G894T polymorphisms and response to sildenafil in men with erectile dysfunction**. *Urology*, v. 62, n. 1, p. 152-7, 2003.

ELLIS, G.; ADATIA, I.; YAZDANPANA, M.; MAKELA, S. K. **Nitrite and nitrate analyses: a clinical biochemistry perspective**. *Clin Biochem*, v. 31, n. 4, p. 195-220, 1998.

FEELISCH, M.; RASSAF, T.; MNAIMNEH, S.; SINGH, N.; BRYAN, N. S.; JOURD'HEUIL, D.; KELM, M. **Concomitant S-, N-, and heme-nitros(yl)ation in biological tissues and fluids: implications for the fate of NO in vivo**. *Faseb J*, v. 16, n. 13, p. 1775-85, 2002.

FISCHER MJM, LEFFLER A, NIEDERMIRTL F, KISTNER K, EBERHARDT M, REEH PW, NAU C. **The general anesthetic propofol excites nociceptors by activating TRPV1 and TRPA1 rather than GABAA receptors**. *J Biol Chem* 285:34781–34792, 2010.

FRANCIS, S. H.; BUSCH, J. L.; CORBIN, J. D.; SIBLEY, D. **cGMP-dependent protein kinases and cGMP phosphodiesterases in nitric oxide and cGMP action**. *Pharmacol Rev*, v. 62, n. 3, p. 525-63, 2010.

FRIEBE, A.; KOESLING, D. **Regulation of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase**. *Circ Res*, v. 93, n. 2, p. 96-105, 2003.

FUKAI, T.; SIEGFRIED, M. R.; USHIO-FUKAI, M.; CHENG, Y.; KOJDA, G.; HARRISON, D. G. **Regulation of the vascular extracellular superoxide dismutase by nitric oxide and exercise training**. *J Clin Invest*, v. 105, n. 11, p. 1631-9, 2000.

FURCHGOTT, R. F.; ZAWADZKI, J. V. **The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine**. *Nature*, v. 288, n. 5789, p. 373- 6, 1980.

GALANAKIS, E.; KOFTERIDIS, D.; STRATIGI, K.; PETRAKI, E.; VAZGIOURAKIS, V.; FRAGOULI, E.; MAMOULAKIS, D.; BOUMPAS, D. T.; GOULIELMOS, G. N. **Intron 4 a/b polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with both type 1 and type 2 diabetes in a genetically homogeneous population**. *Hum Immunol*, v. 69, n. 4-5, p. 279-83, 2008.

GODFREY, V.; CHAN, S. L.; CASSIDY, A.; BUTLER, R.; CHOY, A.; FARDON, T.; STRUTHERS, A.; LANG, C. **The functional consequence of the Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene in young healthy**

volunteers. *Cardiovasc Drug Rev*, v. 25, n. 3, p. 280-8, 2007.

GRAGASIN, F. S.; BOURQUE, S. L.; DAVIDGE, S. T. **Vascular aging and hemodynamic stability in the intraoperative period.** *Front Physiol*, v. 3, p. 74, 2012.

GRAGASIN, F. S.; BOURQUE, S. L.; DAVIDGE, S. T. **Propofol increases vascular relaxation in aging rats chronically treated with the angiotensin-converting enzyme inhibitor captopril.** *Anesth Analg*, v. 116, n. 4, p. 775-83, 2013.

GRAGASIN, F. S.; DAVIDGE, S. T. **The effects of propofol on vascular function in mesenteric arteries of the aging rat.** *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 297, n. 1, p. H466-74, 2009.

HALES, T. G.; LAMBERT, J. J. **The actions of propofol on inhibitory amino acid receptors of bovine adrenomedullary chromaffin cells and rodent central neurones.** *Br J Pharmacol*, v. 104, n. 3, p. 619-28, 1991.

HANS, P.; BONHOMME, V.; COLLETTE, J.; ALBERT, A.; MOONEN, G. **Propofol protects cultured rat hippocampal neurons against N-methyl-D-aspartate receptor-mediated glutamate toxicity.** *J Neurosurg Anesthesiol*, v. 6, n. 4, p. 249-53, 1994.

HARA, M.; KAI, Y.; IKEMOTO, Y. **Propofol activates GABAA receptor-chloride ionophore complex in dissociated hippocampal pyramidal neurons of the rat.** *Anesthesiology*, v. 79, n. 4, p. 781-8, 1993.

HERCE-PAGLIAI, C.; KOTECHA, S.; SHUKER, D. E. **Analytical methods for 3-nitrotyrosine as a marker of exposure to reactive nitrogen species: a review.** *Nitric Oxide*, v. 2, n. 5, p. 324-36, 1998.

HOROWITZ, A.; MENICE, C. B.; LAPORTE, R.; MORGAN, K. G. **Mechanisms of smooth muscle contraction.** *Physiol Rev*, v. 76, n. 4, p. 967-1003, 1996.

HYNDMAN, M. E.; PARSONS, H. G.; VERMA, S.; BRIDGE, P. J.; EDWORTHY, S.; JONES, C.; LONN, E.; CHARBONNEAU, F.; ANDERSON, T. J. **The T-786-->C mutation in endothelial nitric oxide synthase is associated with hypertension.** *Hypertension*, v. 39, n. 4, p. 919-22, 2002.

IGNARRO, L. J.; BUGA, G. M.; WOOD, K. S.; BYRNS, R. E.; CHAUDHURI, G. **Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide.** *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 84, n. 24, p. 9265-9, 1987.

JACHYMOVA, M.; HORKY, K.; BULTAS, J.; KOZICH, V.; JINDRA, A.; PELESKA, J.; MARTASEK, P. **Association of the Glu298Asp polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene with essential hypertension resistant to conventional therapy.** *Biochem Biophys Res Commun*, v. 284, n. 2, p. 426-30, 2001.

JENSEN, K.; BUNEMANN, L.; RIISAGER, S.; THOMSEN, L. J. **Cerebral blood flow during anaesthesia: influence of pretreatment with metoprolol or captopril.** *Br J Anaesth*, v. 62, n. 3, p. 321-3, 1989.

JOHNSON, T. **Blood pressure loci identified with a gene-centric array.** *Am J Hum Genet*, v. 89, n. 6, p. 688-700, 2011.

JONES, A. E.; YIANNIBAS, V.; JOHNSON, C.; KLINE, J. A. Emergency department hypotension predicts sudden unexpected in-hospital mortality: a prospective cohort study. *Chest*, v. 130, n. 4, p. 941-6, 2006.

JONES, G. M.; DOEPKER, B. A.; ERDMAN, M. J.; KIMMONS, L. A.; ELIJOVICH, L. **Predictors of severe hypotension in neurocritical care patients sedated with propofol.** *Neurocrit Care*, v. 20, n. 2, p. 270-6, 2014.

JOSHI, M. S.; MINEO, C.; SHAUL, P. W.; BAUER, J. A. **Biochemical consequences of the NOS3 Glu298Asp variation in human endothelium: altered caveolar localization and impaired response to shear.** *Faseb J*, v. 21, n. 11, p. 2655-63, 2007.

KANG, K.; PULVER, S.R.; PANZANO, V.C.; CHANG, E.C.; GRIFFITH, L.C.; THEOBALD, D.L.; GARRITY, P.A. **Analysis of *Drosophila* TRPA1 reveals an ancient origin for human chemical nociception.** *Nature*, v. 464, n. 7288, p.597-600, 2010.

KASSAM SI, LU C, BUCKLEY N, LEE RM. **The mechanisms of propofol-induced vascular relaxation and modulation by perivascular adipose tissue and endothelium.** *Anesth Analg*, v. 112, n. 6, p. 1339-45, 2011.

KEARNEY, P. M.; WHELTON, M.; REYNOLDS, K.; MUNTNER, P.; WHELTON, P. K.; HE, J. **Global burden of hypertension: analysis of worldwide data.** *Lancet*, v. 365, n. 9455, p. 217- 23, 2005.

KEYL, C.; SCHNEIDER, A.; DAMBACHER, M.; WEGENHORST, U.; INGENLATH,

M.; GRUBER, M.; BERNARDI, L. **Dynamic cardiocirculatory control during propofol anesthesia in mechanically ventilated patients.** *Anesth Analg*, v. 91, n. 5, p. 1188-95, 2000.

KIRKPATRICK, T.; COCKSHOTT, I. D.; DOUGLAS, E. J.; NIMMO, W. S. **Pharmacokinetics of propofol (diprivan) in elderly patients.** *Br J Anaesth*, v. 60, n. 2, p. 146-50, 1988.

KLEINBONGARD, P. **Plasma nitrite concentrations reflect the degree of endothelial dysfunction in humans.** *Free Radic Biol Med*, v. 40, n. 2, p. 295-302, 2006.

KLEINBONGARD, P. **Plasma nitrite reflects constitutive nitric oxide synthase activity in mammals.** *Free Radic Biol Med*, v. 35, n. 7, p. 790-6, 2003.

KLOCKGETHER-RADKE, A.P.; FRERICHS, A.; KETTLER, D.; HELLIGE, G. **Propofol and thiopental attenuate the contractile response to vasoconstrictors in human and porcine coronary artery segments.** *Eur J Anaesthesiol*, v. 17, n. 8, p. 485-90, 2000.

KOMATSU, M.; KAWAGISHI, T.; EMOTO, M.; SHOJI, T.; YAMADA, A.; SATO, K.; HOSOI, M.; NISHIZAWA, Y. **ecNOS gene polymorphism is associated with endothelium-dependent vasodilation in Type 2 diabetes.** *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 283, n. 2, p. H557-61, 2002.

KOPPENOL, W. H. **The basic chemistry of nitrogen monoxide and peroxy nitrite.** *Free Radic Biol Med*, v. 25, n. 4-5, p. 385-91, 1998.

KUHR, F.; LOWRY, J.; ZHANG, Y.; BROVKOVYCH, V.; SKIDGEL, R. A. **Differential regulation of inducible and endothelial nitric oxide synthase by kinin B1 and B2 receptors.** *Neuropeptides*, v. 44, n. 2, p. 145-54, 2010.

LAM, C.F.; CHANG, P.J.; CHEN, Y.A.; YEH, C.Y.; TSAI, Y.C. **Inhibition of ATP-sensitive potassium channels attenuates propofol-induced vasorelaxation.** *Crit Care Resusc.* v. 12, n. 3, p 186-90, 2010.

LI, H.; WALLERATH, T.; FORSTERMANN, U. **Physiological mechanisms regulating the expression of endothelial-type no synthase.** *Nitric Oxide*, v. 7, n. 2, p. 132-47, 2002.

LIAO, M.; CAO, E.; JULIUS, D. Et al. **Structure of the TRPV1 ion channel determined by electron cryo-microscopy.** *Nature*, v. 504, p. 107–112, 2013.

- LINGAMANENI, R.; HEMMINGS, H. C. **Differential interaction of anaesthetics and antiepileptic drugs with neuronal Na⁺ channels, Ca²⁺ channels, and GABA(A) receptors.** *Br J Anaesth*, v. 90, n. 2, p. 199-211, 2003.
- LINZ, W.; WOHLFART, P.; SCHOLKENS, B. A.; MALINSKI, T.; WIEMER, G. **Interactions among ACE, kinins and NO.** *Cardiovasc Res*, v. 43, n. 3, p. 549-61, 1999.
- LUIZON, M. R.; METZGER, I. F.; LACCHINI, R.; TANUS-SANTOS, J. E. **Endothelial nitric oxide synthase polymorphism rs3918226 associated with hypertension does not affect plasma nitrite levels in healthy subjects.** *Hypertension*, v. 59, n. 6, p. e52; author reply e53, 2012.
- LUNDBERG, J. O.; GLADWIN, M. T.; WEITZBERG, E. **Strategies to increase nitric oxide signalling in cardiovascular disease.** *Nat Rev Drug Discov*, v. 14, n. 9, p. 623-41, 2015.
- MALINOWSKA-ZAPRZALKA, M.; WOJEWODZKA, M.; DRYL, D.; GRABOWSKA, S. Z.; CHABIELSKA, E. **Hemodynamic effect of propofol in enalapril-treated hypertensive patients during induction of general anesthesia.** *Pharmacol Rep*, v. 57, n. 5, p. 675-8, 2005.
- MARIK, P. E. **Propofol:** therapeutic indications and side-effects. *Curr Pharm Des*, v. 10, n. 29, p. 3639-49, 2004.
- MARSDEN, P. A.; HENG, H. H.; SCHERER, S. W.; STEWART, R. J.; HALL, A. V.; SHI, X. M.; TSUI, L. C.; SCHAPPERT, K. T. **Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene.** *J Biol Chem*, v. 268, n. 23, p. 17478-88, 1993.
- MATTA JA, CORNETT PM, MIYARES RL, ABE K, SAHIBZADA N, AHERN GP. **General anesthetics activate a nociceptive ion channel to enhance pain and inflammation.** *Proc Natl Acad Sci USA*, 105:8784–8789, 2008.
- MCDERMOTT, B. J.; MCWILLIAMS, S.; SMYTH, K.; KELSO, E. J.; SPIERS, J. P.; ZHAO, Y.; BELL, D.; MIRAKHUR, R. K. **Protection of cardiomyocyte function by propofol during simulated ischemia is associated with a direct action to reduce pro-oxidant activity.** *J Mol Cell Cardiol*, v. 42, n. 3, p. 600-8, 2007.
- MENDEZ, D.; DE LA CRUZ, J. P.; ARREBOLA, M. M.; GUERRERO, A.; GONZALEZ-CORREA, J. A.; GARCIA-TEMBOURY, E.; SANCHEZ DE LA CUESTA, F. **The effect of propofol on the interaction of platelets with leukocytes and erythrocytes in surgical patients.** *Anesth Analg*, v. 96, n. 3, p.

713-9, table of contents, 2003.

MENTZ, R. J. **The past, present and future of renin-angiotensin aldosterone system inhibition.** *Int J Cardiol*, v. 167, n. 5, p. 1677-87, 2013.

METZGER, I. F.; ISHIZAWA, M. H.; RIOS-SANTOS, F.; CARVALHO, W. A.; TANUS-SANTOS, J. E. **Endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes affect nitrite levels in black subjects.** *Pharmacogenomics J*, v. 11, n. 6, p. 393-9, 2011.

METZGER, I. F.; SERTORIO, J. T.; TANUS-SANTOS, J. E. **Relationship between systemic nitric oxide metabolites and cyclic GMP in healthy male volunteers.** *Acta Physiol (Oxf)*, v. 188, n. 2, p. 123-7, 2006.

METZGER, I. F.; SERTORIO, J. T.; TANUS-SANTOS, J. E. **Modulation of nitric oxide formation by endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes.** *Free Radic Biol Med*, v. 43, n. 6, p. 987-92, 2007.

METZGER, I. F.; SOUZA-COSTA, D. C.; MARRONI, A. S.; NAGASSAKI, S.; DESTA, Z.; FLOCKHART, D. A.; TANUS-SANTOS, J. E. **Endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes associated with circulating concentrations of nitric oxide products in healthy men.** *Pharmacogenet Genomics*, v. 15, n. 8, p. 565-70, 2005.

MONCADA, S.; HIGGS, A. **The L-arginine-nitric oxide pathway.** *N Engl J Med*, v. 329, n. 27, p. 2002-12, 1993.

MONK, C. R.; COATES, D. P.; PRYS-ROBERTS, C.; TURTLE, M. J.; SPELINA, K. **Haemodynamic effects of a prolonged infusion of propofol as a supplement to nitrous oxide anaesthesia.** *Studies in association with peripheral arterial surgery.* *Br J Anaesth*, v. 59, n. 8, p. 954-60, 1987.

MONTENEGRO, M. F.; PESSA, L. R.; GOMES, V. A.; DESTA, Z.; FLOCKHART, D. A.; TANUS-SANTOS, J. E. **Assessment of vascular effects of tamoxifen and its metabolites on the rat perfused hindquarter vascular bed.** *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, v. 104, n. 5, p. 400-7, 2009.

MONTI, L. D. **Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms are associated with type 2 diabetes and the insulin resistance syndrome.** *Diabetes*, v. 52, n. 5, p. 1270-5, 2003.

MORENO, L.; MARTINEZ-CUESTA, M. A.; MUEDRA, V.; BELTRAN, B.; ESPLUGUES, J. **Role of the endothelium in the relaxation induced by propofol and thiopental in isolated arteries from man.** *J Pharm Pharmacol*, v.

49, n. 4, p. 430-2, 1997.

MUNIZ, J. J.; LACCHINI, R.; RINALDI, T. O.; NOBRE, Y. T.; COLOGNA, A. J.; MARTINS, A. C.; TANUS-SANTOS, J. E. **Endothelial nitric oxide synthase genotypes and haplotypes modify the responses to sildenafil in patients with erectile dysfunction.** Pharmacogenomics J, v. 13, n. 2, p. 189-96, 2013.

NAGASSAKI, S.; SERTORIO, J. T.; METZGER, I. F.; BEM, A. F.; ROCHA, J. B.; TANUS-SANTOS, J. E. **eNOS gene T-786C polymorphism modulates atorvastatin-induced increase in blood nitrite.** Free Radic Biol Med, v. 41, n. 7, p. 1044-9, 2006.

NAKAYAMA, M. **T-786-->C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm.** Circulation, v. 99, n. 22, p. 2864-70, 1999.

NATHAN, N.; ODIN, I. **Induction of anaesthesia: a guide to drug choice.** Drugs, v. 67, n. 5, p. 701-23, 2007.

OLIVEIRA-PAULA, G. H.; LACCHINI, R.; LUIZON, M. R.; FONTANA, V.; SILVA, P. S.; BIAGI, C.; TANUS-SANTOS, J. E. **Endothelial nitric oxide synthase tagSNPs influence the effects of enalapril in essential hypertension.** Nitric Oxide, v. 55-56, p. 62-9, 2016.

OLIVEIRA-PAULA, G. H.; LACCHINI, R.; TANUS-SANTOS, J. E. **Inducible nitric oxide synthase as a possible target in hypertension.** Curr Drug Targets, v. 15, n. 2, p. 164-74, 2014.

OLIVEIRA-PAULA, G. H.; LACCHINI, R.; TANUS-SANTOS, J. E. **Clinical and pharmacogenetic impact of endothelial nitric oxide synthase polymorphisms on cardiovascular diseases.** Nitric Oxide, 2016a.

OLIVEIRA-PAULA, G. H.; LACCHINI, R.; TANUS-SANTOS, J. E. **Endothelial nitric oxide synthase: From biochemistry and gene structure to clinical implications of NOS3 polymorphisms.** Gene, v. 575, n. 2 Pt 3, p. 584-99, 2016b.

OLIVI, L. **The -665 C>T polymorphism in the eNOS gene predicts cardiovascular mortality and morbidity in white Europeans.** J Hum Hypertens, v. 29, n. 3, p. 167-72, 2015.

ORSER, B. A.; BERTLIK, M.; WANG, L. Y.; MACDONALD, J. F. **Inhibition by propofol (2,6 di- isopropylphenol) of the N-methyl-D-aspartate subtype of glutamate receptor in cultured hippocampal neurones.** Br J Pharmacol, v. 116, n. 2, p. 1761-8, 1995.

ORSER, B. A.; WANG, L. Y.; PENNEFATHER, P. S.; MACDONALD, J. F. **Propofol modulates activation and desensitization of GABAA receptors in cultured murine hippocampal neurons.** J Neurosci, v. 14, n. 12, p. 7747-60, 1994.

OUYANG, W.; WANG, G.; HEMMINGS, H. C. **Isoflurane and propofol inhibit voltage-gated sodium channels in isolated rat neurohypophysial nerve terminals.** Mol Pharmacol, v. 64, n. 2, p. 373-81, 2003.

PALMER, R. M.; FERRIGE, A. G.; MONCADA, S. **Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor.** Nature, v. 327, n. 6122, p. 524-6, 1987.

PARK, K. W.; DAI, H. B.; LOWENSTEIN, E.; SELLKE, F. W. **Propofol-associated dilation of rat distal coronary arteries is mediated by multiple substances, including endothelium-derived nitric oxide.** Anesth Analg, v. 81, n. 6, p. 1191-6, 1995.

PEREIRA, L.M.; LIMA-JUNIOR, R.C.; BEM, A.X.; TEIXEIRA, C.G.; GRASSI, L.S.; MEDEIROS, R.P. et al. **Blockade of TRPA1 with HC-030031 attenuates visceral nociception by a mechanism independent of inflammatory resident cells, nitric oxide and the opioid system.** Eur J Pain, v. 17, n. 2, p.223-33, 2013.

PIEPER, G. M. **Enhanced, unaltered and impaired nitric oxide-mediated endothelium-dependent relaxation in experimental diabetes mellitus: importance of disease duration.** Diabetologia, v. 42, n. 2, p. 204-13, 1999.

POZSGAI, G.; BODKIN, J.; GRAEPEL, R.; BEVAN, S.; DAVID A. ANDERSSON, SUSAN D. BRAIN. **Evidence for the pathophysiological relevance of TRPA1 receptors in the cardiovascular system in vivo.** Cardiovascular Research, v. 87, n. 4, 2010.

QIAN, X.; FRANCIS, M.; SOLODUSHKO, V.; EARLEY, S.; TAYLOR, M.S. **Recruitment of dynamic endothelial Ca²⁺ signals by the TRPA1 channel activator AITC in rat cerebral arteries.** Microcirculation, v. 20, n. 2, p. 138-48, 2013.

RAILTON, C. J.; WOLPIN, J.; LAM-MCCULLOCH, J.; BELO, S. E. **Renin-angiotensin blockade is associated with increased mortality after vascular surgery.** Can J Anaesth, v. 57, n. 8, p. 736-44, 2010.

- RAJFER, J.; ARONSON, W. J.; BUSH, P. A.; DOREY, F. J.; IGNARRO, L. J. **Nitric oxide as a mediator of relaxation of the corpus cavernosum in response to nonadrenergic, noncholinergic neurotransmission.** N Engl J Med, v. 326, n. 2, p. 90-4, 1992.
- REICH, D. L.; HOSSAIN, S.; KROL, M.; BAEZ, B.; PATEL, P.; BERNSTEIN, A.; BODIAN, C. A. **Predictors of hypotension after induction of general anesthesia.** Anesth Analg, v. 101, n. 3, p. 622-8, table of contents, 2005.
- ROBINSON, B. J.; EBERT, T. J.; O'BRIEN, T. J.; COLINCO, M. D.; MUZI, M. **Mechanisms whereby propofol mediates peripheral vasodilation in humans. Sympathoinhibition or direct vascular relaxation?** Anesthesiology, v. 86, n. 1, p. 64-72, 1997.
- ROSENMAN, D. J.; MCDONALD, F. S.; EBBERT, J. O.; ERWIN, P. J.; LABELLA, M.; MONTORI, V.M. **Clinical consequences of withholding versus administering renin-angiotensin- aldosterone system antagonists in the preoperative period.** J Hosp Med, v. 3, n. 4, p. 319-25, 2008.
- SALVI, E. **Target sequencing, cell experiments, and a population study establish endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene as hypertension susceptibility gene.** Hypertension, v. 62, n. 5, p. 844-52, 2013.
- SANDRIM, V. C.; COELHO, E. B.; NOBRE, F.; ARADO, G. M.; LANCHOTE, V. L.; TANUS- SANTOS, J. E. **Susceptible and protective eNOS haplotypes in hypertensive black and white subjects.** Atherosclerosis, v. 186, n. 2, p. 428-32, 2006.
- SANDRIM, V. C.; PALEI, A. C.; METZGER, I. F.; GOMES, V. A.; CAVALLI, R. C.; TANUS- SANTOS, J. E. **Nitric oxide formation is inversely related to serum levels of antiangiogenic factors soluble fms-like tyrosine kinase-1 and soluble endogline in preeclampsia.** Hypertension, v. 52, n. 2, p. 402-7, 2008.
- SANDRIM, V. C.; PALEI, A. C.; SERTORIO, J. T.; CAVALLI, R. C.; DUARTE, G.; TANUS-SANTOS, J. E. **Effects of eNOS polymorphisms on nitric oxide formation in healthy pregnancy and in pre-eclampsia.** Mol Hum Reprod, v. 16, n. 7, p. 506-10, 2010.
- SANDRIM, V. C.; YUGAR-TOLEDO, J. C.; DESTA, Z.; FLOCKHART, D. A.; MORENO, H., JR.; TANUS-SANTOS, J. E. **Endothelial nitric oxide synthase haplotypes are related to blood pressure elevation, but not to resistance to antihypertensive drug therapy.** J Hypertens, v. 24, n. 12, p. 2393-7, 2006.
- SANSBURY, B. E.; HILL, B. G. **Regulation of obesity and insulin resistance by nitric oxide.** Free Radic Biol Med, v. 73, p. 383-99, 2014.

- SANTHANAM, L. **Inducible NO synthase dependent S-nitrosylation and activation of arginase1 contribute to age-related endothelial dysfunction.** *Circ Res*, v. 101, n. 7, p. 692-702, 2007.
- SATO, M.; TANAKA, M.; UMEHARA, S.; NISHIKAWA, T. **Baroreflex control of heart rate during and after propofol infusion in humans.** *Br J Anaesth*, v. 94, n. 5, p. 577-81, 2005.
- SCHULZ, E.; JANSEN, T.; WENZEL, P.; DAIBER, A.; MUNZEL, T. **Nitric oxide, tetrahydrobiopterin, oxidative stress, and endothelial dysfunction in hypertension.** *Antioxid Redox Signal*, v. 10, n. 6, p. 1115-26, 2008.
- SEREMAK-MROZIKIEWICZ, A.; DREWS, K.; BARLIK, M.; SIEROSZEWSKI, P.; GRZESKOWIAK, E.; MROZIKIEWICZ, P. **The significance of -786T > C polymorphism of endothelial NO synthase (eNOS) gene in severe preeclampsia.** *J Matern Fetal Neona*, v. 24, n. 3, p. 432-6, 2011.
- SERRANO, N. C. **Endothelial NO synthase genotype and risk of preeclampsia: a multicenter case-control study.** *Hypertension*, v. 44, n. 5, p. 702-7, 2004.
- SILVA, P. S.; FONTANA, V.; PALEI, A. C.; SERTORIO, J. T.; BIAGI, C.; TANUS-SANTOS, J. E. **Antihypertensive effects exerted by enalapril in mild to moderate hypertension are not associated with changes in the circulating levels of nitric oxide-related markers.** *Eur J Clin Pharmacol*, v. 67, n. 4, p. 365-70, 2011.
- SINHA, S.; SINHAROY, P.; BRATZ, I. N.; DAMRON, D. S. **Propofol causes vasodilation in vivo via TRPA1 ion channels: role of nitric oxide and BKCa channels.** *PLoS One*, v. 10, n. 4, p. e0122189, 2015.
- SMITH, I.; WHITE, P. F.; NATHANSON, M.; GOULDSON, R. **Propofol. An update on its clinical use.** *Anesthesiology*, v. 81, n. 4, p. 1005-43, 1994.
- STEPHENS, M.; SMITH, N. J.; DONNELLY, P. A. **New statistical method for haplotype reconstruction from population data.** *Am J Hum Genet*, v. 68, n. 4, p. 978-89, 2001.
- STOELTING, R. K.; MILLER, R. D. **Basics of anesthesia.** 5th. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2007. xii, 697 p.
- SURKS, H. K.; MOCHIZUKI, N.; KASAI, Y.; GEORGESCU, S. P.; TANG, K. M.; ITO,

M.; LINCOLN, T. M.; MENDELSON, M. E. **Regulation of myosin phosphatase by a specific interaction with cGMP- dependent protein kinase lalpha.** Science, v. 286, n. 5444, p. 1583-7, 1999.

TALAVERA, K.; STARTEK, J.B.; ALVAREZ-COLLAZO, J.; BOONEN, B.; ALPIZAR, Y.A.; SANCHEZ, A. et al. **Mammalian Transient Receptor Potential TRPA1 Channels: From Structure to Disease.** Physiol Rev., v.100, n.2, p. 725-803, 2020.

TANUS-SANTOS, J. E.; CASELLA-FILHO, A. **Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and susceptibility to hypertension: genotype versus haplotype analysis.** Hypertension, v. 49, n. 1, p. E1; author reply E2, 2007.

TANUS-SANTOS, J. E.; DESAI, M.; DEAK, L. R.; PEZZULLO, J. C.; ABERNETHY, D. R.; FLOCKHART, D. A.; FREEDMAN, J. E. **Effects of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms on platelet function, nitric oxide release, and interactions with estradiol.** Pharmacogenetics, v. 12, n. 5, p. 407-13, 2002.

TANUS-SANTOS, J. E.; DESAI, M.; FLOCKHART, D. A. **Effects of ethnicity on the distribution of clinically relevant endothelial nitric oxide variants.** Pharmacogenetics, v. 11, n. 8, p. 719-25, 2001.

TEMPFER, C. B.; DORMAN, K.; DETER, R. L.; O'BRIEN, W. E.; GREGG, A. R. **An endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism is associated with preeclampsia.** Hypertens Pregnancy, v. 20, n. 1, p. 107-18, 2001.

THOMAS, G. D.; ZHANG, W.; VICTOR, R. G. **Nitric oxide deficiency as a cause of clinical hypertension: promising new drug targets for refractory hypertension.** Jama, v. 285, n. 16, p. 2055-7, 2001.

TON, H.T.; PHAN, T.X.; ABRAMYAN, A.M.; SHI, L.; AHERN, G.P. **Identification of a putative binding site critical for general anesthetic activation of TRPA1.** Proc Natl Acad Sci U S A, v. 114, n. 14, p. 3762-7, 2017.

TRAPANI, G.; ALTOMARE, C.; LISO, G.; SANNA, E.; BIGGIO, G. **Propofol in anesthesia. Mechanism of action, structure-activity relationships, and drug delivery.** Curr Med Chem, v. 7, n. 2, p. 249-71, 2000.

TURNBULL, F. **Effects of different blood-pressure-lowering regimens on major cardiovascular events: results of prospectively-designed overviews of randomised trials.** Lancet, v. 362, n. 9395, p. 1527-35, 2003.

TURNER, S. T.; CHAPMAN, A. B.; SCHWARTZ, G. L.; BOERWINKLE, E. **Effects of endothelial nitric oxide synthase, alpha-adducin, and other candidate gene polymorphisms on blood pressure response to hydrochlorothiazide.**

Am J Hypertens, v. 16, n. 10, p. 834-9, 2003.

URMAN, R. D.; DESAI, S. P. **History of anesthesia for ambulatory surgery.** Curr Opin Anaesthesiol, v. 25, n. 6, p. 641-7, 2012.

UWABO, J.; SOMA, M.; NAKAYAMA, T.; KANMATSUSE, K. **Association of a variable number of tandem repeats in the endothelial constitutive nitric oxide synthase gene with essential hypertension in Japanese.** Am J Hypertens, v. 11, n. 1 Pt 1, p. 125-8, 1998.

VON LUEDER, T. G.; KRUM, H. **RAAS inhibitors and cardiovascular protection in large scale trials.** Cardiovasc Drugs Ther, v. 27, n. 2, p. 171-9, 2013.

WALFORD, G.; LOSCALZO, J. **Nitric oxide in vascular biology.** J Thromb Haemost, v. 1, n. 10, p. 2112-8, 2003.

WANG, B.; LUO, T.; CHEN, D.; ANSLEY, D. M. **Propofol reduces apoptosis and up-regulates endothelial nitric oxide synthase protein expression in hydrogen peroxide-stimulated human umbilical vein endothelial cells.** Anesth Analg, v. 105, n. 4, p. 1027-33, table of contents, 2007.

WANG, J.; DUDLEY, D.; WANG, X. L. **Haplotype-specific effects on endothelial NO synthase promoter efficiency: modifiable by cigarette smoking.** Arterioscler Thromb Vasc Biol, v. 22, n. 5, p. e1-4, 2002.

WANG, L.; WU, B.; SUN, Y.; XU, T.; ZHANG, X.; ZHOU, M.; JIANG, W. **Translocation of protein kinase C isoforms is involved in propofol-induced endothelial nitric oxide synthase activation.** Br J Anaesth, v. 104, n. 5, p. 606-12, 2010.

WANG, Y.; ZHOU, H.; WU, B.; ZHOU, Q.; CUI, D.; WANG, L. **Protein Kinase C Isoforms Distinctly Regulate Propofol-induced Endothelium-dependent and Endothelium-independent Vasodilation.** J Cardiovasc Pharmacol, v. 66, n. 3, p. 276-84, 2015.

WEISENBERG, M.; SESSLER, D. I.; TAVDI, M.; GLEB, M.; EZRI, T.; DALTON, J. E.; PROTIANOV, M.; ZIMLICHMANN, R. **Dose-dependent hemodynamic effects of propofol induction following brotizolam premedication in hypertensive patients taking angiotensin-converting enzyme inhibitors.** J Clin Anesth, v. 22, n. 3, p. 190-5, 2010.

WU Y, LIU Y, HOU P, YAN Z, KONG W, LIU B. **TRPV1 Channels Are Functionally Coupled with BK(mSlo1).** Channels in Rat Dorsal Root Ganglion (DRG) Neurons, 2013.

YANG, L.; LIU, G.; ZAKHAROV, S. I.; BELLINGER, A. M.; MONGILLO, M.; MARX, S. O. **Protein kinase G phosphorylates Cav1.2 alpha1c and beta2 subunits.** *Circ Res*, v. 101, n. 5, p. 465-74, 2007.

ZHANG, H.; WICKLEY, P.J.; SINHA, S.; BRATZ, I.N.; DAMRON, D.S. **Propofol restores transient receptor potential vanilloid receptor subtype-1 sensitivity via activation of transient receptor potential ankyrin receptor subtype-1 in sensory neurons.** *Anesthesiology*, v. 114, n. 5, p.1169-79, 2011.

ZHANG, M. X.; ZHANG, C.; SHEN, Y. H.; WANG, J.; LI, X. N.; ZHANG, Y.; COSELLI, J.; WANG, X. L. **Biogenesis of short intronic repeat 27-nucleotide small RNA from endothelial nitric-oxide synthase gene.** *J Biol Chem*, v. 283, n. 21, p. 14685-93, 2008.

ANEXOS

ANEXO - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



Ribeirão Preto, 04 de abril de 2013

Ofício nº 1129/2013
CEP/MGV

Prezado Senhor,

O trabalho intitulado **“MARCADORES GENÉTICOS E BIOQUÍMICOS ENVOLVIDOS NAS ALTERAÇÕES HEMODINÂMICAS DECORRENTES DA INDUÇÃO ANESTÉSICA”**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 363ª Reunião Ordinária realizada em 01/04/2013, e enquadrado na categoria: **APROVADO**, bem como o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, de acordo com o Processo HCRP nº 2387/2013.

De acordo com Carta Circular nº 003/2011/CONEP/CNS, datada de 21/03/2011, o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última do referido Termo; o pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente.

DRª. MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimo Senhor
GUSTAVO HENRIQUE OLIVEIRA DE PAULA
Depto. de Farmacologia – FMRP-USP

APÊNDICE

APÊNDICE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

“Marcadores genéticos e bioquímicos envolvidos nas alterações hemodinâmicas decorrentes da indução anestésica”

Responsáveis:

Prof. Dr. José Eduardo Tanus dos Santos (FMRP-USP) (0xx16 3602 3163)

Prof. Dr. Luis Vicente Garcia (FMRP-USP) (0xx16 3602 2452)

Colaborador:

Gustavo Henrique Oliveira de Paula - Pós-graduando (FMRP-USP) (0xx16 81477565)

Você está sendo convidado (a) a participar de um estudo cujos detalhes são:

1) Este projeto pretende basicamente estudar algumas variações comuns de alguns dos seus genes (que transmitem características hereditárias) que podem estar associadas a algumas mudanças que podem ocorrer durante a anestesia, como por exemplo mudanças na pressão arterial. Além disso, pretendemos estudar como estas variações podem modificar as quantidades de algumas substâncias produzidas pelo seu organismo presentes no seu sangue. Isto poderá nos auxiliar no entendimento das alterações que acontecem durante a anestesia.

2) Sua participação neste estudo será:

Serão retirados, por 2 vezes, 15 mL do seu sangue, Este volume de sangue é cerca de 20 (vinte) vezes menor do que o volume de sangue habitualmente doado quando um indivíduo doa sangue para bancos de sangue. Este sangue será utilizado para realizar todos os estudos laboratoriais mencionados acima.

3) Você terá direito a ressarcimento financeiro caso ocorram gastos gerados

exclusivamente pela sua participação como voluntário desta pesquisa.

4) O paciente que venha participar dessa pesquisa em nível de pós-graduação, caso tenha algum dano decorrente da pesquisa, não abre mão dos seus direitos de indenização de acordo com as leis vigentes no país.

5) **NÓS NÃO PODEMOS E NÃO GARANTIREMOS QUE VOCÊ RECEBERÁ QUALQUER BENEFÍCIO DIRETO DESTE ESTUDO.**

6) Indiretamente, acreditamos que este estudo trará como benefício um entendimento das alterações hemodinâmicas decorrentes da indução anestésica.

7) Qualquer dado que possa ser publicado posteriormente em revistas científicas, não revelará a sua identidade. Entretanto, órgãos governamentais ligados à saúde podem solicitar informações a respeito da pesquisa e identidade dos voluntários nela envolvidos.

8) Você pode retirar o seu consentimento para participar deste estudo a qualquer momento, inclusive sem justificativas e sem qualquer prejuízo para você.

9) Você terá a garantia de receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida a respeito dos procedimentos, riscos, benefícios e de outras situações relacionadas com a pesquisa e o procedimento a que será submetido. Qualquer questão a respeito do estudo ou de sua saúde deve ser dirigida ao Prof. Dr. José Eduardo Tanus dos Santos do Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), ao Prof. Dr. Luís Vicente Garcia do Departamento de Biomecânica (FMRP) ou ao Pós-graduando Gustavo Henrique Oliveira de Paula do Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP). O telefone do Comitê de Ética em Pesquisa da FMRP é 016-3602-2228.

Eu, _____,
abaixo assinado, declaro que em ___/___/___ fui devidamente informado em detalhes pelo pesquisador responsável no que diz respeito ao objetivo da pesquisa, aos procedimentos que serei submetido, aos riscos e benefícios, à forma de ressarcimento no caso de eventuais despesas, bem como à indenização quanto por danos decorrentes da pesquisa. Declaro que tenho pleno conhecimento dos direitos e das condições que me foram asseguradas e acima relacionadas.

Declaro, ainda, que concordo inteiramente com as condições que me foram apresentadas e que, livremente, manifesto a minha vontade de participar do referido projeto.

Ribeirão Preto, _____ de _____ de _____.

Assinatura do voluntário

Assinatura do investigador/testemunha