



Università degli Studi di Sassari

**SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE
BIOMEDICHE**

Direttore della Scuola: Prof. Andrea Fausto Piana

INDIRIZZO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA

XXIX CICLO

PHARMACOGENOMICS OF BETA-BLOCKERS

Direttore:

Prof. Andrea Fausto Piana

Tutor:

Prof. Nicola Glorioso

Tesi di dottorato di:

Dott.ssa Giada Melis

Anno Accademico 2014 - 2015

INDICE

Sommario delle attività svolte durante il corso della Scuola di Dottorato in Scienze Biomediche: temi di ricerca sviluppati, risultati scientifici e stato delle pubblicazioni pag. 4

ABSTRACT pag. 8

1. INTRODUZIONE pag. 9

1.1 L'ipertensione arteriosa pag. 9

1.2 La farmacogenomica pag. 11

1.3 La farmacogenomica dell'ipertensione pag. 13

1.4 Gli ACE-inibitori pag. 13

1.5 Gli antagonisti del recettore per l'angiotensina II pag. 15

1.6 I diuretici pag. 15

1.7 I beta-bloccanti pag. 16

2. LO STUDIO pag. 20

3. MATERIALI E METODI pag. 21

3.1 Genotipizzazione ed Imputazione pag. 22

3.2 Analisi statistica pag. 23

4. RISULTATI pag. 25

5. DISCUSSIONE pag. 26

6. CONCLUSIONI pag. 35

7. FIGURE E TABELLE pag. 37

8. BIBLIOGRAFIA pag. 68

SOMMARIO DELLE ATTIVITÀ SVOLTE DURANTE IL CORSO DELLA SCUOLA DI DOTTORATO IN SCIENZE BIOMEDICHE: TEMI DI RICERCA SVILUPPATI, RISULTATI SCIENTIFICI E STATO DELLE PUBBLICAZIONI

Durante i due anni di dottorato ho frequentato presso il Centro Ipertensione delle Cliniche Universitarie di Sassari partecipando alla raccolta dati riguardanti lo studio oggetto del mio dottorato di ricerca. Ho inoltre partecipato ad altri progetti di ricerca, effettuato pubblicazioni in extenso e presentato abstract e poster in numerosi congressi italiani ed europei.

1. La farmacogenomica dei beta-bloccanti

Lo scopo principale di questo studio è cercare le varianti genetiche di risposta pressoria in seguito al trattamento con beta bloccanti (atenololo). Il progetto di ricerca ha previsto l'arruolamento di 435 pazienti ipertesi, con ipertensione arteriosa non trattata. E' stato effettuato un follow-up di 8 settimane durante il quale il paziente è stato monitorizzato riguardo i valori pressori ed è stata esclusa una ipertensione secondaria. Alla visita di start-up, i pazienti hanno firmato il consenso informato e autorizzato il prelievo per l'analisi del DNA. E' stato prelevato un campione di sangue per l'analisi genetica e dopo il periodo di follow-up il paziente ha iniziato il trattamento con Atenololo 50 mg (bid). I valori della pressione arteriosa sono stati rivalutati a 4 settimane. Per l'analisi genetica è stato utilizzato l'Illumina Human 1M-Duo array (Illumina Inc, San Diego, USA) per 82 pazienti e l'Illumina Human Omni Express array per 352 pazienti. E' stato eseguito un controllo di qualità (utilizzando il software PLINK) del campione sottoposto a genotipizzazione prima di effettuare l'analisi di associazione. Dopo controllo di qualità il campione risulta composto da 403 pazienti, 189 maschi e 214 femmine. Abbiamo analizzato le variazioni della pressione arteriosa sistolica

Giada Melis, "Pharmacogenomics of Beta-Blockers", Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica, Università degli Studi di Sassari

e diastolica e della frequenza cardiaca a quattro settimane di trattamento con atenololo. Per valutare l'associazione tra genotipo e fenotipo sono state eseguite 3 regressioni lineari sotto un modello additivo (implementato in Mach2qtl). Per identificare i polimorfismi associati al Δ SBP4, Δ DBP4 e Δ HR è stata effettuata una analisi di regressione lineare corretta per sesso, età, indice di massa corporea, SBP basale, DBP basale, HR basale, aldosterone plasmatico, attività della renina plasmatica e per le componenti principali PCs. Sono stati identificati 431 SNPs associati al Δ SBP4 (p-value $< 10^{-5}$), 561 SNPs associati al Δ DBP4 (p-value $\leq 10^{-5}$) e 383 SNPs al Δ HR (p-value $\leq 10^{-5}$). Sono stati eliminati poi gli SNPs che erano in linkage disequilibrium ($r^2 \geq 0.8$) e gli SNPs localizzati in regioni deserte. Sono quindi stati individuati 5 SNPs associati al Δ SBP4, 6 SNPs al Δ DBP4 e 3 SNPs al Δ HR. Successivamente abbiamo condotto una revisione della mappa funzionale di ogni polimorfismo per mettere in luce una relazione tra questi geni e la loro funzione, direttamente o indirettamente correlati alla regolazione della pressione arteriosa. I risultati ottenuti hanno consentito di identificare diversi geni coinvolti nella risposta al trattamento anti-ipertensivo. Attualmente l'analisi statistica è stata completata e sono in corso di definizione le "mappe funzionali" dei polimorfismi genici associati al fenotipo in esame con alto livello di p-value: è in preparazione il manoscritto da inviare ad una rivista scientifica ad alto "fattore di impatto".

2. Studio prospettico multicentrico "Arapacis". ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01161251. Ruolo: Sub-Investigatore (Arapacis Study Investigators Group). ARAPACIS (Atrial fibrillation Registry for Ankle-Brachial Index Prevalence Assessment: Collaborative Italian Study). Registro nazionale di pazienti con fibrillazione atriale per la valutazione dell'arteriopatia periferica: studio prospettico multicentrico. Ambulatorio Ipertensione, Cliniche Universitarie, Sassari (Dir. Prof. Nicola Glorioso).

Giada Melis, "Pharmacogenomics of Beta-Blockers", Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica, Università degli Studi di Sassari

La costituzione del registro ARAPACIS è stato il frutto di un lavoro collaborativo fra diversi Centri di Ricerca nazionali ed ha generato lavori scientifici pubblicati su riviste scientifiche internazionali.

3. Studio Osservazionale “Epidemiologia del trauma in Sardegna” (2014). Ruolo: Principal Investigator. Studio multicentrico osservazionale per il monitoraggio epidemiologico ed assistenziale, volto alla creazione e gestione di un Registro Traumi Gravi Regionale in Sardegna (Responsabile. Dr.ssa Giada Melis). La ricerca è stata condotta su un campione di 64625 pazienti consecutivi afferiti ai principali Pronto Soccorso della regione nell’anno 2012; i dati, acquisiti mediante autorizzazione nominativa dell’Assessorato dell’Igiene e Sanità e dell’Assistenza Sociale della Regione Autonoma della Sardegna, riguardano tutti gli accessi per Traumatismi ai seguenti presidi di Pronto Soccorso: Ospedale SS. Trinità (Cagliari), Ospedale Marino (Cagliari), Ospedale San Michele Brotzu (Cagliari), Ospedale San Giuseppe (Isili), Ospedale San Marcellino (Muravera), Ospedale San Martino (Oristano), Ospedale G.P. Delogu (Ghilarza), Ospedale A.G. Mastino (Bosa), Ospedale San Francesco (Nuoro), Ospedale SS. Annunziata (Sassari). Analisi statistica in corso.

4. Studio Epidemiologico Retrospektivo Spontaneo relativo agli accessi al Dipartimento di Emergenza Urgenza SS. Annunziata Sassari (2015) (Autorizzazione del Comitato Etico dell’ASL di Sassari con Delibera Protocollo n° 2132, 13/01/2015). Ruolo: Principal Investigator. Studio retrospektivo volto a descrivere la natura, la frequenza, e le caratteristiche del paziente, di tutte le età, in condizioni critiche, mediante acquisizione e valutazione di dati clinico-epidemiologici. Raccolta dati in corso.

5. Ho svolto inoltre studi preliminari sugli accessi in Pronto Soccorso (P.O.SS.Trinità Cagliari, P.O. SS.Annunziata Sassari) riguardanti i pazienti acuti con diverse problematiche. Alcuni di questi lavori sono stati accettati come lavori in extenso, nonché abstract e poster in diversi Congressi italiani ed europei.

ABSTRACT

Aim: Hypertension is a common disorder associated with increased cardiovascular morbidity and mortality. Pharmacogenomics seeks for genetic predictors of drug response. Aim of this study is to look for gene variations associated with blood pressure response to beta-blockers.

Methods: 403 (M=46.9%; F=53.1%; mean age 51.7±11.4yrs) untreated Sardinian hypertensive patients were enrolled at the Hypertension Center, University of Sassari. A 8-weeks follow-up to assess the presence of the disease and secondary hypertension. Genomic DNA was extracted from the peripheral blood collected at week 0 (start treatment with atenolol 50mg b.i.d). Illumina Human1M-Duo and OmniExpress array were used for genotyping. To assess genotype-phenotype association a linear regression analysis on SBP4 under an additive model, adjusted for sex, age, basal SBP/HR/BMI was performed.

Results: statistically significant differences between baseline and the first follow-up at 4-weeks of treatment are reported. Systolic pressure varied significantly after 4 weeks of treatment: mean values 159±15 mmHg (baseline) vs. 136±17 mmHg (4-weeks). 431 SNPs has been identified: out of these, 183 showed significant delta-SBP4; a similar set of analysis has been conducted with regard to delta-DBP and heart rate. Then we have conducted a review of functional mapping of each gene polymorphism to highlight a possible relationship between these genes and their functional pathways directly or indirectly involved in the regulation of blood pressure. Some genes found have shown a physiological mechanisms involved in blood pressure regulation.

Conclusion: Our preliminary data identified several genes involved in the response to antihypertensive drug treatment: theses findings could allow new gene-targeted treatments.

Giada Melis, "Pharmacogenomics of Beta-Blockers", Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica, Università degli Studi di Sassari

1. INTRODUZIONE

1.1 L'ipertensione arteriosa

L'ipertensione arteriosa nella sua forma "essenziale" è una malattia dell'adulto poligenica e multifattoriale da interazione geni-ambiente. Essa è attualmente il maggiore fattore di rischio modificabile per le malattie cardiovascolari e lo stroke¹ e se non controllata è associata ad una incrementata mortalità².

Numerosi studi dimostrano che un corretto e tempestivo trattamento risulta indispensabile per ridurre l'incidenza di infarto miocardico, insufficienza cardiaca, stroke e insufficienza renale nonché per ridurre in maniera incisiva la mortalità conseguente alle complicanze legate a tale patologia^{2,3,4}.

Per ogni aumento di 20 mmHg della pressione arteriosa sistolica a partire da 115 mmHg, di 10 mmHg nella pressione diastolica a partire da 75 mmHg, la mortalità per cardiopatia ischemica e ictus sono raddoppiati⁵.

La frazione attribuibile della popolazione (PAF: proporzione di popolazione che eviterebbe la malattia se fosse rimosso il fattore di rischio) per mortalità da malattie cardiovascolari è il seguente: 40.6% per ipertensione; 13.7% per fumo di sigaretta; 13.2% per dieta carente; 11.9% per scarsa attività fisica e 8.8% per iperglicemia⁶. Ciò significa che il raggiungimento di valori pressori ottimali porterebbe a una riduzione di mortalità per CAD di circa il 40%.

Questo concetto viene anche sottolineato da Farley et al. secondo il quale, in USA, un incremento anche di solo il 10% nel trattamento dell'ipertensione arteriosa porterebbe a prevenire 14000 morti ogni anno⁷.

Tra gli adulti ipertesi circa l'82% sono consapevoli della loro condizione e il 75% assumono farmaci anti-ipertensivi, ma solo il 53% di questi hanno raggiunto i livelli target⁸.

Giada Melis, "Pharmacogenomics of Beta-Blockers", Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica, Università degli Studi di Sassari

Il trattamento dell'ipertensione arteriosa deve quindi prevedere un approccio multidisciplinare che comprenda una modificazione dello stile di vita, una facilità di accesso alle cure con adeguato follow-up e soprattutto un adeguato trattamento farmacologico. La modificazione dello stile di vita deve essere iniziata subito in tutti i pazienti affetti da ipertensione arteriosa e deve prevedere oltre a una riduzione del peso corporeo, una dieta adeguata ricca di frutta e vegetali e povera di grassi soprattutto saturi, la riduzione dell'introito di sodio (meno di 2.4 mg/die), attività fisica e riduzione dell'introito di alcool¹.

Malgrado la modificazione dello stile di vita e la disponibilità di molte opzioni terapeutiche spesso non si arriva al raggiungimento del target pressorio neanche con la politerapia. In linea generale, i dati suggeriscono che il controllo della pressione arteriosa interessa meno del 50% nonostante la maggior parte dei pazienti siano trattati farmacologicamente⁹.

1.2 La farmacogenomica

L'ipertensione arteriosa è un fattore ereditabile¹⁰, la cui espressione fenotipica viene influenzata da fattori biologici e stimoli ambientali. Anche la risposta alla terapia farmacologica può essere influenzata dal patrimonio genetico dell'individuo. Allo stato attuale esistono in letteratura numerose dimostrazioni di varianti geniche coinvolte nel determinismo e nel mantenimento dell'ipertensione arteriosa essenziale^{11,12,13,14,15,16,17}.

Qualunque farmaco, una volta introdotto nell'organismo, va incontro a una serie di trasformazioni che comprendono metabolizzazione, attivazione, coniugazione, trasporto, distribuzione e infine eliminazione. In tutti questi processi o anche in una singola tappa vi può essere il coinvolgimento di uno o più geni polimorfici la cui variabilità influenza nel complesso la risposta a quel farmaco.

La variabilità individuale della risposta ad un farmaco è dovuta a fattori fisiologici (età, sesso, peso corporeo); patologici (interessanti funzionalità epatica e renale implicate nel metabolismo del farmaco); ambientali (dieta, alcool, politerapia che interessi le stesse vie metaboliche) e genetici. Le variazioni qualitative o quantitative della risposta a un farmaco riguardano non solo l'effetto terapeutico, ma anche gli effetti avversi. La ricerca genetica ha portato all'individuazione di diversi loci contenenti geni implicati nei meccanismi di regolazione o riguardanti la fisiologia della pressione arteriosa¹⁸.

I metodi di analisi genetica possono essere condotti identificando i geni bersaglio del farmaco o i geni coinvolti in qualsiasi sua tappa all'interno dell'organismo conoscendone il meccanismo fisiologico e le proteine coinvolte. Un'altra metodica prevede il metodo della genetica inversa, secondo il quale si “deduce” la proteina dalla sequenza del genoma, dopo che è stata localizzata sul cromosoma.

Giada Melis, “Pharmacogenomics of Beta-Blockers”, Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica, Università degli Studi di Sassari

Gli studi di genetica applicata alla farmacologia furono iniziati negli anni '50 da Arno Motulsky conosciuto come il padre della farmacogenomica il quale sosteneva che le reazioni ad alcuni farmaci potevano essere causate da caratteristiche genetiche¹⁹. Successivamente nel 1959 Friedrich Vogel introdusse il concetto di “farmacogenetica” intendendola come lo studio della variabilità individuale di risposta ad un farmaco dovuta a fattori genetici ereditari, negli individui o a livello di popolazione.

La farmacogenomica, è uno strumento che consente di scegliere il farmaco che su quell'individuo abbia la massima efficacia con il minor rischio di effetti collaterali, utilizzando le informazioni genetiche (in particolare quelle inerenti i polimorfismi a carico degli enzimi del metabolismo dei farmaci e dei recettori) e incrociandole con i dati clinici e di popolazione⁹.

I geni che influenzano la risposta a un farmaco possono essere:

1. Geni codificanti per proteine coinvolte nella biodisponibilità del farmaco come ad esempio trasportatori o enzimi del metabolismo (farmacocinetica)
2. Geni per il bersaglio terapeutico del farmaco come ad esempio recettori, canali ionici, proteine regolatrici, enzimi, etc (farmacodinamica)

Tali geni nell'ambito della popolazione possono essere polimorfici, cioè presentare varianti alleliche, dovute a inserzioni, delezioni, amplificazioni, traslocazioni, sostituzioni di basi (polimorfismi a singoli nucleotidi SNPs) o variazioni nel numero dei tandem repeats. In particolare, si definisce polimorfico un gene che si presenta in diverse varianti con una frequenza che è superiore a quella del tasso di mutazione spontanea.

Tali polimorfismi genici, presenti nell'1% della popolazione possono, nell'ambito della farmacogenomica, dar luogo a prodotti (enzimi, recettori, etc) con diversa attività metabolica o con diversa affinità per il farmaco. La

variabilità genica può riguardare non solo un singolo nucleotide (SNP), ma anche diversi nucleotidi o addirittura ampi tratti di DNA.

1.3 La farmacogenomica dell'ipertensione

La variabilità di risposta al trattamento anti-ipertensivo è stata osservata da molto tempo^{20,21}. Considerati gli alti costi di gestione e la mortalità correlata all'ipertensione arteriosa, come già sottolineato precedentemente, la ricerca sta rivolgendosi a studi di farmacogenomica che consentano di individualizzare la terapia farmacologica (la terapia giusta al paziente giusto). Allo stato attuale i farmaci anti-ipertensivi studiati prevalentemente con studi di farmacogenomica sono gli inibitori dell'enzima convertente l'angiotensina (ACE-inibitori), i diuretici tiazidici, i sartani e i beta bloccanti.

1.4 Gli ACE-inibitori

Il meccanismo di questi farmaci è determinato dall'inibizione dell'enzima di conversione dell'Angiotensina I nella sua forma attiva (Angiotensina II). L'angiotensina II, esplica numerosi effetti che si traducono in un incremento della pressione arteriosa:

- a. determina effetto vasocostrittore sulla muscolatura liscia vascolare
- b. modula la liberazione di noradrenalina con conseguente azione vasocostrittrice da stimolazione adrenergica
- c. stimola la proliferazione vasale delle cellule lisce muscolari
- d. attiva la sintesi di aldosterone dalla corticale del surrene
- e. stimola il rilascio di vasopressina dall'ipotalamo
- f. favorisce il riassorbimento tubulare di sodio con conseguente incremento volumico

L'ACE è coinvolto anche nel meccanismo di degradazione della bradichinina, la quale possiede attività vasodilatatrice secondaria a interazione con i recettori B2 endoteliali. Una sua inibizione comporta quindi un incremento dei livelli di bradichinina e una conseguente azione anti-ipertensiva.

Sono stati ricercati polimorfismi riguardanti il sistema renina-angiotensina-aldosterone allo scopo di trovare marcatori genici della risposta agli ACE-inibitori. I polimorfismi ricercati riguardano l'ACE, l'angiotensinogeno e il recettore dell'angiotensina. Lo studio dei polimorfismi riguardanti l'ACE I/D consistenti nella inserzione o delezione di alcune paia di basi nel gene ACE hanno portato a conclusioni contrastanti. La delezione dell'allele D è stata associata ad un incremento dei livelli sierici dell'enzima²², ma la frequenza dell'allele D è simile nei pazienti ipertesi che normotesi²³; pertanto alcuni ricercatori hanno affermato che i polimorfismi del gene ACE I/D non sono associati alla pressione arteriosa e agli effetti dell'ACE inibizione²⁴. Risultati contrastanti hanno ottenuto Ueda et al. secondo i quali l'ACE I/D è predittore in misura superiore al 50% della variabilità della risposta agli ACE-inibitori (enalaprilat)²⁵.

Altri studi hanno dimostrato che la risposta al trattamento anti-ipertensivo con ACE inibitori (fosinopril) era maggiore nei soggetti portatori dell'allele DD rispetto al genotipo ID²⁶.

Hingorani et al. hanno valutato la risposta dell'ACE inibizione nel genotipo del recettore AT1R dell'angiotensina II e nel gene ACE e sono arrivati alla conclusione che questi genotipi rappresentano predittori indipendenti di pretrattamento della pressione arteriosa con apparente interazione tra questi due loci genici, ma non sono predittori della risposta all'ACE inibizione. Valutando invece, le varianti dell'allele AGT T235 si è osservato che seppure non sembri un marcatore per le variazioni della pressione arteriosa, tali polimorfismi possono contribuire alle differenze individuali nella risposta all'ACE inibizione²⁷.

1.5 Gli antagonisti del recettore per l'angiotensina II (Sartani)

Gli antagonisti del recettore per l'angiotensina II bloccano direttamente il recettore indipendentemente dalla via metabolica di formazione. Questo consente, data l'elevata specificità; di evitare l'accumulo di peptidi attivi che avviene invece con l'utilizzo degli ACE-inibitori. Il blocco del recettore esplica le azioni già elencate precedentemente, ma indipendentemente dalla loro azione sulla pressione arteriosa i sartani esercitano un effetto protettivo cardiologico (in particolare nell'insufficienza cardiaca congestizia)^{28,29}, renale (nei pazienti diabetici con albuminuria)³⁰ e cerebrale³¹.

Gli studi di farmacogenetica su questa classe di farmaci hanno mostrato risultati differenti in particolare per i polimorfismi ACE I/D^{32,33,34}, AGT A1 166T³⁵, e CYP11B2 C(-344)T^{36,16}. Tali studi non sono stati replicati³⁷.

Con lo studio SOPHIA¹⁶ che ha valutato la farmacogenomica della risposta al losartan su pazienti ipertesi mai trattati è stato individuato il gene CAMK1D come nuovo locus associato alla riduzione della pressione arteriosa ai sartani. Questo risultato è stato confermato anche dallo studio GENRES³⁸

1.6 I diuretici

I diuretici incrementano la velocità del flusso urinario e l'escrezione di sodio. In relazione a questa loro attività possono essere utilizzati per ripristinare i fluidi corporei in diverse situazioni cliniche quali ipertensione arteriosa, scompenso cardiaco, insufficienza renale, cirrosi etc.

Vi sono diverse classi di diuretici a disposizione:

- osmotici
- diuretici dell'ansa
- risparmiatori di potassio
- inibitori dell'anidrasi carbonica

- antagonisti dei recettori dei mineralcorticoidi

Tra tutti, le benzotiadiazepine (tiazidi) rappresentano ancora un trattamento di prima scelta per molti pazienti affetti da ipertensione arteriosa. Il razionale nel raccomandarli come agenti di prima scelta è legato non solo al basso costo, ma anche ai comprovati benefici nel prevenire le complicanze cardiovascolari dell'ipertensione⁵.

Il meccanismo di azione dei diuretici tiazidici è l'inibizione del trasporto di Na-Cl nel tubulo contorto distale con conseguente aumento dell'escrezione di Na e Cl. L'azione anti-ipertensiva è dovuta alla modesta riduzione della volemia plasmatica e in misura minore sembra essere dovuta a una diminuzione della reattività vascolare; anche se in realtà il meccanismo con cui questi farmaci riducono la pressione arteriosa a lungo termine, rimane ancora sconosciuto³⁷. Poiché i diuretici agiscono su diversi livelli, sono molti i geni implicati nella risposta individuale ad essi, ad esempio i polimorfismi ADD1 Gly460Trp e ACE I/D e A1166C del AGTR1, tutti associati ad una migliore risposta pressoria.

In uno studio effettuato nel nostro centro, abbiamo trovato due loci associati con la risposta pressoria sistolica al trattamento con idroclorotiazide: TET2 un mediatore aldosterone-responsivo della trascrizione del gene α ENaC e CSMD1 correlato all'ipertensione arteriosa¹⁷.

1.7 I beta bloccanti

I beta bloccanti sono una classe di farmaci antagonisti dei recettori beta-adrenergici, ampiamente utilizzati nel trattamento dell'ipertensione arteriosa.

I recettori beta-adrenergici sono associati a proteine Gs in grado di attivare l'enzima di membrana adenil-ciclastasi, responsabile a sua volta della sintesi di AMPc a partire da ATP. L'AMPc è in grado di attivare una serie di enzimi tra cui la protein-chinasi A (PKA). La PKA, grazie alla sua attività enzimatica,

Giada Melis, "Pharmacogenomics of Beta-Blockers", Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica, Università degli Studi di Sassari

determina un incremento del Calcio sarcoplasmatico aumentando il suo ingresso dall'ambiente extracellulare e dal reticolo sarcoplasmatico attraverso le proteine canale di membrana. Questo determina un incremento della forza di contrazione muscolare miocardica e un aumento dell'automatismo cardiaco.

Sulla base della loro attività farmacodinamica i beta- bloccanti vengono suddivisi in :

- antagonisti competitivi, i quali determinano l'inattivazione del recettore neutralizzando l'azione delle catecolamine
- agonisti parziali, i quali inducono l'attivazione del recettore mimando in parte gli effetti delle catecolamine, svolgono, cioè attività simpatico-mimetica intrinseca.

Comprendono molecole selettive e non selettive.

Gli effetti farmacologici legati all'azione dei beta-bloccanti sono i seguenti:

- a livello cardiaco: diminuzione della contrattilità miocardica e della frequenza cardiaca e rallentamento della conduzione atrio-ventricolare.
- a livello respiratorio: broncocostrizione in soggetti suscettibili a causa del blocco del recettore beta2 (ad es. BPCO, asma)
- a livello renale: bloccando il recettore beta1 inibiscono il rilascio di renina determinando il blocco del sistema renina-angiotensina-aldosterone (effetto antipertensivo)
- a livello vascolare: i betabloccanti non selettivi privi di attività simpatico-mimetica intrinseca, provocano vasocostrizione e aumento delle resistenze periferiche; i betabloccanti selettivi con attività simpatico-mimetica intrinseca e azione vasodilatatrice, vengono utilizzati efficacemente nel controllo dell'ipertensione arteriosa per la loro azione sui vasi arteriosi. L'attività simpaticomimetica intrinseca, infatti, rappresenta la capacità del beta-bloccante di indurre attivazione del recettore beta-adrenergico agendo come agonista debole mimando

gli effetti del tono simpatico; in questo modo determina minore bradicardia, minore riduzione della perfusione periferica e del broncospasmo.

Nonostante i beta bloccanti esercitano i loro effetti anti-ipertensivi inibendo questi percorsi, c'è una variabilità nella risposta individuale di beta-blocco per età e razza³⁹ che ha portato negli ultimi anni a ricercare una eziologia genetica di tale variabilità. Diversi polimorfismi genetici possono influenzare la risposta anti-ipertensiva ai beta bloccanti: recettore β_1 adrenergico (Gly389Arg, Ser49Gly), subunità α della proteina Gs (GNAS FokI+/FokI-), subunità β_3 della proteina G, (GNB3 C825T), enzima convertente angiotensina (ACE I/D), e angiotensinogeno (Met235Thr, G-6A, Thr174Met)⁴⁰.

Il polimorfismo Gly389Arg è stato associato ad un incremento dell'attività adenil ciclasi con un possibile aumento della sensibilità alla stimolazione adrenergica. Gli omozigoti Arg/Arg hanno mostrato una riduzione della pressione arteriosa sistolica e della pressione arteriosa media dopo trattamento con atenololo⁴¹ e della pressione arteriosa sistolica dopo trattamento con metoprololo⁴² rispetto agli omozigoti Gly/Gly. Risultati contrastanti si sono avuti con uno studio successivo effettuato nel nostro centro nel quale non si è osservata nessuna associazione tra il polimorfismo Gly389Arg e il calo pressorio dopo trattamento con atenololo⁴³.

Secondo Jia et al. i polimorfismi nell'esone della subunità α della proteina Gs possono presentare o meno un sito di restrizione per l'endonucleasi FokI⁴⁴. È stata trovata una forte associazione tra le variazioni di pressione arteriosa sistolica (SBP) e FokI; in particolare l'allele FokI (+) sembrerebbe più comune nei pazienti good responders e l'allele FokI (-) nei pazienti che mostrano meno risposta alla terapia.

Questo dato non è stato confermato da Filigheddu et al. nel nostro centro dove non si è trovata nessuna associazione tra le varianti geniche della subunità α

Giada Melis, "Pharmacogenomics of Beta-Blockers", Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica, Università degli Studi di Sassari

della proteina Gs e la risposta pressoria al beta-bloccante. E' stata invece osservata una migliore risposta all'atenololo nei pazienti che presentavano il polimorfismo C825T della subunità b3 della proteina G (GNB3 C825T), ma solo nel sesso femminile^{45,46}. La variante C/C del genotipo è stata inoltre associata ad una migliore riduzione pressoria sia diastolica che sistolica, rispetto alle varianti TT o alle eterozigoti⁴⁶.

Nello studio SILVHIA è stata cercata la correlazione tra i polimorfismi dei geni RAAS e la risposta pressoria ad atenololo o irbesartan. E' stata trovata una riduzione pressoria dopo trattamento con atenololo nei pazienti che presentavano polimorfismi dell'angiotensinogeno, in particolare in quelli che presentavano l'allele T/T o M/T nel codone 235 (M235T) rispetto agli omozigoti per l'allele M⁴⁷. Questa aumentata risposta pressoria al beta bloccante sembrerebbe mediata dal sistema nervoso simpatico attivato da aumentati livelli circolanti di angiotensinogeno che sono aumentati dell'11% negli omozigoti T/T e del 7% negli eterozigoti T/M. I soggetti con allele T/T e T/M presentano inoltre un rischio aumentato di ipertensione arteriosa rispettivamente del 31% e del 11%, per cui l'allele T nei caucasici si comporta come un possibile marcatore per l'ipertensione arteriosa⁴⁸. Un altro studio non ha confermato tale dato sostenendo che non vi è nessuna correlazione tra il polimorfismo M235T e la risposta ai beta-bloccanti e che la differente risposta alla terapia anti-ipertensiva non può essere attribuita a tali polimorfismi analizzati⁴⁹.

2. LO STUDIO

Lo studio sulla farmacogenomica dei beta-bloccanti è stato condotto presso il Centro Ipertensione e Malattie correlate dell'Università degli Studi di Sassari dove il nostro gruppo di lavoro ha provveduto all'arruolamento dei pazienti, alla raccolta dei campioni, all'estrazione del DNA genomico ed alla misurazione dei fenotipi intermedi metabolici, cardiovascolari e generali, alla confezione e "congelamento" del database fenotipico ai fini di analisi statistica. Data la notevole mole dei dati genetici e fenotipici si è reso necessario procedere all'analisi statistica mediante sistemi complessi di computer: questa procedura è stata quindi svolta in collaborazione con il Prof. Daniele Cusi e con la Dr.ssa E. Salvi presso la Fondazione Filarete, Università di Milano presso la quale sono anche stati genotipizzati i pazienti mediante procedura GWAS su piattaforma Illumina.

Alla prima visita ogni paziente che rientrava nei criteri di inclusione ha ricevuto un modulo di consenso informato scritto con tutte le informazioni riguardanti lo studio e un secondo modulo di consenso informato scritto con autorizzazione per l'analisi del DNA. Il consenso informato è stato verbalmente spiegato al paziente prima della firma.

Come anticipavamo, la genotipizzazione, l'imputazione e le analisi di associazione genotipo-fenotipo sono state effettuate in collaborazione con la Fondazione Filarete, Università di Milano.

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'ASL n.1 di Sassari.

Ogni fase dello studio è stata eseguita in accordo con la dichiarazione di Helsinki e in aderenza alle linee guida internazionali attualmente disponibili sulla diagnosi e il trattamento dell'ipertensione arteriosa.

2 MATERIALI E METODI

L'arruolamento ha interessato 527 pazienti caucasici che presentavano ipertensione arteriosa essenziale mai trattata con valori di SBP ≥ 140 e/o DBP ≥ 90 mmHg alla prima visita (week -8). Sono stati reclutati solo pazienti asintomatici che presentavano una ipertensione arteriosa di grado lieve-moderata. L'assenza di malattia sistemica è stato considerato un requisito fondamentale per l'eligibilità dei pazienti allo studio.

La pressione arteriosa è stata misurata mediante dispositivi elettronici automatici al mattino (ore 8-10), in posizione seduta e all'arto superiore dominante in una stanza tranquilla e dalla stessa operatrice sanitaria. Sono state ottenute tre misurazioni e la media dei tre valori è stato usato come valore di riferimento.

I pazienti che presentavano valori di SBP ≥ 180 mmHg o di DBP ≥ 120 mmHg, sintomi correlati all'ipertensione arteriosa, Potassio plasmatico ≤ 3.5 mEq/L o frequenza cardiaca ≤ 50 bpm sono stati esclusi dallo studio. Inoltre, per evitare l'interferenza degli effetti di precedenti trattamenti che possono durare fino a sei mesi dopo la sospensione del farmaco, solo pazienti ipertesi mai trattati sono stati arruolati nello studio.

Nel periodo di run-in di 8 settimane il paziente ha seguito un regime alimentare controllato (sodio 100-140 mEq / giorno e di potassio 50-70 mEq / die), ed è stata eseguita una valutazione clinico-laboratoristica per confermare la presenza di ipertensione arteriosa ed escludere forme secondarie di ipertensione. Durante il periodo di run-in, 92 pazienti sono stati esclusi dallo studio o per spontanea normalizzazione della pressione (n = 81) o per il peggioramento dei valori pressori che ha richiesto un trattamento immediato (n = 11).

Alla settimana 0, è stato eseguito un esame fisico completo, un elettrocardiogramma ed è stato prelevato un campione di sangue per gli esami ematochimici e per l'estrazione del DNA.

Abbiamo misurato l'attività della renina plasmatica (PRA) con anticorpo policlonale anti-angiotensina I (gentilmente fornito dal Hypertension and Cardiovascular Centre, Cornell University Medical College, New York, NY, Stati Uniti d'America) e l'aldosterone plasmatico è stato misurato con kit commerciali di alta qualità (ALDOCTK-2 -. DiaSorin Inc., Saluggia, Italia) è stato effettuato un ecocardiogramma per la misurazione della massa cardiaca.

Alla settimana 0, 435 pazienti hanno iniziato il trattamento con 50 mg di atenololo due volte al giorno per 4 settimane. Nel periodo di trattamento farmacologico è stata monitorata sia la pressione arteriosa che eventuali effetti collaterali.

3.1 Genotipizzazione e imputazione

Il DNA genomico è stato estratto da sangue periferico raccolto alla settimana 0 (Kit Macherey-Nagel: NucleoSpin Sangue XL, Düren, Germania). Ottantadue pazienti sono stati genotipizzati utilizzando la matrice Illumina Human1M-Duo (Illumina Inc, San Diego, CA, USA) nell'ambito del progetto HYPERGENES e 353 utilizzando l'array Illumina OmniExpress umana nell'ambito del progetto InterOmics (<http://www.interomics.eu/>). L'imputazione è stata effettuata utilizzando Minimac e i 1000 Genomes haplotypes come riferimento (versione marzo 2012). I polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) con bassa qualità di imputazione ($R_{sq} < 0,8$) non sono stati utilizzati per l'analisi d'associazione.

2.7 Analisi statistiche

Come fenotipo abbiamo analizzato le variazioni della pressione arteriosa sistolica e diastolica (SBP, DBP) e della frequenza cardiaca (HR) dopo 4 settimane di trattamento (Δ SBP4, Δ DBP4 e HR4), definito come la differenza tra la BP o l'HR alla fine del trattamento (settimana 4) e la BP o HR al termine del periodo di run-in (week0).

Il controllo di qualità è stata effettuato in base al protocollo di Anderson CA e colleghi che consente di individuare e rimuovere campioni di DNA e marcatori che introducono distorsioni allo studio. Sempre secondo protocollo di Anderson, gli SNP misurati con call rate > 99% e la frequenza dell'allele minore > 1% sono stati inclusi nel dataset⁵⁰.

Dopo controllo di qualità abbiamo escluso 32 pazienti:

- 2 perché erano duplicati,
- 5 per call rate <0.95,
- 8 con sex mismatch (differenza tra il genere riportato nel database dello studio e quello rilevato alla genotipizzazione),
- 10 outliers (soggetti che superavano la media del campione di almeno 6 deviazioni standard per ognuna delle componenti principali),
- 3 imparentati di 2° grado, 3 imparentati di 1° grado
- un paziente perché effettuava il trattamento anti-ipertensivo non in monoterapia.

Il campione finale è risultato composto da 403 pazienti (189 maschi e 214 femmine).

Abbiamo inoltre valutato la stratificazione della popolazione con analisi delle componenti principali, utilizzando il pacchetto EIGENSOFT (versione 3.0)⁵¹(Figura.1).

Per valutare l'associazione genotipo/fenotipo abbiamo eseguito 3 regressioni lineari sotto un modello additivo:

Giada Melis, "Pharmacogenomics of Beta-Blockers", Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica, Università degli Studi di Sassari

1. Δ SBP4, aggiustato per sesso, età, indice di massa corporea, SBP basale, aldosterone plasmatico, HR basale, e per le componenti principali (PC);
2. Δ DBP4, aggiustato per sesso, età, indice di massa corporea, DBP basale, aldosterone plasmatico, HR basale, attività della renina plasmatica, e per le PC;
3. Δ HR4, aggiustato per sesso, età, HR basale, potassio sierico, BP basale, e per le PC.

I marcatori sono stati filtrati per la frequenza dell'allele minore (MAF <1%) e per la qualità di imputazione ($R_{sq} < 0,8$), lasciando $\approx 6,7$ milioni di marcatori.

4. RISULTATI

La tabella 1 riporta le caratteristiche del campione dello studio.

In seguito al controllo di qualità dei 435 pazienti genotipizzati, 403 pazienti e 6.710.888 SNPs erano disponibili per le analisi di associazione.

I partecipanti dello studio sono bianchi caucasici sardi 214 donne (53%) e 189 maschi (47%) con un'età media di 51.6 anni (± 11.3); la media di SBP, DBP e HR pre-trattamento sono state rispettivamente 159.3 (± 15.3), 102 (± 10.6) mmHg e 86.3 (± 13.2) bpm.

Abbiamo identificato 431 SNPs associati con il Δ SBP4 (Tabella 2). Tra questi quelli che hanno mostrato la migliore associazione sono:

- rs61193624 61193624 in bradykinin receptor B2 (BDKRB2) gene (beta -10.5 ± 2.6 , p-value 9.00×10^{-5});
- rs7871655 in retinoid X receptor, alpha (RXRA) gene (beta -4.7 ± 1.2 , p-value 5.92×10^{-5});
- rs1571784 e rs2776957 in solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y⁺ system), member 1 (SLC7A1) gene (beta -5.15 ± 1.3 , p-value 7.22×10^{-5} ; beta -6.8 ± 1.6 , p-value 2.1×10^{-5});
- rs62532730 in zinc finger DHHC-type containing 21 (ZDHHC21) gene (beta -11.3 ± 2.9 , p-value 8.13×10^{-5});
- rs1444766 in kalirin, RhoGEF kinase (KALRN) gene (beta -4.5 ± 1.1 , p-value 8.32×10^{-5});
- rs78122842 in calcium channel, voltage-dependent, beta 2 subunit (CACNB2) gene (beta $-11,8 \pm 2,8$, p-value $4,14 \times 10^{-5}$).

Abbiamo identificato 561 SNPs associati con il Δ DBP4 (Tabella 3), tra i quali quelli che hanno avuto la migliore associazione sono:

- rs2297550 in inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, kinase beta (IKBKB) gene (beta -3.9 ± 0.98 , p-value 5.9×10^{-5}),

- rs11830037 in Rap guanine nucleotide exchange factor (GEF) 3 (RAPGEF3) gene (beta -5.05 ± 1.3 , p-value 8.45×10^{-5});
- rs12247369, rs1757211 and rs78122842 in calcium channel, voltage-dependent, beta 2 subunit (CACNB2) gene (beta -3.7 ± 0.9 , p-value 4.6×10^{-5} ; beta -3 ± 0.7 , p-value 2.4×10^{-5} ; beta -8.01 ± 1.8 , p-value 1.4×10^{-5});
- rs4773185 in collagen, type IV, alpha 2 (COL4A2) gene (beta -3.9 ± 0.9 , p-value 4.1×10^{-5}),
- rs4767526 in nitric oxide synthase 1 neuronal (NOS1) gene (beta -2.7 ± 0.7 , p-value 8.61×10^{-5})

Infine, abbiamo trovato 383 SNPs associati con il Δ HR4 (Tabella 4). Quelli con la migliore associazione sono stati:

- rs1915671, rs211085, rs7898516 and rs1189310 in protein kinase, cGMP-dependent, type I (PRKG1) gene (beta -4.2 ± 0.96 , p-value 1.17×10^{-5} ; beta -3.87 ± 0.94 , p-value 4.25×10^{-5} ; beta -2.27 ± 0.56 , p-value 4.86×10^{-5} ; beta -2.98 ± 0.75 p-value 7.48×10^{-5});
- rs2054678 in nitric oxide synthase 1 neuronal (NOS1) gene (beta -2.427 ± 0.591 , p-value 4.05×10^{-5});
- rs8070120 in acid sensing (proton gated) ion channel 2 (ASIC2) gene (beta -2.74 ± 0.58 , p-value 2.31×10^{-6}).

5. DISCUSSIONE

Questo studio di farmacogenomica è stato condotto per valutare le variazioni della risposta pressoria all'atenololo in associazione con le varianti geniche riscontrate.

Abbiamo identificato diversi SNPs che mostravano una associazione significativa con il Δ SBP, Δ DBP e con il Δ HR misurato dopo 4 settimane di trattamento con il beta-bloccante. Alcuni di questi, cadevano in regioni codificanti geni che hanno mostrato una possibile correlazione con la regolazione della pressione arteriosa.

Geni associati alla risposta della pressione arteriosa sistolica alla terapia con Atenololo

BDKRB2 (bradykinin receptor B2): questo gene codifica per il recettore B2 della bradichinina. La bradichinina è un peptide formato da 9 amminoacidi a partire dal precursore chininogeno grazie all'azione enzimatica della callicreina plasmatica⁵². La funzione della bradichinina è mediata da due sottotipi di recettori: β_1 (BDKRB1) e β_2 (BDKRB2)⁵³ anche se la maggior parte dei suoi effetti fisiologici sono attribuiti al recettore B2 che risulta essere presente nei tessuti vascolari, tracheobronchiali e renali. L'attivazione della bradichinina causa broncocostrizione, vasodilatazione, reazione infiammatoria acuta, formazione dell'edema e dolore^{52,55}.

La bradichinina regola il rilascio di sostanze vasoattive come prostaglandine, ossido nitrico e fattore attivante le piastrine che causano vasodilatazione; inoltre può portare a una inibizione della proliferazione delle cellule muscolari lisce esercitando un effetto protettivo sul sistema cardiovascolare⁵⁵. Essa esercita il suo effetto anche abbassando le resistenze vascolari renali con conseguente aumento del flusso renale e dell'escrezione urinaria di sodio⁵⁶.

Giada Melis, "Pharmacogenomics of Beta-Blockers", Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica, Università degli Studi di Sassari

Un'alterazione della funzione del gene del recettore bradichinina può dunque portare a una riduzione della sua espressione con conseguente vasocostrizione e sbilancio del sistema acqua-sodio che si traduce in un incremento della pressione arteriosa.

Proprio in virtù della sua attività, il gene del recettore della bradichinina è stato studiato con grande attenzione.

Nel 1996 Braun et al. hanno sostenuto che le variazioni -58T/C nella regione del promoter del BDKRB2 correlate ad una riduzione della sua trascrizione sono associate alla patogenesi dell'ipertensione essenziale⁵⁷.

Questa associazione tra i polimorfismi del BDKRB2 e l'ipertensione arteriosa è stata riscontrata anche in una metanalisi anche se prevalentemente nei soggetti asiatici⁵⁸, mentre non è stata riscontrata nella popolazione giapponese in cui non si è trovata nessuna associazione⁵⁵.

Nel nostro studio, che coinvolge solo soggetti caucasici, abbiamo trovato un'associazione tra questo gene e i pazienti ipertesi e tra questo gene e la migliore risposta pressoria al beta-bloccante.

RXRA (retinoid X receptor, alpha gene)

Questo gene codifica per il recettore dell'acido retinoico. Alcuni studi hanno dimostrato che l'acido retinoico influenza l'attività dei geni responsabili nella patogenesi dell'ipertensione arteriosa.

Uno studio condotto da Miano et al. ha indicato che l'acido retinoico è anche in grado di intervenire nella crescita delle cellule muscolari lisce vascolari in coltura⁵⁹.

RXRA è stato trovato tra i geni coinvolti nei percorsi funzionali della vitamina D che hanno mostrato la migliore associazione con l'ipertensione arteriosa⁶⁰. La vitamina D esercita effetti reno-protettivi, soppressione del sistema renina-angiotensina-aldosterone, effetti sul metabolismo del calcio che possono interferire nella regolazione della pressione arteriosa⁶¹.

Giada Melis, "Pharmacogenomics of Beta-Blockers", Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica, Università degli Studi di Sassari

RXRA funziona anche da partner eterodimerico per un certo numero di recettori nucleari. PPAR γ per essere funzionalmente attivo deve essere legato al recettore per l'acido retinoico RXR. Gli eterodimeri PPAR/RXR possono essere attivati da ligandi per RXR (retinoidi) che esprimono alcune delle stesse proprietà insulino-sensibilizzanti dei ligandi per PPAR ed è possibile che i derivati retinoidi siano in grado pertanto di modificare i fattori di rischio cardiovascolari osservati in pazienti con ipertensione essenziale. PPAR (recettori attivati dai proliferatori perossisomiali) una volta attivato può determinare cambiamenti nell'attività trascrizionale degli elementi della risposta dei PPAR⁶². Ad esempio è stato dimostrato che PPAR può modulare in vitro la produzione di peptidi vasoattivi come l'endotelina⁶³. I recettori per le endoteline sono presenti sia a livello delle cellule muscolari lisce vascolari che sull'endotelio e svolgono quindi un ruolo fondamentale nella regolazione della pressione arteriosa.

SLC7A1 (solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 1 gene).

Codifica per una proteina con attività trasportatrice transmembrana dell'arginina. L'arginina funge da substrato per l'ossido nitrico sintasi (eNOS) indispensabile per la produzione dell'ossido nitrico importante vasodilatatore endoteliale. I polimorfismi interessanti questo gene possono dunque alterare la produzione di ossido nitrico e portare a ipertensione arteriosa^{64,65}. E' stata osservata anche una down-regulation dell'espressione di SLC7A1 e conseguente riduzione della biodisponibilità di ossido nitrico nei pazienti obesi che può portare a ipertensione arteriosa in questa classe di soggetti a rischio⁶⁶.

ZDHHC21(zinc finger DHHC-type containing 21 gene)

È un gene che codifica per una proteina con attività palmitoiltransferasi. La palmitoilazione può influenzare la localizzazione, il trasporto, la stabilità e la funzione delle proteine⁶⁷. In uno studio di Liu et al. è stato trovato che l'ossido nitrico sintasi endoteliale (eNOS) è palmitoilato a due cisteine nell'ammino-terminale⁶⁸. eNOS può essere palmitoilato da enzimi ZDHHC localizzati nel Golgi. L'inibizione di DHHC21 palmitoiltransferasi nelle cellule endoteliali riduce la palmitoilazione di eNOS, e altera la produzione di ossido nitrico modulando la pressione arteriosa⁶⁹.

KALRN (kalirin, RhoGEF kinase gene).

Codifica per un fattore di scambio guanina nucleotide che attiva proteine Rho ed è coinvolto quindi in proteine multifunzione⁷⁰. Svolge un ruolo neuroprotettivo inibendo l'attività dell'ossido nitrico sintasi inducibile⁷¹.

I polimorfismi di KARLN sono stati correlati alle malattie cardiovascolari in particolare nella patogenesi della malattia coronarica e dell'aterosclerosi vascolare⁷².

La funzione di KARLN nello sviluppo dell'aterosclerosi non è stata ancora totalmente chiarita. L'attivazione di Rho GTPasi da parte della kalirina è coinvolto nell'attività delle cellule di segnale Rac1 e Rho A che potrebbero svolgere un ruolo nella regolazione, proliferazione e adesione delle cellule muscolari lisce. Variazioni in KARLN potrebbero dunque portare a disfunzione endoteliale e aterosclerosi⁷⁰.

CACNB2 (calcium channel, voltage-dependent, beta 2 subunit gene)

Questo gene è stato associato sia ad un decremento della pressione arteriosa sistolica che diastolica. Codifica per una subunità di una proteina canale del calcio voltaggio-dipendente. La subunità beta-2 interagisce con i canali alfa-1 del calcio (CaV1.2) aumentando la corrente di picco del calcio, spostando il

Giada Melis, "Pharmacogenomics of Beta-Blockers", Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica, Università degli Studi di Sassari

voltaggio di attivazione e inattivazione e modulando l'inibizione delle proteine G^{73,74}. Sulla base di questo ruolo fisiologico CACNB2 può contenere una variabilità importante di risposta ai farmaci anti-ipertensivi, in particolare calcio antagonisti e beta-bloccanti⁷³. Precedenti studi di associazione (GWAS) hanno identificato *CACNB2* come uno dei geni associati alla pressione arteriosa sistolica e diastolica e all'ipertensione arteriosa^{74,75,76,77}. Questo supporta ancora di più l'ipotesi che esso sia implicato anche nella variabilità di risposta ai farmaci anti-ipertensivi.

Geni associati alla risposta della pressione arteriosa diastolica alla terapia con Atenololo

IKBKB (inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, kinase beta gene)

Questo gene svolge una funzione di fosforilazione delle molecole IκB, gli inibitori di fattori di trascrizione NF-κB. L'attività chinasi di IKKβ mira due residui di serina adiacenti di IκB che portano alla degradazione del proteasoma dell'inibitore, seguita dal rilascio e l'attivazione di NF-κB. I fattori di trascrizione della famiglia di proteine NF-κB svolgono funzioni nella regolazione del sistema immunitario, la differenziazione, la proliferazione e l'apoptosi cellulare, nonché angiogenesi e infiammazione^{78,79}. Questo gene sembra essere implicato nell'infiammazione e nell'ambito del Framingham Heart Study è stato identificato tra i geni associati con la pressione arteriosa diastolica⁷⁹.

RAPGEF3 (Rap guanine nucleotide exchange factor (GEF) 3gene)

Questo gene viene anche conosciuto come Epac1 (exchange protein directly activated by cAMP), appartiene ad una famiglia di fattori di scambio guanine nucleotide ed è anche un importante effettore del cAMP⁸⁰. L'cAMP

Giada Melis, "Pharmacogenomics of Beta-Blockers", Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica, Università degli Studi di Sassari

rappresenta uno dei più importanti secondi messaggeri del cuore che regolano numerosi processi come contrattilità, rilassamento e automaticità cardiaca^{81,82}. Epac svolge funzione anche nella regolazione dell'omeostasi cardiaca del calcio e nello sviluppo di ipertrofia miocardica⁸³. Le variazioni di Ca²⁺ attivano la contrazione delle cellule cardiache^{82,84,85}.

I messaggeri intracellulari cAMP e cGMP sono giocatori importanti nella modulazione del tono muscolare liscio, possono ridurre sensibilità al Ca²⁺ + delle proteine contrattili, con conseguente rilassamento (Ca²⁺ + desensibilizzazione) per down-regulation dell'attività RhoA⁸⁶.

Inoltre, nelle cellule endoteliali e nei neuroni, un aumento Rap1-GTP dopo l'attivazione cAMP dell'EPAC attraverso un meccanismo sconosciuto porta ad una diminuzione della RhoA-GTP, noto a svolgere un ruolo importante in queste cellule di cui ne regolano la permeabilità e la migrazione rispettivamente. La regolazione della permeabilità vascolare è indispensabile per mantenere l'integrità vascolare nell'omeostasi dell'organismo^{87,88}.

COL4A2 (collagen, type IV, alpha 2 gene)

Questo gene codifica per una delle sei subunità del collagene di tipo IV, il principale componente strutturale delle membrane basali. La porzione C-terminale della proteina, nota come canstatina, è un inibitore dell'angiogenesi e della crescita tumorale. Mutazioni di COL4A2 sono un importante fattore di rischio per malattie come ad esempio la malattia dei piccoli vasi con penetranza ridotta e fenotipo variabile⁸⁹. Attualmente non esistono in base alla nostra ricerca bibliografica correlazioni di questo gene con l'ipertensione arteriosa.

NOS1 (nitric oxide synthase 1 neuronal gene)

Questo gene è stato trovato come associato anche ad un delta riguardante la frequenza cardiaca oltre alla pressione arteriosa diastolica.

Giada Melis, "Pharmacogenomics of Beta-Blockers", Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica, Università degli Studi di Sassari

La proteina codificata da questo gene appartiene alla famiglia di ossido nitrico sintasi, che sintetizzano ossido nitrico da L-arginina. NO è sintetizzato da specifici enzimi NO sintetasi (NOS), con tre isoforme distinte: neuronale NOS (nNOS, codificata dal gene NOS1), NOS inducibile (iNOS; gene NOS2) e endoteliale NOS (eNOS; NOS3 gene). Vi è una associazione tra NOS 1 e ipertensione e malattie cardiovascolari⁹⁰. Esso modula anche la ripolarizzazione cardiaca portando ad un allungamento del QT^{91,92}.

L'ossido nitrico sintasi è localizzato anche nel tubulo prossimale, nella branca ascendente del tubo di Henle, nella macula densa e nelle cellule muscolari lisce dei vasi e catalizzando la produzione di ossido nitrico svolgono un ruolo nella regolazione del sodio e dell'omeostasi dei liquidi⁹³. Nel dotto collettore l'ossido nitrico inibisce l'assorbimento di sodio mentre nella branca ascendente dell'ansa di Henle svolge un effetto inibitorio diretto sul cotrasportatore Na-K-2Cl⁹⁴. Questi studi mostrano che NOS1 è fondamentale nella regolazione della pressione arteriosa⁹⁵.

Geni associati alla risposta della frequenza cardiaca alla terapia con Atenololo

PRKG1 (cGMP-dependent, type I gene)

Codifica per una protein kinasi GMP dipendente che mostra un ruolo cruciale nel rilassamento della muscolatura liscia vascolari abbassando il livello intracellulare di calcio⁹⁶. PRKG1 è espresso in tutte le cellule vascolari e muscolari lisce, così come nelle piastrine, nel sistema nervoso centrale, e nelle cellule mesangiali renali e miofibroblasti interstiziali^{97,98,99}. PRKG1 media il rilassamento vascolare da parte dell'ossido nitrico endoteliale e dei nitrovasodilatatori correlati^{100,101}.

ASIC2 (acid sensing (proton gated) ion channel 2 gene)

Codifica per una proteina che è membro della famiglia dei canali di sodio epiteliali degenerine e svolge un ruolo nell'attivazione dei barocettori arteriosi e dei chemocettori carotidei¹⁰². I risultati definiscono ASIC2 come un fattore determinante per il controllo circolatorio autonomico e di sensibilità barorecettoriale. L'alterazione del gene ASIC2 porta ad una disautonomia che si traduce in insufficienza cardiaca e ipertensione e definisce un difetto molecolare che può essere rilevante per il loro sviluppo¹⁰³.

6. CONCLUSIONI

Il nostro studio utilizzando un approccio genome-wide (GWA) ci ha permesso di identificare diversi geni associati alla risposta pressoria all'atenololo. Tali geni sono potenziali candidati per contribuire alla modulazione dei meccanismi fisiopatologici responsabili della genesi e del mantenimento dell'ipertensione arteriosa essenziale.

Pur nei limiti concettuali di uno studio di associazione che per sua natura non permette di esprimere giudizi sulle eventuali relazioni causa-effetto fra varianti geniche e fenotipo valutato, il nostro studio ha identificato geni la cui funzione è anche indirettamente riconducibile a meccanismi di regolazione della pressione arteriosa così come alle “pathways” funzionali del farmaco in studio. I limiti dello studio risiedono essenzialmente nella limitata numerosità della coorte dovuta alla estrema difficoltà di identificare pazienti affetti da ipertensione arteriosa che non siano mai stati sottoposti a trattamento farmacologico. La presenza di quest'ultimo aumenterebbe a limiti non accettabili il “background noise” dovuto all'effetto di molecole sulle funzioni cellulari intermedie e, di conseguenza, risulterebbe interferente in modo inaccettabile con la valutazione dell'effetto fenotipico dovuto al farmaco in studio: questa interferenza, presente anche dopo diversi mesi dalla sospensione di precedenti terapie vanificherebbe la precisione della valutazione della risposta della pressione arteriosa in risposta al farmaco e di conseguenza, genererebbe associazioni genotipo-fenotipo del tutto spurie. La stessa necessità di valutare pazienti mai trattati rende difficile la ricerca di “coorti di replica” e quindi la stessa conferma del dato. La potenziale fallacità, quindi, degli studi di associazione fenotipo-genotipo può essere a nostro parere superata per mezzo di modellistica animale o “in vitro”. Il segmento genico di interesse – o i segmenti genici di interesse – vengono “transfettati” in modelli adeguati alla espressione del carattere fenotipico sotto studio.

Giada Melis, “Pharmacogenomics of Beta-Blockers”, Tesi di dottorato in Fisiopatologia Medica, Università degli Studi di Sassari

Questa metodica permette di stabilire i reali effetti fenotipici di una variante genica ed è stato adottato dal nostro gruppo di ricerca con risultati decisamente lusinghieri^{104,105}.

Characteristics	
Men/women (n=403)	189/214
Age (years)	51.6 ±11.3
BMI baseline (kg/m ²)	26.8 ± 4.08
Pretreatment SBP (mmHg)	159.3 ± 15.3
Pretreatment DBP (mmHg)	102.5 ±10.6
Pretreatment HR	86.3 ± 13.2
ΔSBP (mmHg)	-23.02±17.7
ΔDBP (mmHg)	-17.6±11.1
ΔHR (bpm)	-21.8±12.3
Serum potassium (mmol/l) n=402	4.2±0.37
Serum sodium (mmol/l) n=403	140.9±2.9
Urine sodium (mEq/24 h) n=397	144.1±35.6
Urine potassium (mEq/24 h) n=397	45.8±12.03
sPRA (ng/mL/h) n=397	1.48±0.90

Tabella 1. La tabella mostra le caratteristiche del campione (media±SD). BMI, indice di massa corporea; SBP, pressione arteriosa sistolica; DBP, pressione arteriosa diastolica; ΔSBP, differenza tra SBP alla fine del trattamento e SBP alla fine del periodo di run-in; ΔDBP differenza tra DBP alla fine del trattamento e DBP alla fine del periodo di run-in; p- value della comparazione tra i due gruppi di trattamento. Le comparazioni tra i gruppi di medie e frequenze sono state eseguite con ANOVA o con il chi-quadro test, a seconda della necessità.

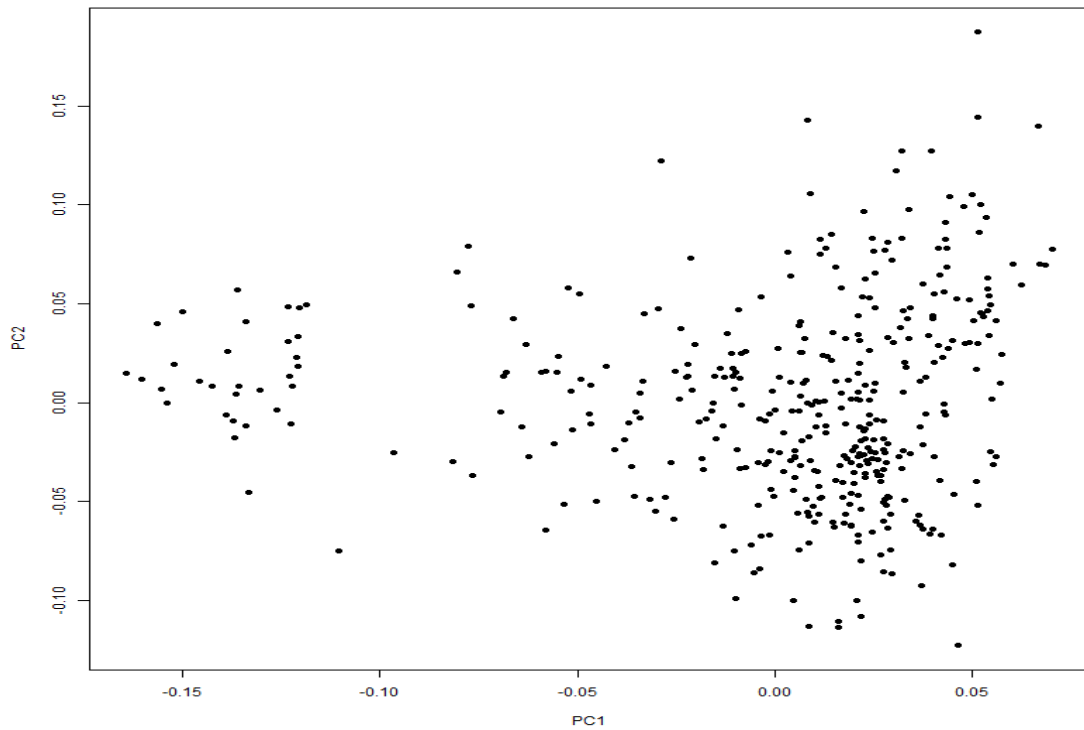


Figura 1. Plot delle componenti principali

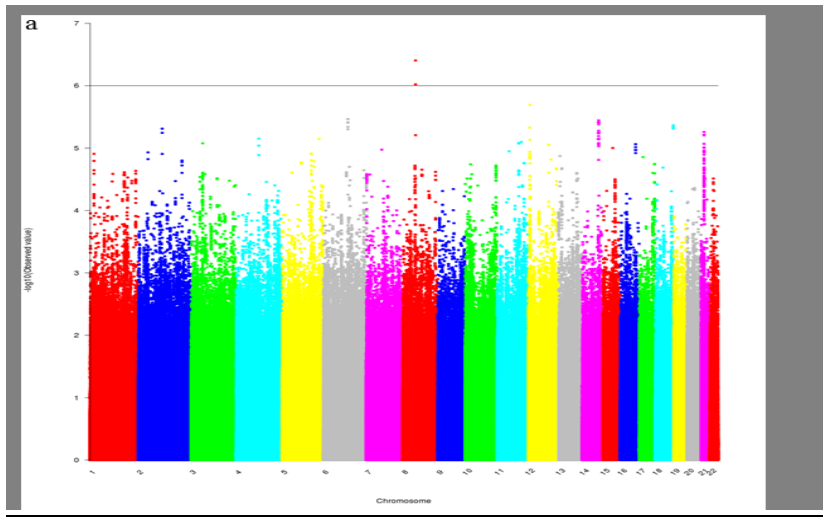


Figura 2. Manhattan plot del test statistico di regressione lineare per singolo SNP per Δ SBP4. L'analisi di regressione è stata aggiustata per sesso, età, pressione sistolica basale e componenti principali. I risultati sono riportati come $-\log_{10}$ (P value) per posizione genomica.

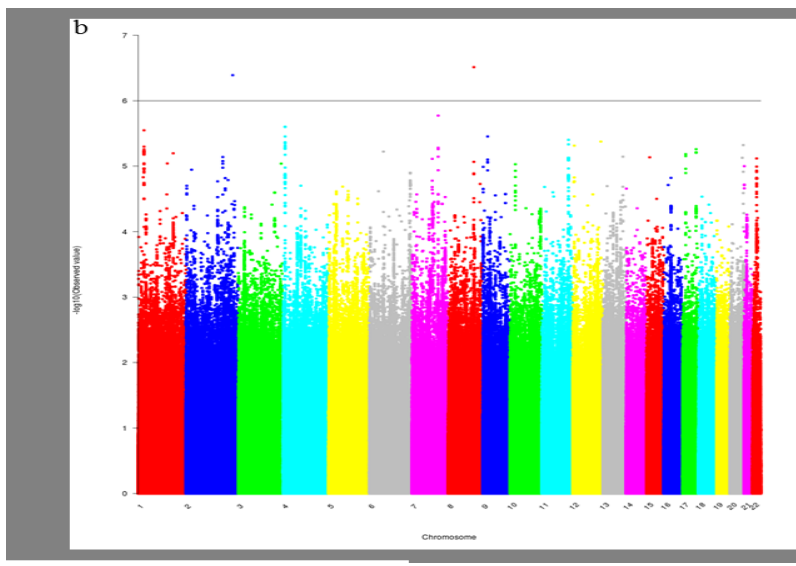


Figura 3. Manhattan plot del test statistico di regressione lineare per singolo SNP per Δ DBP4. L'analisi di regressione è stata aggiustata per sesso, età, pressione sistolica basale e componenti principali. I risultati sono riportati come $-\log_{10}$ (P value) per posizione genomica.

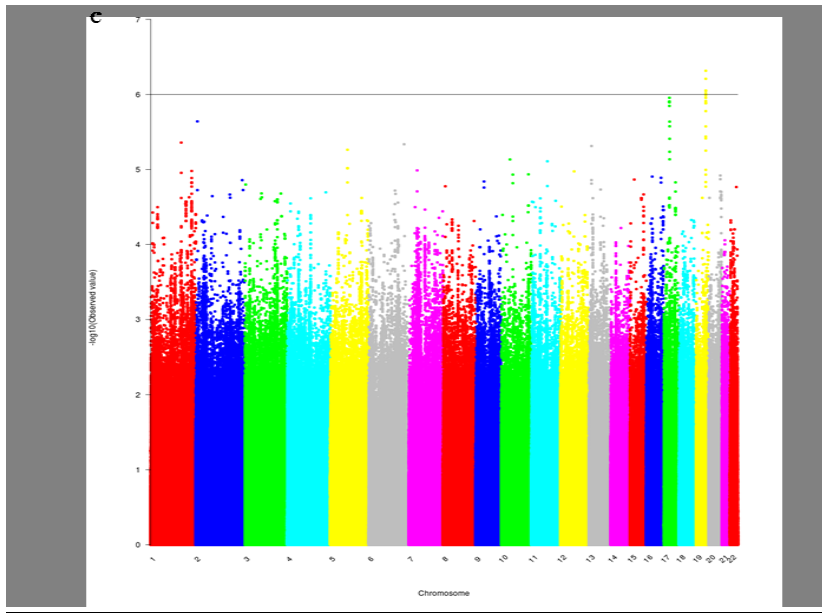


Figura 4. Manhattan plot del test statistico di regressione lineare per singolo SNP per Δ HR4. L'analisi di regressione è stata aggiustata per sesso, età, pressione sistolica basale e componenti principali. I risultati sono riportati come $-\log_{10}$ (P value) per posizione genomica.

Tabella 2. Risultati dell'associazione genome-wide per la risposta pressoria sistolica all'atenololo associate agli SNPs con P value $<10^{-5}$. Tutti gli SNPs imputati hanno una qualità di imputazione (Rsq) >0.8 . P indica i p values di associazione; SE, errore standard; Chr, cromosoma; SNP, polimorfismo a singolo nucleotide.

SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	Location
rs72653463	12	C	T	7,316	1,823	5,98E-05	ACSM4	intron_variant
rs73270518	12	A	G	7,317	1,794	4,51E-05	ACSM4	upstream_gene_variant
rs72653462	12	A	G	7,531	1,829	3,84E-05	ACSM4	upstream_gene_variant
rs80177919	12	T	C	7,71	1,98	9,89E-05	ACSM4	intron_variant
rs117811675	12	A	G	7,72	1,983	9,86E-05	ACSM4	downstream_gene_variant
rs115244343	1	T	C	13,582	3,149	1,61E-05	ACTL8	downstream_gene_variant
rs61766704	1	T	C	13,588	3,15	1,60E-05	ACTL8	downstream_gene_variant
rs13255986	8	A	T	-4,427	1,081	4,24E-05	ADAM32	nc_transcript_variant
rs10094307	8	G	T	4,36	1,079	5,28E-05	ADAM32	intron_variant
rs7830326	8	A	G	4,362	1,078	5,23E-05	ADAM32	intron_variant
rs7821199	8	G	A	4,367	1,079	5,20E-05	ADAM32	intron_variant
rs12156015	8	T	C	4,375	1,075	4,68E-05	ADAM32	nc_transcript_variant
rs10088854	8	G	A	4,411	1,066	3,48E-05	ADAM32	downstream_gene_variant
rs4273822	8	T	C	4,419	1,061	3,09E-05	ADAM32	nc_transcript_variant
rs4733986	8	G	A	4,432	1,065	3,18E-05	ADAM32	intron_variant
rs76006315	8	T	C	9,103	2,22	4,14E-05	ADAM32	intron_variant
rs10097489	8	C	T	4,442	1,093	4,81E-05	ADAM5	intron_variant
rs10087894	8	G	A	4,545	1,085	2,80E-05	ADAM5	upstream_gene_variant
rs4733997	8	T	C	4,656	1,092	2,02E-05	ADAM5	nc_transcript_variant
rs138672169	5	T	C	-7,37	1,803	4,35E-05	ARAP3	intron_variant
rs61193624	14	T	G	10,544	2,693	9,00E-05	BDKRB2	intron_variant
rs56274409	14	T	A	10,546	2,693	9,01E-05	BDKRB2	intron_variant
rs1325588	10	G	A	5,223	1,243	2,63E-05	C1orf115	intron_variant
rs78122842	10	A	G	11,838	2,888	4,14E-05	CACNB2	intron_variant
rs62074548	17	T	C	-7,95	1,99	6,45E-05	CCDC4	intron_variant
rs62074549	17	C	T	-7,921	1,988	6,75E-05	CCDC4	intron_variant
rs62074550	17	T	C	-7,897	1,986	7,01E-05	CCDC4	intron_variant
rs113698593	17	T	C	-7,887	1,986	7,14E-05	CCDC4	intron_variant
rs117320584	17	G	A	-7,883	1,987	7,24E-05	CCDC4	downstream_gene_variant
rs62074556	17	A	G	-7,851	1,97	6,73E-05	CCDC4	intron_variant
rs112872991	17	G	A	-7,843	1,983	7,63E-05	CCDC4	intron_variant
rs62074555	17	A	G	-7,802	1,978	7,98E-05	CCDC4	intron_variant
rs77018384	17	G	T	-7,799	1,98	8,17E-05	CCDC4	intron_variant
rs55959152	17	A	C	-7,777	1,978	8,43E-05	CCDC4	intron_variant
rs80207190	17	G	A	-7,754	1,975	8,62E-05	CCDC4	intron_variant
rs79065924	12	G	A	8,584	2,09	4,02E-05	CD163L1	downstream_gene_variant
rs7308628	12	A	C	8,591	2,144	6,17E-05	CD163L1	intron_variant
rs75652146	12	C	T	8,761	2,193	6,48E-05	CD163L1	intron_variant

SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	Location
rs12000504	9	C	T	-9,713	2,392	4,88E-05	CER1	downstream_gene_variant
rs6550155	3	G	A	5,19	1,253	3,45E-05	CNOT1	intron_variant
rs9832822	3	G	A	5,286	1,277	3,46E-05	CNOT1	intron_variant
rs12487175	3	G	A	5,105	1,252	4,57E-05	CNOT1-AS1	intron_variant
rs930054	5	A	C	-4,233	1,072	7,83E-05	COL23A1	intron_variant
rs2913787	5	A	G	-4,211	1,076	9,07E-05	COL23A1	intron_variant
rs7705063	5	G	C	6,192	1,584	9,24E-05	COL23A1	intron_variant
rs2162765	5	C	T	6,226	1,587	8,73E-05	COL23A1	intron_variant
rs2913766	5	T	C	6,228	1,593	9,25E-05	COL23A1	intron_variant
rs2913775	5	A	G	6,282	1,612	9,74E-05	COL23A1	intron_variant
rs2913768	5	T	C	6,31	1,614	9,27E-05	COL23A1	intron_variant
rs11948332	5	C	G	6,643	1,674	7,22E-05	COL23A1	intron_variant
rs75334796	5	G	T	6,718	1,699	7,71E-05	COL23A1	intron_variant
rs17081072	5	C	T	6,744	1,705	7,63E-05	COL23A1	intron_variant
rs62389360	5	G	C	6,85	1,674	4,29E-05	COL23A1	intron_variant
rs749424	5	C	A	6,881	1,677	4,05E-05	COL23A1	intron_variant
rs4976759	5	G	C	7,083	1,726	4,07E-05	COL23A1	intron_variant
rs6754190	2	C	T	6,556	1,496	1,17E-05	CYP1B1-AS1	intron_variant
rs12475224	2	G	C	6,741	1,558	1,51E-05	CYP1B1-AS1	nc_transcript_variant
rs141002508	17	A	T	7,097	1,797	7,82E-05	FAM14A	intron_variant
rs4462528	14	C	T	10,446	2,304	5,80E-06	FAM35CP	downstream_gene_variant
rs3850378	14	C	T	10,492	2,36	8,79E-06	FAM35CP	upstream_gene_variant
rs75513915	5	T	C	-8,556	2,005	1,98E-05	FCHSD1	upstream_gene_variant
rs13359221	5	A	G	-8,04	1,865	1,63E-05	FCHSD1	upstream_gene_variant
rs3135772	10	T	C	-4,933	1,264	9,53E-05	FGFR2	intron_variant
rs10129418	14	C	T	9,522	2,203	1,55E-05	GALC	intron_variant
rs55808324	14	A	G	9,817	2,215	9,35E-06	GALC	intron_variant
rs8014798	14	A	C	10,296	2,294	7,15E-06	GALC	intron_variant
rs10138763	14	C	A	10,296	2,294	7,15E-06	GALC	intron_variant
rs28587714	14	A	G	10,313	2,241	4,17E-06	GALC	upstream_gene_variant
rs60617687	14	G	T	10,352	2,281	5,67E-06	GALC	intron_variant
rs73312821	14	C	G	10,829	2,345	3,88E-06	GALC	NMD_transcript_variant
rs17123957	14	G	A	11,854	2,661	8,41E-06	GALC	upstream_gene_variant
rs75542709	14	G	A	13,392	2,968	6,43E-06	GALC	intron_variant
rs275739	15	C	T	11,477	2,92	8,49E-05	GPR176	nc_transcript_variant
rs28667727	14	C	T	10,296	2,293	7,15E-06	GPR65	upstream_gene_variant
rs73312867	14	C	A	10,894	2,351	3,59E-06	GPR65	upstream_gene_variant
rs36072806	4	C	T	-5,87	1,307	7,06E-06	GRID2	intron_variant
rs13117925	4	G	A	-5,82	1,312	9,13E-06	GRID2	intron_variant
rs28409430	4	A	G	-5,417	1,242	1,29E-05	GRID2	intron_variant

SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	Location
rs1444766	3	G	A	-4,525	1,15	8,32E-05	KALRN	intron_variant
rs12079084	1	A	T	11,558	2,895	6,55E-05	KIAA1614	intron_variant
rs12091773	1	T	C	11,563	2,898	6,60E-05	KIAA1614	intron_variant
rs61809171	1	G	A	12,077	3,039	7,08E-05	KIAA1614	intron_variant
rs11624293	14	C	T	10,849	2,382	5,27E-06	LINC1146	upstream_gene_variant
rs7926717	11	T	G	5,494	1,375	6,46E-05	MPZL2	downstream_gene_variant
rs113423097	1	A	G	9,66	2,412	6,22E-05	PLEKHA6	intron_variant
rs7324113	13	T	C	4,092	1,031	7,26E-05	RN7SL164P	upstream_gene_variant
rs7162401	15	C	T	4,395	1,126	9,49E-05	RNU6-38P	upstream_gene_variant
rs8006352	14	T	G	10,296	2,294	7,15E-06	RNU6-835P	upstream_gene_variant
rs8007233	14	A	G	10,296	2,294	7,15E-06	RNU6-835P	upstream_gene_variant
rs10220572	14	G	C	10,296	2,293	7,15E-06	RNU6-835P	upstream_gene_variant
rs7140285	14	T	C	11,872	2,664	8,35E-06	RNU6-835P	upstream_gene_variant
rs62244495	3	G	A	-5,18	1,264	4,19E-05	RPS24P8	upstream_gene_variant
rs62244476	3	T	A	-5,177	1,264	4,23E-05	RPS24P8	upstream_gene_variant
rs62244477	3	T	G	-5,176	1,264	4,24E-05	RPS24P8	upstream_gene_variant
rs62244494	3	T	C	-5,174	1,264	4,23E-05	RPS24P8	upstream_gene_variant
rs62244493	3	A	G	-5,171	1,263	4,26E-05	RPS24P8	upstream_gene_variant
rs75957420	3	A	G	-5,163	1,264	4,42E-05	RPS24P8	upstream_gene_variant
rs17401898	8	A	C	4,686	1,171	6,31E-05	RSPO2	intron_variant
rs17310810	8	T	C	4,694	1,172	6,22E-05	RSPO2	intron_variant
rs17310887	8	C	G	4,698	1,173	6,20E-05	RSPO2	intron_variant
rs966377	8	G	A	4,704	1,173	6,10E-05	RSPO2	intron_variant
rs4734165	8	A	C	4,726	1,175	5,73E-05	RSPO2	intron_variant
rs4735022	8	A	G	4,746	1,178	5,61E-05	RSPO2	intron_variant
rs7871655	9	C	G	4,781	1,19	5,92E-05	RXRA	nc_transcript_variant
rs1571784	13	G	A	5,154	1,299	7,22E-05	SLC7A1	3_prime_UTR_variant
rs6490409	13	G	A	6,501	1,647	7,92E-05	SLC7A1	intron_variant
rs2802249	13	G	A	6,508	1,645	7,62E-05	SLC7A1	intron_variant
rs2150690	13	A	G	6,547	1,668	8,71E-05	SLC7A1	intron_variant
rs2802248	13	C	A	6,547	1,668	8,68E-05	SLC7A1	downstream_gene_variant
rs2776963	13	C	T	6,547	1,668	8,68E-05	SLC7A1	downstream_gene_variant
rs2150693	13	C	G	6,547	1,668	8,69E-05	SLC7A1	downstream_gene_variant
rs2150692	13	C	A	6,547	1,668	8,69E-05	SLC7A1	downstream_gene_variant
rs1018679	13	G	A	6,548	1,668	8,65E-05	SLC7A1	intron_variant
rs1018682	13	G	A	6,549	1,666	8,49E-05	SLC7A1	intron_variant

SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	Location
rs2150688	13	T	C	6,567	1,672	8,57E-05	SLC7A1	intron_variant
rs3783260	13	T	C	6,645	1,653	5,82E-05	SLC7A1	intron_variant
rs3783262	13	A	T	6,645	1,653	5,81E-05	SLC7A1	intron_variant
rs1411928	13	A	G	6,788	1,598	2,17E-05	SLC7A1	intron_variant
rs2776957	13	C	T	6,802	1,599	2,11E-05	SLC7A1	upstream_gene_variant
rs2776959	13	C	T	6,811	1,603	2,14E-05	SLC7A1	intron_variant
rs4867905	5	T	C	4,445	1,138	9,43E-05	SLIT3	intron_variant
rs75043545	22	A	G	7,5	1,82	3,76E-05	SYN3	upstream_gene_variant
rs2027845	22	C	T	8,862	2,272	9,58E-05	SYN3	intron_variant
rs2027846	22	A	C	8,864	2,271	9,51E-05	SYN3	intron_variant
rs76099980	22	G	T	8,867	2,278	9,94E-05	SYN3	intron_variant
rs75409784	22	C	T	8,962	2,301	9,86E-05	SYN3	intron_variant
rs56103417	22	C	A	8,965	2,297	9,49E-05	SYN3	intron_variant
rs7291280	22	T	C	8,985	2,304	9,65E-05	SYN3	intron_variant
rs57040275	22	A	G	8,992	2,3	9,27E-05	SYN3	intron_variant
rs186235520	22	T	C	9,024	2,31	9,37E-05	SYN3	intron_variant
rs73881944	22	C	T	9,634	2,423	7,02E-05	SYN3	intron_variant
rs62532730	9	G	A	-11,363	2,883	8,13E-05	ZDHHC21	intron_variant
rs62532732	9	A	G	-11,359	2,882	8,10E-05	ZDHHC21	intron_variant
rs59586608	7	A	C	4,864	1,25	9,96E-05	ZNF84B	intron_variant
rs62463576	7	A	C	4,867	1,25	9,89E-05	ZNF84B	intron_variant
rs4637735	7	T	C	4,934	1,258	8,77E-05	ZNF84B	intron_variant
rs17309234	7	T	A	4,971	1,242	6,26E-05	ZNF84B	intron_variant
rs17400494	7	T	C	4,983	1,243	6,10E-05	ZNF84B	intron_variant
rs55685026	7	T	C	4,985	1,24	5,83E-05	ZNF84B	intron_variant
rs59620978	7	C	T	4,985	1,24	5,83E-05	ZNF84B	intron_variant

Tabella 3. Risultati dell'associazione genome-wide per la risposta pressoria diastolica all'atenololo associate agli SNPs con P value $<10^{-5}$. Tutti gli SNPs imputati hanno una qualità di imputazione (Rsq) >0.8 . P indica i p values di associazione; SE, errore standard; Chr, cromosoma; SNP, polimorfismo a singolo nucleotide.

SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	Location
rs11657401	17	G	A	-3,182	0,724	1,10E-05	ARHGAP44	intron_variant
rs4792293	17	T	C	-2,795	0,704	7,27E-05	ARHGAP44	intron_variant
rs1971662	17	C	T	-2,732	0,674	5,04E-05	ARHGAP44	intron_variant
rs9891581	17	C	T	-2,723	0,673	5,18E-05	ARHGAP44	intron_variant
rs8075830	17	G	A	-2,722	0,672	5,12E-05	ARHGAP44	intron_variant
rs9892176	17	G	C	-2,682	0,677	7,40E-05	ARHGAP44	intron_variant
rs8082179	17	C	T	-2,675	0,663	5,43E-05	ARHGAP44	intron_variant
rs11651515	17	T	G	3,093	0,709	1,27E-05	ARHGAP44	intron_variant
rs1075456	15	T	G	-2,656	0,678	8,97E-05	CA12	intron_variant
rs62254186	3	C	A	-4,121	1,021	5,48E-05	CACNA2D3	intron_variant
rs62254233	3	G	T	-3,988	0,997	6,30E-05	CACNA2D3	intron_variant
rs7372750	3	C	T	-3,964	0,99	6,22E-05	CACNA2D3	intron_variant
rs12247369	10	G	A	-3,729	0,916	4,67E-05	CACNB2	intron_variant
rs1757210	10	G	A	2,957	0,713	3,34E-05	CACNB2	intron_variant
rs1779226	10	A	G	2,959	0,707	2,87E-05	CACNB2	intron_variant
rs7067916	10	A	G	2,984	0,706	2,38E-05	CACNB2	downstream_gene_variant
rs1757211	10	A	G	3,009	0,714	2,54E-05	CACNB2	intron_variant
rs78122842	10	A	G	8,016	1,85	1,47E-05	CACNB2	intron_variant
rs139356180	16	G	T	-6,293	1,539	4,32E-05	CCDC11	nc_transcript_variant
rs72622204	16	C	A	-6,285	1,539	4,42E-05	CCDC11	nc_transcript_variant
rs34413922	16	T	C	-6,281	1,534	4,23E-05	CCDC11	NMD_transcript_variant
rs79912905	16	T	C	-6,279	1,533	4,20E-05	CCDC11	NMD_transcript_variant
rs77535137	16	A	G	-6,279	1,533	4,21E-05	CCDC11	intron_variant
rs76569227	16	T	C	-6,276	1,533	4,26E-05	CCDC11	upstream_gene_variant
rs139102754	16	T	C	-6,275	1,537	4,43E-05	CCDC11	intron_variant
rs3986793	16	A	G	-6,275	1,537	4,45E-05	CCDC11	intron_variant
rs13331691	16	G	A	-6,273	1,532	4,20E-05	CCDC11	intron_variant
rs72622207	16	A	G	-6,272	1,536	4,46E-05	CCDC11	NMD_transcript_variant
rs72622205	16	C	T	-6,272	1,536	4,47E-05	CCDC11	NMD_transcript_variant
rs72622206	16	A	G	-6,271	1,536	4,47E-05	CCDC11	nc_transcript_variant
rs143399275	16	A	G	-6,27	1,536	4,48E-05	CCDC11	NMD_transcript_variant
rs12000504	9	C	T	-7,105	1,532	3,52E-06	CER1	downstream_gene_variant
rs62534320	9	C	T	-6,366	1,452	1,16E-05	CER1	downstream_gene_variant
rs11767826	7	C	A	-4,643	1,112	2,96E-05	CNTNAP2	intron_variant
rs12703910	7	C	T	-4,321	1,109	9,78E-05	CNTNAP2	intron_variant
rs4773185	13	G	A	-3,903	0,952	4,13E-05	COL4A2	intron_variant
rs7322736	13	G	C	-3,898	0,951	4,15E-05	COL4A2	intron_variant
rs61737590	1	C	T	-9,426	2,013	2,83E-06	FAM46B	missense_variant
rs35810604	1	T	C	-8,767	2,052	1,93E-05	FAM46B	synonymous_variant

SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	Location
rs71638504	1	A	G	-8,171	1,803	5,87E-06	FAM46B	downstream_gene_variant
rs35308549	1	T	C	-8,14	1,792	5,55E-06	FAM46B	downstream_gene_variant
rs36092677	1	G	A	-7,893	1,778	9,06E-06	FAM46B	downstream_gene_variant
rs114324038	1	C	T	-7,699	1,796	1,81E-05	FAM46B	intron_variant
rs74958392	1	T	G	-7,632	1,786	1,94E-05	FAM46B	3_prime_UTR_variant
rs12755215	1	A	G	-7,583	1,775	1,94E-05	FAM46B	intron_variant
rs57982953	4	C	G	-4,881	1,254	9,93E-05	GRID2	intron_variant
rs36072806	4	C	T	-3,403	0,837	4,80E-05	GRID2	intron_variant
rs13117925	4	G	A	-3,361	0,84	6,33E-05	GRID2	intron_variant
rs13004233	2	C	A	2,959	0,757	9,34E-05	HECW2	intron_variant
rs11898010	2	C	T	2,959	0,758	9,46E-05	HECW2	intron_variant
rs13405228	2	A	T	3,014	0,76	7,28E-05	HECW2	intron_variant
rs13004625	2	T	C	3,019	0,768	8,56E-05	HECW2	intron_variant
rs7560541	2	T	C	3,505	0,813	1,63E-05	HECW2	nc_transcript_variant
rs11761127	7	T	C	4,064	0,927	1,15E-05	IFRD1	intron_variant
rs2297550	1	G	C	-3,941	0,982	5,97E-05	IKBKE	upstream_gene_variant
rs4772407	13	C	T	-3,17	0,744	2,07E-05	ITGBL1	intron_variant
rs2031841	13	T	C	-3,158	0,704	7,16E-06	ITGBL1	intron_variant
rs6491640	13	T	A	-3,029	0,723	2,78E-05	ITGBL1	intron_variant
rs1595164	13	T	C	-2,988	0,72	3,30E-05	ITGBL1	intron_variant
rs1595163	13	T	C	-2,986	0,719	3,32E-05	ITGBL1	intron_variant
rs3916915	13	G	A	-2,962	0,723	4,23E-05	ITGBL1	intron_variant
rs9518494	13	A	T	-2,764	0,694	6,79E-05	ITGBL1	intron_variant
rs9300690	13	C	T	-2,758	0,694	7,02E-05	ITGBL1	intron_variant
rs6491639	13	G	A	-2,732	0,701	9,86E-05	ITGBL1	intron_variant
rs6477084	9	G	A	-3,671	0,832	1,03E-05	KANK1	intron_variant
rs7021495	9	A	C	-3,643	0,865	2,51E-05	KANK1	intron_variant
rs7030653	9	C	A	-3,57	0,913	9,20E-05	KANK1	intron_variant
rs10116503	9	T	G	-3,569	0,901	7,42E-05	KANK1	intron_variant
rs10975560	9	C	T	-3,568	0,914	9,45E-05	KANK1	intron_variant
rs6477082	9	G	A	-3,531	0,833	2,23E-05	KANK1	intron_variant
rs6477083	9	G	C	-3,527	0,832	2,23E-05	KANK1	intron_variant
rs7090456	10	A	G	-3,24	0,798	4,91E-05	LHPP	intron_variant
rs10901760	10	A	G	-3,224	0,798	5,31E-05	LHPP	intron_variant
rs11245292	10	T	C	-3,205	0,804	6,67E-05	LHPP	intron_variant
rs12269523	10	C	T	-3,178	0,797	6,71E-05	LHPP	nc_transcript_variant
rs10794153	10	T	C	-3,177	0,797	6,79E-05	LHPP	intron_variant
rs956692	10	A	G	-3,176	0,797	6,76E-05	LHPP	nc_transcript_variant
rs3891517	10	A	G	-3,176	0,797	6,77E-05	LHPP	intron_variant
rs4962382	10	A	G	-3,176	0,798	6,88E-05	LHPP	nc_transcript_variant

SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	Location
rs4962384	10	T	C	-3,174	0,798	6,96E-05	LHPP	nc_transcript_variant
rs10794155	10	A	G	-3,17	0,798	7,16E-05	LHPP	nc_transcript_variant
rs72837376	10	A	G	-3,168	0,798	7,21E-05	LHPP	intron_variant
rs12358685	10	C	G	-3,168	0,798	7,21E-05	LHPP	nc_transcript_variant
rs55762237	10	A	G	-3,168	0,798	7,28E-05	LHPP	nc_transcript_variant
rs10901766	10	T	C	-3,166	0,799	7,42E-05	LHPP	intron_variant
rs4962383	10	A	G	-3,166	0,799	7,40E-05	LHPP	nc_transcript_variant
rs56260700	10	A	T	-3,161	0,799	7,67E-05	LHPP	intron_variant
rs62133925	2	G	A	-3,573	0,87	4,03E-05	LINC486	intron_variant
rs35636332	2	C	T	-3,553	0,871	4,52E-05	LINC486	intron_variant
rs74118518	1	A	G	-7,387	1,76	2,70E-05	LMX1A	intron_variant
rs11714045	3	T	C	2,529	0,641	8,05E-05	NIT2	nc_transcript_variant
rs4767526	12	C	T	-2,749	0,7	8,61E-05	NOS1	intron_variant
rs147389183	16	A	G	-6,366	1,572	5,12E-05	NUPR1	downstream_gene_variant
rs1074629	16	A	G	-6,273	1,532	4,20E-05	NUPR1	upstream_gene_variant
rs79850259	16	A	G	-6,269	1,536	4,48E-05	NUPR1	upstream_gene_variant
rs9923079	16	T	C	-6,265	1,543	4,92E-05	NUPR1	downstream_gene_variant
rs12726806	1	T	C	-8,25	1,823	5,99E-06	OSTCP2	upstream_gene_variant
rs12750643	1	C	T	-7,835	1,882	3,12E-05	OSTCP2	upstream_gene_variant
rs1999351	9	G	A	2,769	0,659	2,67E-05	PAPPA	intron_variant
rs1331138	9	G	A	2,786	0,675	3,65E-05	PAPPA	intron_variant
rs4358593	6	T	C	4,226	1,066	7,41E-05	PARK2	intron_variant
rs62636151	6	A	T	4,298	1,079	6,82E-05	PARK2	intron_variant
rs62435934	6	A	C	4,413	1,091	5,26E-05	PARK2	intron_variant
rs62435935	6	C	T	4,413	1,091	5,27E-05	PARK2	intron_variant
rs13218225	6	T	G	-3,372	0,864	9,43E-05	PLAGL1	upstream_gene_variant
rs60428302	7	A	C	5,448	1,323	3,79E-05	PLXNA4	intron_variant
rs1190047	6	G	T	-3,22	0,79	4,60E-05	PREP	intron_variant
rs11830037	12	A	C	-5,049	1,284	8,45E-05	RAPGEF3	upstream_gene_variant
rs11830537	12	T	C	-5,017	1,281	8,94E-05	RAPGEF3	intron_variant
rs78612041	7	T	C	4,011	1	6,04E-05	RN7SKP187	downstream_gene_variant
rs8069843	17	A	G	2,907	0,723	5,85E-05	SDK2	intron_variant
rs8069114	17	C	G	2,908	0,724	5,86E-05	SDK2	intron_variant
rs11869311	17	G	A	2,924	0,723	5,26E-05	SDK2	intron_variant
rs12150586	17	A	C	2,935	0,723	4,96E-05	SDK2	intron_variant
rs12150205	17	C	T	2,937	0,724	4,95E-05	SDK2	intron_variant
rs7207944	17	A	G	2,944	0,735	6,13E-05	SDK2	nc_transcript_variant
rs12600925	17	G	T	2,952	0,724	4,58E-05	SDK2	intron_variant
rs6501646	17	G	A	2,966	0,729	4,70E-05	SDK2	intron_variant
rs9892260	17	C	T	2,994	0,735	4,59E-05	SDK2	intron_variant

SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	Location
rs1994162	17	C	T	2,996	0,735	4,58E-05	SDK2	downstream_gene_variant
rs8078324	17	C	T	2,996	0,735	4,58E-05	SDK2	intron_variant
rs8077756	17	C	G	2,999	0,742	5,30E-05	SDK2	intron_variant
rs62074127	17	T	C	3,001	0,734	4,32E-05	SDK2	nc_transcript_variant
rs8082324	17	T	A	3,011	0,742	4,90E-05	SDK2	intron_variant
rs8082329	17	T	G	3,012	0,742	4,88E-05	SDK2	intron_variant
rs8078270	17	A	C	3,013	0,742	4,88E-05	SDK2	intron_variant
rs35084252	17	G	T	3,062	0,755	4,96E-05	SDK2	intron_variant
rs7216604	17	T	C	3,156	0,769	4,05E-05	SDK2	nc_transcript_variant
rs8082038	17	T	C	3,367	0,745	6,24E-06	SDK2	intron_variant
rs8077605	17	C	T	3,368	0,745	6,14E-06	SDK2	intron_variant
rs28804765	17	C	A	3,399	0,748	5,51E-06	SDK2	intron_variant
rs1785326	18	C	A	-3,519	0,842	2,92E-05	SLMO1	upstream_gene_variant
rs4483914	18	T	C	-3,333	0,845	8,03E-05	SLMO1	intron_variant
rs503307	18	A	G	-3,284	0,836	8,47E-05	SLMO1	intron_variant
rs573390	18	T	C	-3,241	0,827	8,97E-05	SLMO1	intron_variant
rs2945752	8	A	G	5,362	1,253	1,87E-05	ST3GAL1	intron_variant
rs72622208	16	T	C	-6,648	1,628	4,43E-05	SULT1A2	intron_variant
rs190899427	16	A	G	-6,503	1,59	4,31E-05	SULT1A2	NMD_transcript_variant
rs187570477	16	G	A	-6,503	1,59	4,31E-05	SULT1A2	NMD_transcript_variant
rs2291937	16	G	T	-6,308	1,54	4,20E-05	SULT1A2	downstream_gene_variant
rs13336311	16	T	C	-6,276	1,532	4,19E-05	SULT1A2	downstream_gene_variant
rs4149409	16	A	G	-6,273	1,532	4,20E-05	SULT1A2	downstream_gene_variant
rs35859457	1	T	C	-8,311	1,821	5,03E-06	TRNP1	upstream_gene_variant
rs74062562	1	C	T	-8,241	1,819	5,88E-06	TRNP1	intron_variant
rs4077651	1	G	C	-8,06	1,845	1,25E-05	TRNP1	synonymous_variant
rs6658653	1	C	T	-7,916	1,786	9,35E-06	TRNP1	intron_variant
rs56196070	16	C	T	2,962	0,728	4,67E-05	XPO6	intron_variant
rs7027927	9	A	G	-7,191	1,61	7,93E-06	ZDHHC21	upstream_gene_variant
rs79099979	7	T	G	4,026	1,015	7,24E-05	ZNF277	intron_variant
rs12497224	3	T	G	-3,277	0,8	4,25E-05	ZNF385D	intron_variant
rs11129051	3	T	A	-3,181	0,784	5,01E-05	ZNF385D	intron_variant
rs9861936	3	A	T	-3,177	0,791	5,97E-05	ZNF385D	nc_transcript_variant
rs11129050	3	T	A	-3,155	0,784	5,76E-05	ZNF385D	intron_variant
rs17400494	7	T	C	3,187	0,796	6,25E-05	ZNF84B	intron_variant
rs17309234	7	T	A	3,188	0,795	6,11E-05	ZNF84B	intron_variant
rs55685026	7	T	C	3,205	0,794	5,48E-05	ZNF84B	intron_variant
rs59620978	7	C	T	3,206	0,794	5,45E-05	ZNF84B	intron_variant

Tabella 4. Risultati dell'associazione genome-wide per la risposta della frequenza cardiaca all'atenololo associate agli SNPs con P value $<10^{-5}$. Tutti gli SNPs imputati hanno una qualità di imputazione (Rsq) >0.8 . P indica i p values di associazione; SE, errore standard; Chr, cromosoma; SNP, polimorfismo a singolo nucleotide.

SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	location
rs112439546	11	C	T	5,283	1,305	5,18E-05	ACCSL	intron_variant
rs4699038	4	A	G	3,136	0,769	4,55E-05	ACTR3BP4	upstream_gene_variant
rs11072916	15	C	T	-2,594	0,614	2,41E-05	ARNT2	intron_variant
rs12591286	15	A	G	-2,593	0,614	2,42E-05	ARNT2	intron_variant
rs59401457	15	G	T	-2,586	0,614	2,53E-05	ARNT2	intron_variant
rs1369102	17	T	C	2,333	0,593	8,36E-05	ASIC2	intron_variant
rs1434584	17	G	T	2,608	0,582	7,32E-06	ASIC2	intron_variant
rs67227563	17	T	C	2,63	0,58	5,82E-06	ASIC2	intron_variant
rs10221246	17	A	G	2,66	0,576	3,90E-06	ASIC2	intron_variant
rs8079510	17	T	A	2,668	0,568	2,66E-06	ASIC2	intron_variant
rs8070120	17	C	T	2,741	0,58	2,31E-06	ASIC2	intron_variant
rs818710	9	C	A	-2,809	0,686	4,22E-05	BSPRY	intron_variant
rs17697710	16	T	C	4,135	1,02	5,01E-05	C16orf95	intron_variant
rs111504448	16	A	C	4,138	1,026	5,55E-05	C16orf95	intron_variant
rs17770360	16	T	A	4,142	1,02	4,88E-05	C16orf95	intron_variant
rs78722147	16	A	G	4,154	1,038	6,29E-05	C16orf95	intron_variant
rs111687780	16	A	G	4,176	1,044	6,33E-05	C16orf95	intron_variant
rs75118523	16	T	C	4,286	1,047	4,22E-05	C16orf95	nc_transcript_variant
rs17697614	16	C	G	4,317	1,069	5,35E-05	C16orf95	intron_variant
rs111388464	16	T	C	4,355	1,046	3,12E-05	C16orf95	intron_variant
rs113254636	16	A	G	4,382	1,058	3,46E-05	C16orf95	nc_transcript_variant
rs10863178	16	C	G	4,39	1,061	3,48E-05	C16orf95	nc_transcript_variant
rs11584292	1	C	G	2,288	0,579	7,84E-05	CAPN8	intron_variant
rs60148563	20	C	G	-2,771	0,654	2,27E-05	CDH4	intron_variant
rs60763673	20	C	G	-2,769	0,652	2,17E-05	CDH4	intron_variant
rs74842180	20	T	C	-2,75	0,652	2,45E-05	CDH4	intron_variant
rs73306669	20	A	G	-2,737	0,65	2,58E-05	CDH4	intron_variant
rs79092406	20	T	C	-2,697	0,65	3,32E-05	CDH4	intron_variant
rs73306692	20	T	C	-2,661	0,651	4,30E-05	CDH4	intron_variant
rs6089254	20	C	T	2,461	0,619	7,07E-05	CDH4	intron_variant
rs1128432	16	T	C	3,686	0,845	1,29E-05	CMIP	downstream_gene_variant
rs4889373	16	A	G	3,925	0,907	1,50E-05	CMIP	downstream_gene_variant
rs17811041	10	C	G	5,728	1,373	3,02E-05	DMBT1	intron_variant
rs75085292	10	G	A	5,728	1,373	3,04E-05	DMBT1	intron_variant
rs113789559	7	A	C	-3,349	0,851	8,35E-05	DPY19L2P3	upstream_gene_variant
rs28591682	7	C	T	-2,879	0,718	6,04E-05	DPY19L2P3	intron_variant
rs17603986	7	T	C	-2,854	0,718	7,02E-05	DPY19L2P3	nc_transcript_variant
rs28457783	7	G	T	-2,848	0,719	7,47E-05	DPY19L2P3	upstream_gene_variant
rs28573839	7	A	G	-2,847	0,719	7,49E-05	DPY19L2P3	upstream_gene_variant
rs73090342	7	C	T	-2,844	0,718	7,41E-05	DPY19L2P3	upstream_gene_variant
rs62095223	18	G	A	-2,719	0,688	7,77E-05	DSG2	intron_variant
rs4341240	9	G	C	3,036	0,759	6,29E-05	FREM1	intron_variant
rs7721747	5	A	G	2,304	0,589	9,11E-05	HTR4	intron_variant
rs2068190	5	G	A	2,365	0,572	3,56E-05	HTR4	intron_variant
rs11956922	5	C	A	2,365	0,573	3,62E-05	HTR4	intron_variant
rs6580561	5	G	A	2,368	0,573	3,60E-05	HTR4	intron_variant
rs76644589	5	C	T	4,542	1,103	3,83E-05	HTR4	intron_variant

rs1971719	5	C	T	4,549	1,105	3,86E-05	HTR4	NMD_transcript_variant
rs75253144	5	A	G	4,552	1,105	3,78E-05	HTR4	NMD_transcript_variant
rs17108477	5	G	A	4,552	1,105	3,78E-05	HTR4	intron_variant
rs77596954	5	T	C	4,552	1,105	3,82E-05	HTR4	intron_variant
rs17108469	5	G	C	4,552	1,106	3,83E-05	HTR4	intron_variant
rs77233444	5	T	C	4,552	1,105	3,83E-05	HTR4	intron_variant
rs12514680	5	A	G	4,553	1,105	3,77E-05	HTR4	intron_variant

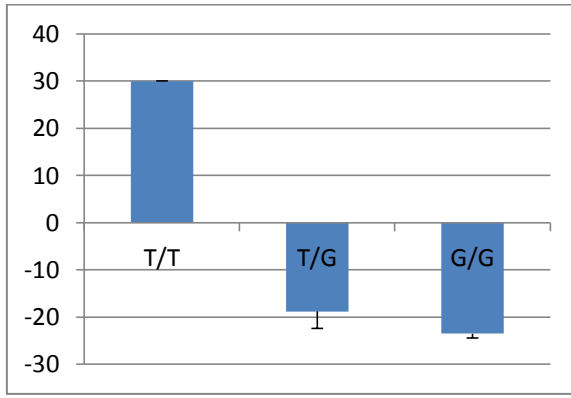
SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	location
rs28483490	5	A	G	4,555	1,105	3,77E-05	HTR4	intron_variant
rs76743111	5	A	G	4,556	1,104	3,69E-05	HTR4	intron_variant
rs28406232	5	C	T	4,557	1,106	3,76E-05	HTR4	intron_variant
rs74929219	5	A	G	4,558	1,104	3,68E-05	HTR4	intron_variant
rs76210003	5	C	A	4,559	1,105	3,68E-05	HTR4	intron_variant
rs1655305	1	A	G	-2,681	0,63	2,11E-05	LINC582	non_coding_exon_variant
rs3930366	1	A	C	-2,664	0,661	5,53E-05	LINC582	nc_transcript_variant
rs1765791	1	T	C	2,47	0,614	5,79E-05	LINC582	intron_variant
rs3125933	1	G	T	2,538	0,625	4,84E-05	LINC582	downstream_gene_variant
rs3120734	1	T	C	2,637	0,63	2,81E-05	LINC582	downstream_gene_variant
rs4904943	14	G	C	-3,153	0,809	9,70E-05	LRFN5	intron_variant
rs12878021	14	T	C	-3,116	0,798	9,37E-05	LRFN5	intron_variant
rs223495	4	G	A	2,651	0,655	5,24E-05	LRRC37A15P	upstream_gene_variant
rs223494	4	T	C	2,717	0,663	4,15E-05	MANBA	nc_transcript_variant
rs223501	4	A	G	2,763	0,654	2,42E-05	MANBA	intron_variant
rs223487	4	C	A	3,143	0,766	4,05E-05	MANBA	upstream_gene_variant
rs8124588	20	G	C	4,512	1,031	1,20E-05	MIR4532	upstream_gene_variant
rs73177839	20	T	C	4,927	1,167	2,41E-05	MIR4532	downstream_gene_variant
rs73177833	20	C	G	4,93	1,167	2,38E-05	MIR4532	downstream_gene_variant
rs73177830	20	A	G	4,982	1,167	1,96E-05	MIR4532	mature_miRNA_variant
rs56213819	20	G	A	5,171	1,188	1,35E-05	MIR4532	downstream_gene_variant
rs12115383	9	G	C	-2,547	0,644	7,62E-05	MVB12B	intron_variant
rs7870743	9	A	T	-2,521	0,646	9,64E-05	MVB12B	intron_variant
rs72815019	17	G	C	4,613	1,108	3,12E-05	MYO1D	intron_variant
rs4795715	17	C	T	4,619	1,107	3,02E-05	MYO1D	intron_variant
rs72815020	17	A	G	4,623	1,108	3,02E-05	MYO1D	intron_variant
rs55763636	17	G	T	4,625	1,108	2,99E-05	MYO1D	nc_transcript_variant
rs4794931	17	G	A	4,625	1,109	3,03E-05	MYO1D	intron_variant
rs72815025	17	C	T	4,627	1,11	3,06E-05	MYO1D	intron_variant
rs9544414	13	A	G	-2,499	0,612	4,38E-05	NBEA	intron_variant
rs9544293	13	C	T	-2,412	0,619	9,90E-05	NBEA	intron_variant
rs1928388	13	A	G	-2,386	0,612	9,63E-05	NBEA	intron_variant
rs4943302	13	A	G	2,417	0,615	8,61E-05	NBEA	intron_variant
rs7990906	13	G	A	2,466	0,616	6,29E-05	NBEA	intron_variant
rs74041744	13	T	C	2,941	0,746	8,00E-05	NBEA	intron_variant
rs11240331	1	T	C	2,821	0,694	4,84E-05	NFASC	intron_variant
rs12145998	1	T	C	2,831	0,69	4,10E-05	NFASC	intron_variant
rs4951153	1	A	C	2,833	0,688	3,83E-05	NFASC	intron_variant
rs12139426	1	A	G	2,833	0,688	3,85E-05	NFASC	intron_variant
rs6702469	1	C	T	2,854	0,69	3,55E-05	NFASC	intron_variant
rs6700069	1	G	A	2,875	0,689	2,99E-05	NFASC	intron_variant
rs6697344	1	A	C	2,876	0,685	2,68E-05	NFASC	nc_transcript_variant
rs6661266	1	G	A	2,877	0,685	2,68E-05	NFASC	intron_variant
rs11240332	1	A	G	2,877	0,689	2,94E-05	NFASC	intron_variant
rs6700188	1	G	A	2,877	0,689	2,96E-05	NFASC	intron_variant
rs6661192	1	G	A	2,878	0,686	2,69E-05	NFASC	intron_variant
rs11240330	1	A	C	2,878	0,694	3,36E-05	NFASC	intron_variant
rs4950977	1	A	T	2,88	0,687	2,73E-05	NFASC	intron_variant
rs4951152	1	A	C	2,881	0,687	2,75E-05	NFASC	intron_variant
rs4950976	1	G	A	2,881	0,688	2,79E-05	NFASC	intron_variant
rs6661381	1	G	A	2,891	0,693	3,06E-05	NFASC	intron_variant
rs4951151	1	C	T	2,959	0,722	4,21E-05	NFASC	intron_variant
rs58746216	12	T	A	-2,565	0,649	7,79E-05	NOS1	intron_variant
rs2054678	12	G	A	-2,427	0,591	4,05E-05	NOS1	intron_variant

SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	location
rs11068468	12	A	T	-2,421	0,597	4,95E-05	NOS1	nc_transcript_variant
rs10850818	12	T	C	-2,302	0,583	7,83E-05	NOS1	intron_variant
rs73566538	19	A	G	-4,48	0,968	3,64E-06	NPAS1	downstream_gene_variant
rs73566537	19	A	C	-4,409	0,954	3,85E-06	NPAS1	downstream_gene_variant
rs7555046	1	C	T	3,162	0,77	4,03E-05	OR9H1P	nc_transcript_variant
rs12758719	1	G	T	3,168	0,771	3,94E-05	OR9H1P	downstream_gene_variant
rs61855147	1	A	C	3,421	0,878	9,71E-05	OR9H1P	upstream_gene_variant
rs6699571	1	T	C	3,441	0,88	9,20E-05	OR9H1P	upstream_gene_variant
rs6663851	1	G	A	3,456	0,884	9,22E-05	OR9H1P	upstream_gene_variant
rs114063532	1	A	G	3,465	0,886	9,14E-05	OR9H1P	downstream_gene_variant
rs6935001	6	A	G	2,353	0,594	7,50E-05	PKMP5	upstream_gene_variant
rs7764789	6	C	G	2,359	0,596	7,56E-05	PKMP5	upstream_gene_variant
rs11243045	6	G	A	2,36	0,602	8,89E-05	PKMP5	upstream_gene_variant
rs6930257	6	C	T	2,373	0,6	7,60E-05	PKMP5	upstream_gene_variant
rs7763807	6	G	A	2,374	0,598	7,08E-05	PKMP5	upstream_gene_variant
rs2876005	6	T	C	2,431	0,621	8,95E-05	PKMP5	non_coding_exon_variant
rs9392734	6	T	C	2,562	0,639	6,09E-05	PKMP5	non_coding_exon_variant
rs7763207	6	A	G	2,59	0,649	6,53E-05	PKMP5	nc_transcript_variant
rs1915671	10	G	C	-4,206	0,96	1,17E-05	PRKG1	intron_variant
rs1189309	10	T	C	-4,123	0,953	1,52E-05	PRKG1	intron_variant
rs211085	10	C	T	-3,871	0,946	4,25E-05	PRKG1	intron_variant
rs1189310	10	G	A	-2,987	0,754	7,48E-05	PRKG1	intron_variant
rs7898516	10	T	C	-2,274	0,56	4,86E-05	PRKG1	intron_variant
rs139293872	5	T	C	-3,749	0,923	4,87E-05	PROP1	downstream_gene_variant
rs55712631	5	A	G	-3,656	0,932	8,71E-05	PROP1	upstream_gene_variant
rs4498267	5	A	G	-3,578	0,901	7,15E-05	PROP1	intron_variant
rs2233788	5	G	A	-3,545	0,898	7,85E-05	PROP1	3_prime_UTR_variant
rs59384944	22	I	R	-3,022	0,761	7,14E-05	PRR14L	feature_elongation
rs12453759	17	G	A	3,072	0,741	3,34E-05	PSMD12	downstream_gene_variant
rs7503013	17	G	C	3,073	0,743	3,54E-05	PSMD12	intron_variant
rs11079690	17	G	T	3,076	0,742	3,37E-05	PSMD12	intron_variant
rs4791292	17	C	A	3,078	0,741	3,27E-05	PSMD12	intron_variant
rs6504500	17	T	C	3,078	0,741	3,27E-05	PSMD12	downstream_gene_variant
rs12453721	17	G	T	3,078	0,742	3,40E-05	PSMD12	downstream_gene_variant
rs9904885	17	C	T	3,088	0,748	3,65E-05	PSMD12	downstream_gene_variant
rs9303518	17	C	T	3,171	0,743	1,97E-05	PSMD12	intron_variant
rs140642786	5	A	G	-5,253	1,244	2,40E-05	RPL29P14	upstream_gene_variant
rs13017329	2	G	C	-4,189	1,05	6,62E-05	SLC8A1-AS1	intron_variant
rs9994654	4	C	A	2,855	0,728	8,69E-05	SLC9B1	intron_variant
rs76231327	4	A	G	3,248	0,795	4,40E-05	SLC9B1	intron_variant
rs10516497	4	C	A	2,835	0,728	9,94E-05	SLC9B2	downstream_gene_variant
rs10489658	1	C	T	2,435	0,592	3,95E-05	SMIM12	intron_variant
rs6660026	1	T	G	2,443	0,609	6,02E-05	SMIM12	NMD_transcript_variant
rs1024218	1	C	T	2,458	0,6	4,23E-05	SMIM12	NMD_transcript_variant
rs13303053	1	T	G	2,476	0,616	5,85E-05	SMIM12	3_prime_UTR_variant
rs28711164	1	G	C	2,484	0,609	4,56E-05	SMIM12	NMD_transcript_variant
rs4653079	1	A	G	2,484	0,609	4,59E-05	SMIM12	NMD_transcript_variant
rs6690688	1	T	A	2,486	0,616	5,42E-05	SMIM12	intron_variant
rs28447586	1	A	C	2,49	0,61	4,41E-05	SMIM12	NMD_transcript_variant
rs6687949	1	T	C	2,641	0,635	3,18E-05	SMIM12	NMD_transcript_variant
rs482165	22	G	A	2,958	0,74	6,41E-05	SMPD4P1	intron_variant
rs510431	22	G	A	3,096	0,774	6,31E-05	SMPD4P1	intron_variant
rs617867	22	C	T	3,128	0,799	9,00E-05	SMPD4P1	downstream_gene_variant

SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	location
rs506575	22	T	A	3,225	0,796	5,10E-05	SMPD4P1	downstream_gene_variant
rs9727400	1	A	G	2,534	0,65	9,69E-05	SPSB1	upstream_gene_variant
rs9725983	1	G	A	2,541	0,652	9,77E-05	SPSB1	upstream_gene_variant
rs9434757	1	C	G	2,805	0,68	3,75E-05	SPSB1	upstream_gene_variant
rs143834522	5	T	C	6,456	1,491	1,49E-05	SSBP2	non_coding_exon_variant
rs144330731	15	G	C	-2,819	0,663	2,15E-05	SV2B	intron_variant
rs148761946	15	T	A	-2,773	0,666	3,15E-05	SV2B	intron_variant
rs1984873	15	G	A	-2,77	0,684	5,16E-05	SV2B	intron_variant
rs2214075	15	G	A	-2,665	0,645	3,56E-05	SV2B	intron_variant
rs719985	15	G	A	-2,628	0,641	4,12E-05	SV2B	intron_variant
rs719987	15	G	A	-2,625	0,641	4,22E-05	SV2B	intron_variant
rs2892181	15	C	T	-2,564	0,643	6,74E-05	SV2B	intron_variant
rs9609658	22	A	C	-4,146	1,061	9,28E-05	SYN3	intron_variant
rs35912616	22	D	R	-4,048	1,039	9,71E-05	SYN3	feature_truncation
rs9609649	22	T	C	-4,044	1,038	9,69E-05	SYN3	intron_variant
rs35640347	22	T	C	-4,031	1,032	9,31E-05	SYN3	intron_variant
rs9609653	22	A	G	-4,024	1,021	8,13E-05	SYN3	intron_variant
rs9609648	22	T	C	-4,014	1,026	9,15E-05	SYN3	intron_variant
rs9606998	22	A	G	-4,009	1,026	9,33E-05	SYN3	intron_variant
rs9609652	22	T	C	-4,005	1,024	9,22E-05	SYN3	intron_variant
rs2016169	22	A	T	-4,005	1,025	9,30E-05	SYN3	intron_variant
rs9609663	22	G	T	-3,874	0,99	9,11E-05	SYN3	intron_variant
rs756550	22	C	T	-3,813	0,979	9,80E-05	SYN3	intron_variant
rs9401370	6	T	A	-2,861	0,735	9,89E-05	TBC1D32	intron_variant
rs9375002	6	A	C	-2,852	0,733	9,98E-05	TBC1D32	intron_variant
rs9375001	6	C	T	-2,819	0,721	9,22E-05	TBC1D32	intron_variant
rs9401367	6	T	C	-2,811	0,717	8,74E-05	TBC1D32	intron_variant
rs6440059	3	C	T	-3,333	0,824	5,20E-05	TFDP2	intron_variant
rs2862125	3	G	T	-3,01	0,768	8,86E-05	TFDP2	intron_variant
rs7795109	7	A	G	-2,607	0,657	7,25E-05	TMSB4XP3	downstream_gene_variant
rs850013	7	C	T	-2,598	0,658	7,80E-05	TMSB4XP3	downstream_gene_variant
rs1963416	1	C	T	-2,812	0,638	1,05E-05	TSNAX	downstream_gene_variant
rs36086970	1	T	G	-2,687	0,621	1,52E-05	TSNAX	downstream_gene_variant
rs1982095	1	A	G	-2,687	0,625	1,69E-05	TSNAX	nc_transcript_variant
rs7523139	1	G	A	-2,575	0,622	3,49E-05	TSNAX	downstream_gene_variant
rs766288	1	T	G	-2,535	0,623	4,67E-05	TSNAX	downstream_gene_variant
rs1655286	1	T	C	2,524	0,624	5,22E-05	TSNAX	intron_variant
rs1615409	1	C	A	2,541	0,642	7,57E-05	TSNAX	downstream_gene_variant
rs1619386	1	C	G	-2,781	0,638	1,30E-05	TSNAX-DISC1	NMD_transcript_variant
rs1655289	1	C	T	-2,764	0,658	2,65E-05	TSNAX-DISC1	NMD_transcript_variant
rs10864684	1	T	C	-2,758	0,637	1,49E-05	TSNAX-DISC1	NMD_transcript_variant
rs1655288	1	G	C	-2,679	0,644	3,20E-05	TSNAX-DISC1	NMD_transcript_variant
rs7533573	1	A	G	-2,548	0,616	3,52E-05	TSNAX-DISC1	intron_variant
rs1765781	1	T	C	-2,545	0,616	3,60E-05	TSNAX-DISC1	intron_variant
rs1765782	1	T	C	-2,544	0,616	3,61E-05	TSNAX-DISC1	NMD_transcript_variant
rs1765784	1	T	C	2,597	0,625	3,29E-05	TSNAX-DISC1	NMD_transcript_variant
rs1655287	1	A	G	2,64	0,633	3,05E-05	TSNAX-DISC1	NMD_transcript_variant
rs11122311	1	T	C	2,643	0,63	2,74E-05	TSNAX-DISC1	NMD_transcript_variant
rs9837095	3	A	G	5,689	1,337	2,09E-05	WDR49	intron_variant
rs68072609	7	T	C	-2,909	0,729	6,55E-05	ZNRF2P2	intron_variant
rs850027	7	T	G	-2,857	0,722	7,69E-05	ZNRF2P2	intron_variant
rs850029	7	G	A	-2,856	0,724	8,07E-05	ZNRF2P2	intron_variant
rs67970052	7	T	C	-2,849	0,72	7,60E-05	ZNRF2P2	nc_transcript_variant

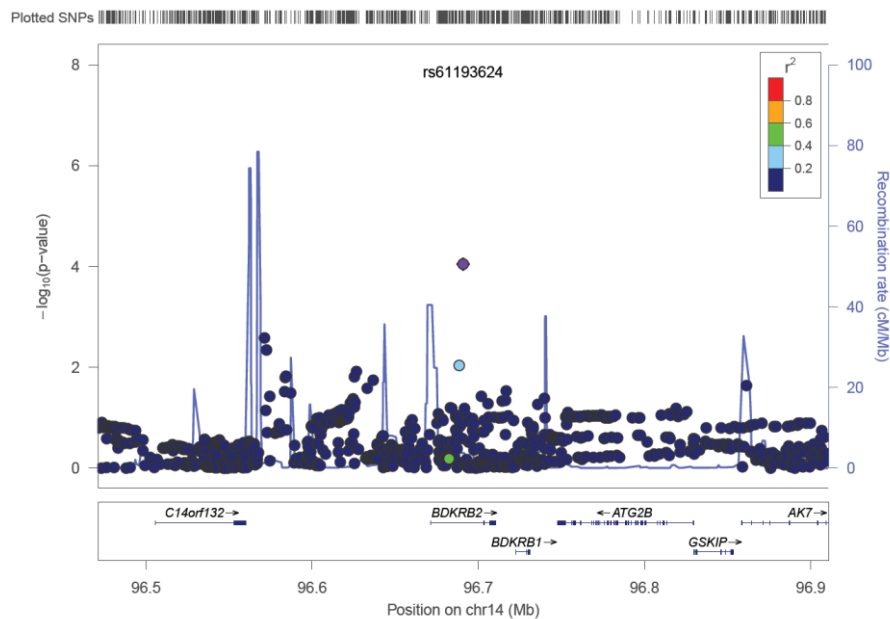
BDKRB2

dSBP								
SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	Location
rs61193624	14	T	G	10,544	2,693	9,00E-05	BDKRB2	intron_variant
rs56274409	14	T	A	10,546	2,693	9,01E-05	BDKRB2	intron_variant



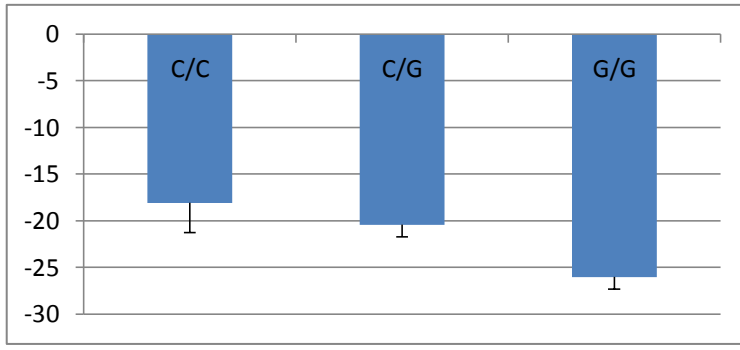
rs61193624				
GENO	MEAN	SD	COUNTS	SE
T/T	30	0	1	0
T/G	-18,82	20,82	33	3,624297
G/G	-23,54	17,2	369	0,895396

rs56274409				
GENO	MEAN	SD	COUNTS	SE
T/T	30	0	1	0
T/A	-18,82	20,82	33	3,624297
A/A	-23,54	17,2	369	0,895396

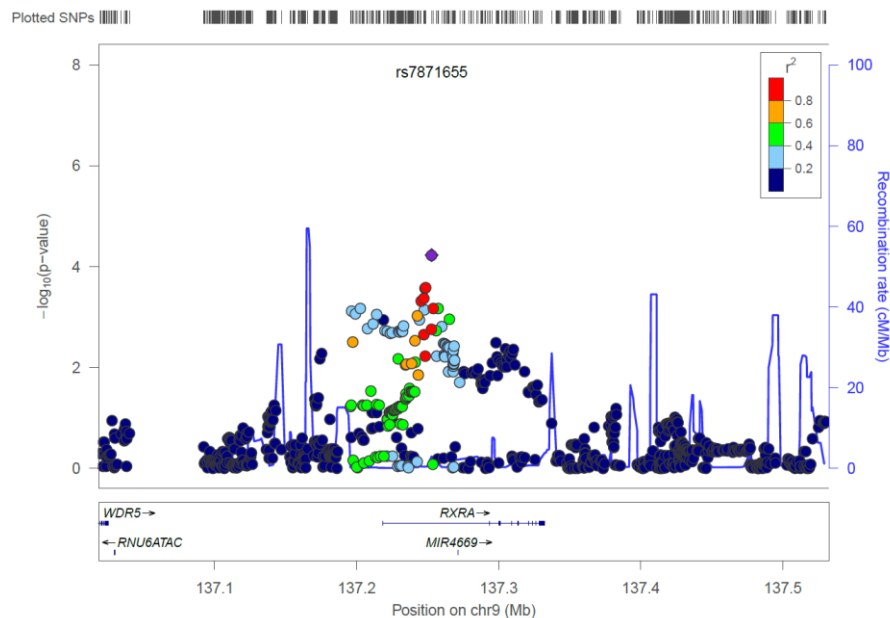


RXRA

SBP4								
SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	Location
rs7871655	9	C	G	4,781	1,19	5,92E-05	RXRA	nc_transcript_variant

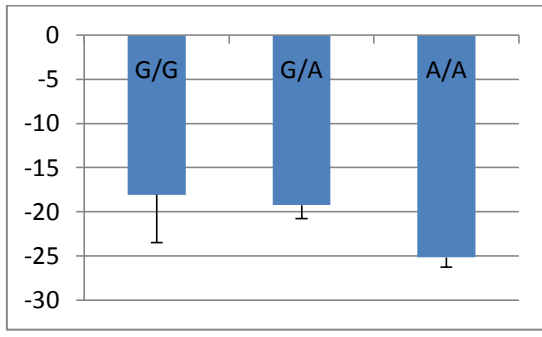


rs7871655				
GENO	MEAN	SD	COUNTS	SE
C/C	-18,08	16,35	26	3,206499
C/G	-20,42	17,18	179	1,284093
G/G	-26,03	17,93	198	1,27423

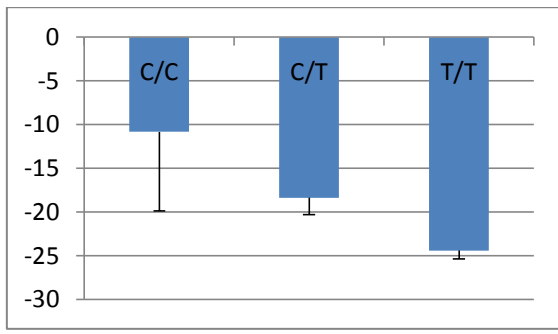


SLC7A1

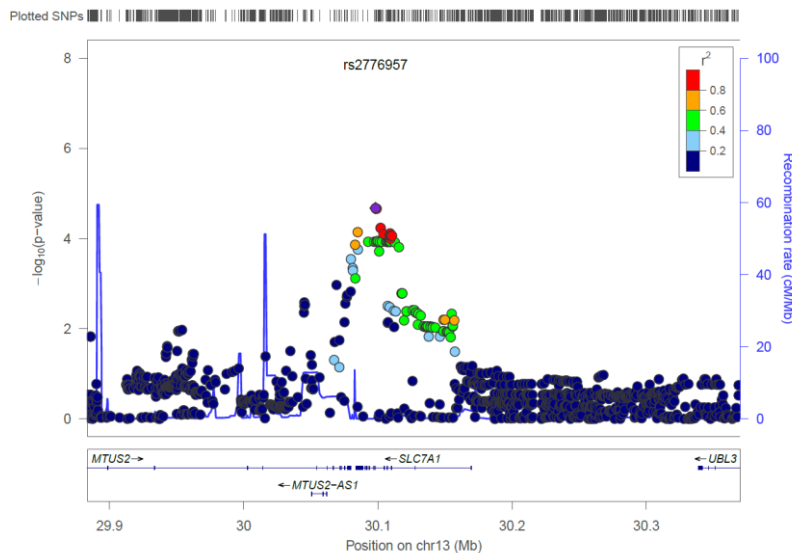
dSBP								
SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	Location
rs1571784	13	G	A	5,154	1,299	7,22E-05	SLC7A1	3_prime_UTR_variant
rs2776957	13	C	T	6,802	1,599	2,11E-05	SLC7A1	upstream_gene_variant



rs1571784				
GENO	MEAN	SD	COUNTS	SE
G/G	-18,07	21,03	15	5,429923
G/A	-19,24	17,11	128	1,512325
A/A	-25,17	17,51	260	1,085924

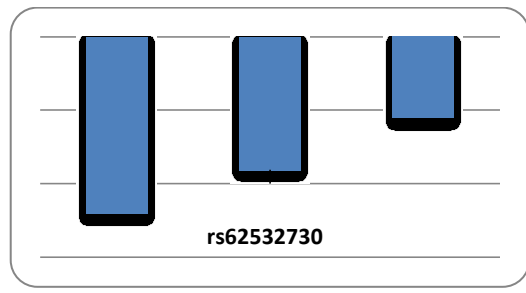


rs2776957				
GENO	MEAN	SD	COUNTS	SE
C/C	-10,83	22,2	6	9,063112
C/T	-18,38	17,2	79	1,935151
T/T	-24,41	17,53	318	0,983034

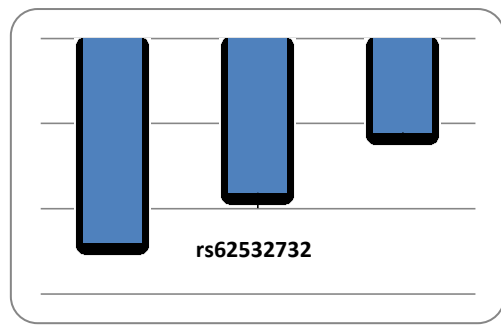


ZDHHC21

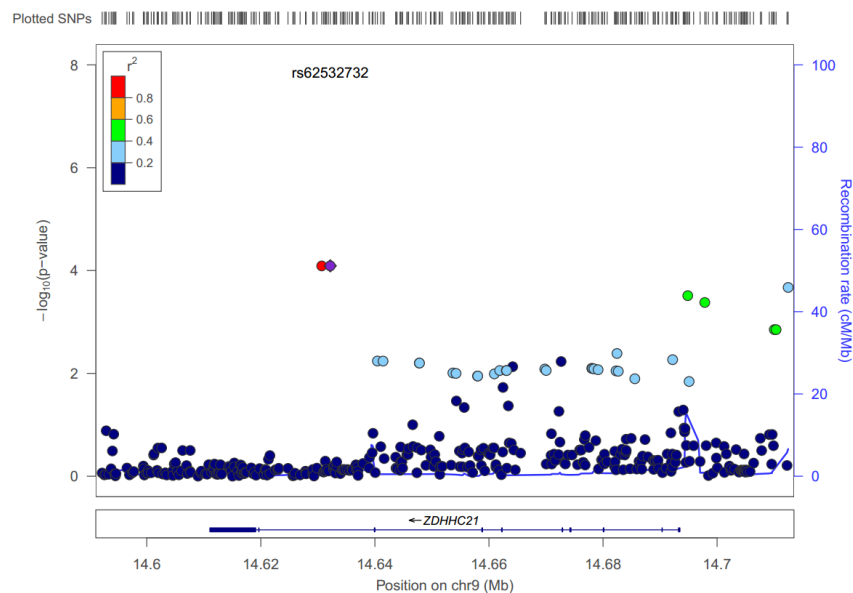
dSBP4								
SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	Location
rs62532730	9	G	A	-11,363	2,883	8,13E-05	ZDHHC21	intron_variant
rs62532732	9	A	G	-11,359	2,882	8,10E-05	ZDHHC21	intron_variant



rs62532730			
GENO	mean	SE	N
G/G	-48	0	1
G/A	-36,24	3,708	25
A/A	-22,08	0,89151	377

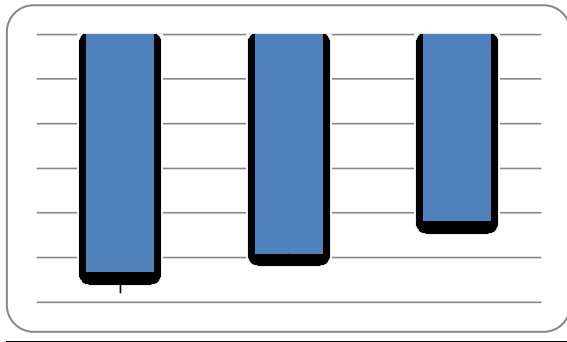


rs62532732			
GENO	mean	SE	N
A/A	-48	0	1
A/G	-36,24	3,708	25
G/G	-22,08	0,89151	377

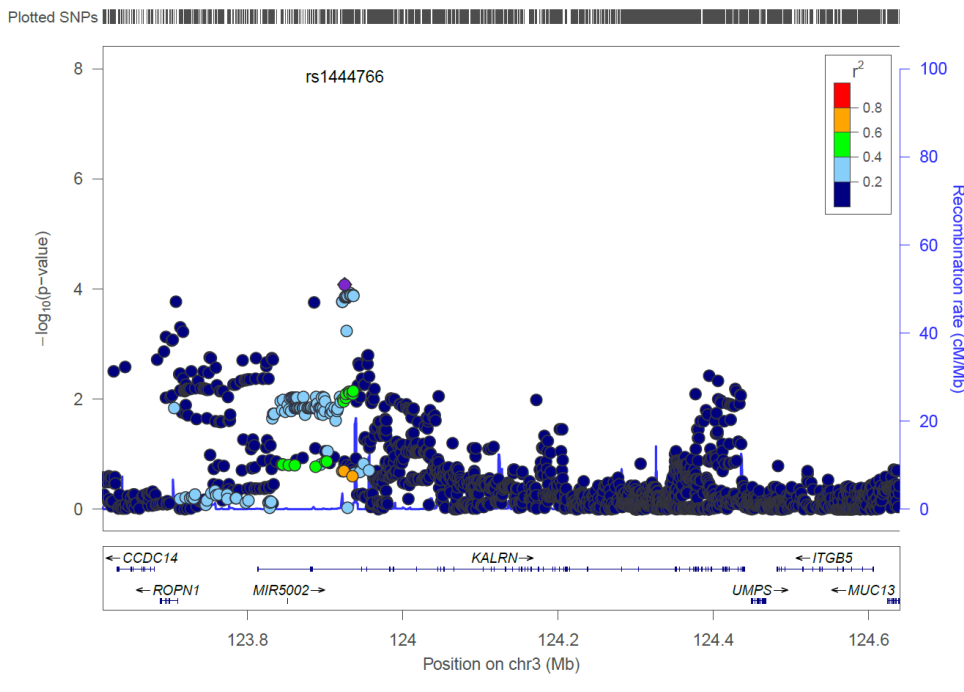


KALRN

dSBP4								
SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	Location
rs1444766	3	G	A	-4,525	1,15	8,32E-05	KALRN	intron_variant

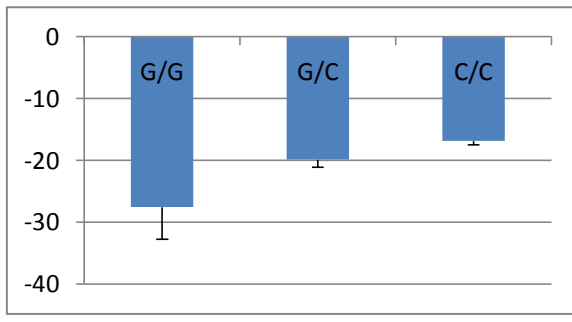


rs1444766				
GENO	MEAN	SD	SE	N
G/G	-26,59	13,98	2,3976	34
G/A	-24,57	17,92	1,3357	180
A/A	-20,92	17,95	1,3057	189

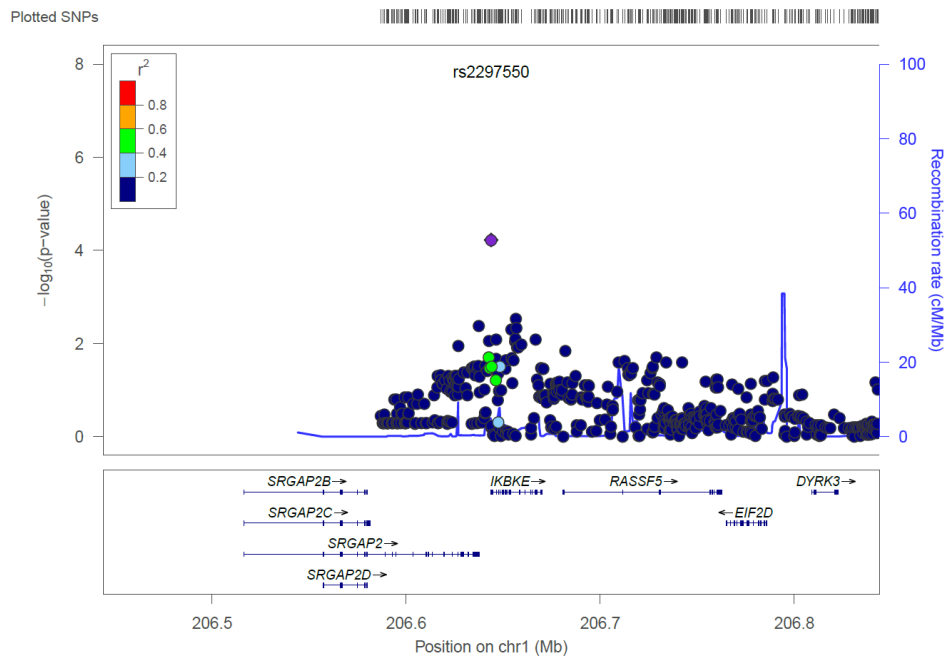


IKBKB

dDBP4								
SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	Location
rs2297550	1	G	C	-3,941	0,982	5,97E-05	IKBKE	upstream_gene_variant

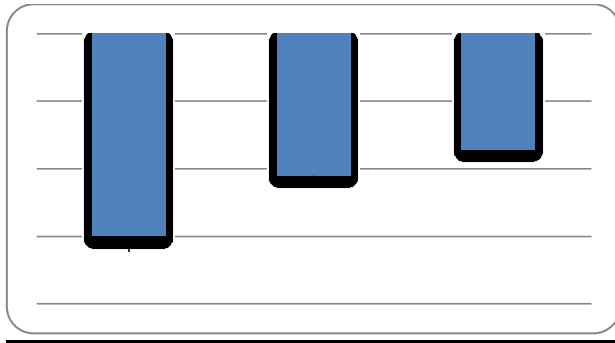


rs2297550				
GENO	MEAN	SD	COUNTS	SE
G/G	-27,56	15,55	9	5,183333
G/C	-19,89	11,37	85	1,23325
C/C	-16,89	10,81	303	0,621018

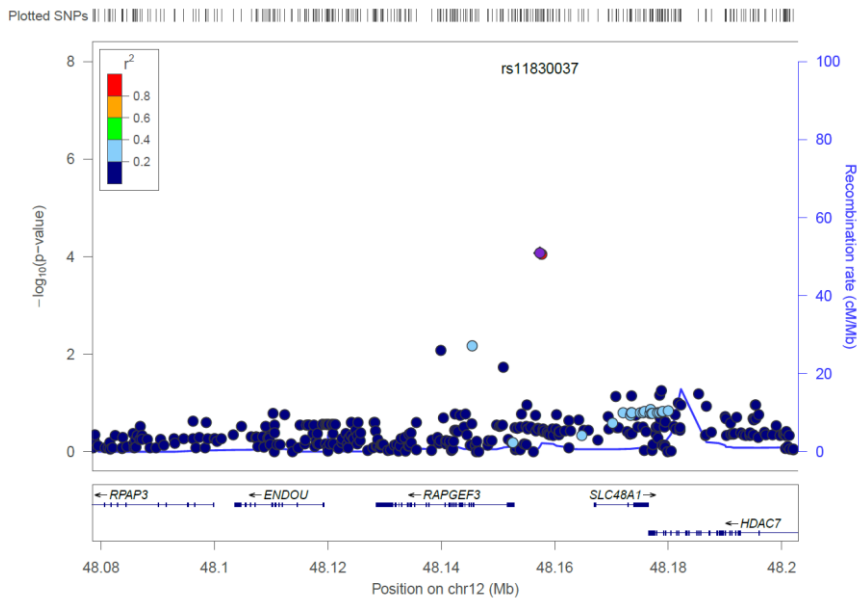


RAPGEF3

dDBP4								
SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	Location
rs11830037	12	A	C	-5,049	1,284	8,45E-05	RAPGEF3	upstream_gene_variant
rs11830537	12	T	C	-5,017	1,281	8,94E-05	RAPGEF3	intron_variant

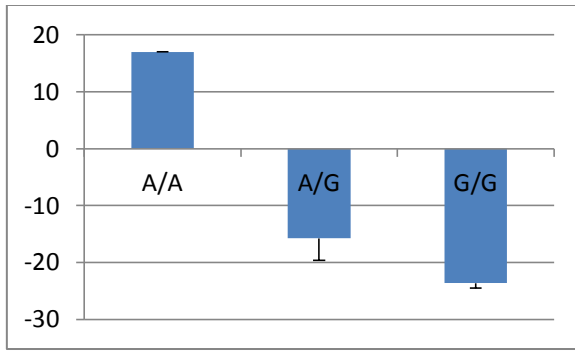


rs11830037				
GENO	MEAN	SD	SE	N
A/A	-30	4	2,3094	3
A/C	-21,02	12,5	1,80422	48
C/C	-17,22	10,92	0,58706	346

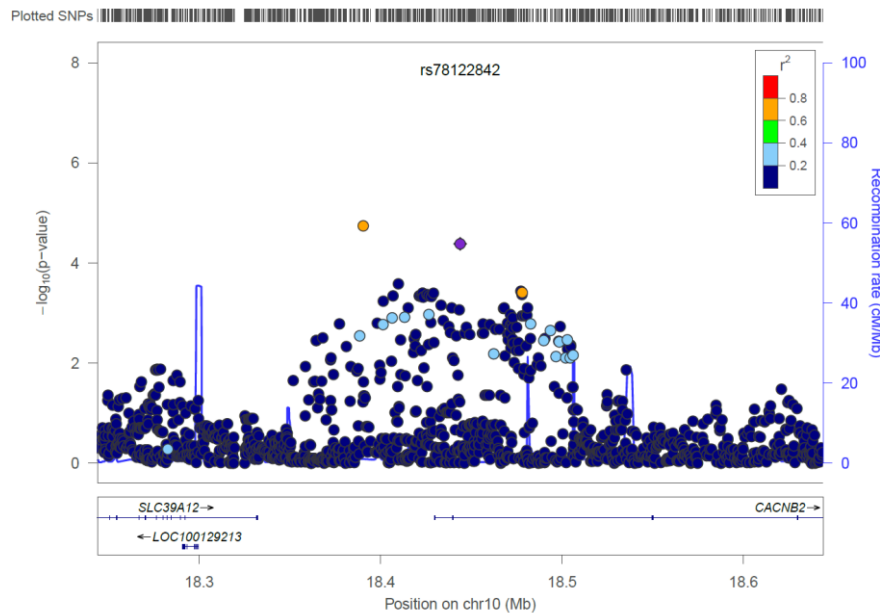


CACNB2

dSBP4								
SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	Location
rs78122842	10	A	G	11,838	2,888	4,14E-05	CACNB2	intron_variant

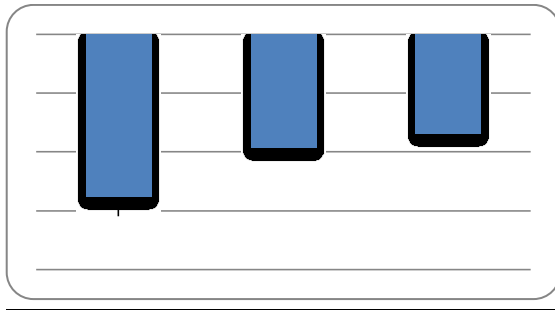


rs78122842				
GENO	MEAN	SD	COUNTS	SE
A/A	17	0	1	0
A/G	-15,76	19,46	25	3,892
G/G	-23,61	17,42	377	0,897176

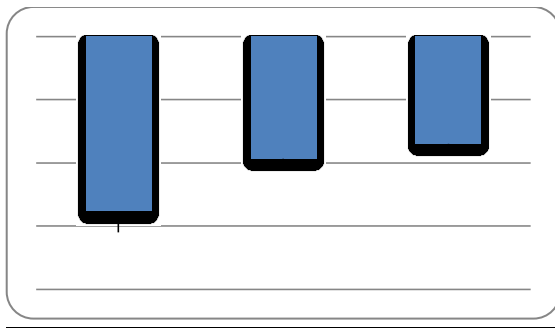


COL4A2

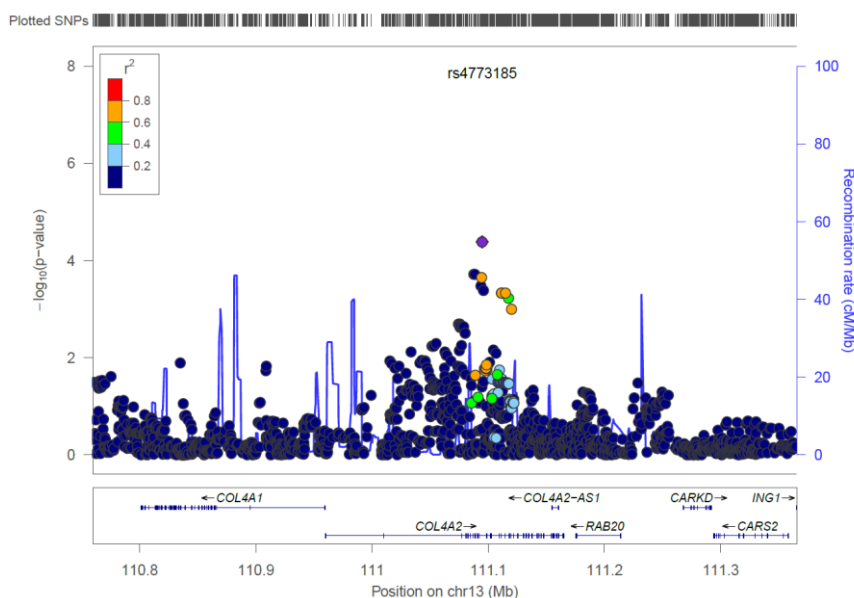
dDBP4								
SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	Location
rs4773185	13	G	A	-3,903	0,952	4,13E-05	COL4A2	intron_variant
rs7322736	13	G	C	-3,898	0,951	4,15E-05	COL4A2	intron_variant



rs7322736				
GENO	MEAN	SD	SE	N
G/G	-27,67	9,887	3,295667	9
G/C	-19,36	10,65	1,098464	94
C/C	-16,97	11,22	0,654364	294

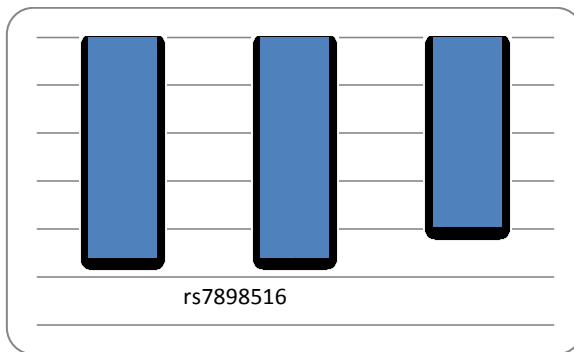


rs4773185				
GENO	MEAN	SD	SE	N
G/G	-27,67	9,887	3,295667	9
G/A	-19,36	10,65	1,098464	94
A/A	-16,97	11,22	0,654364	294

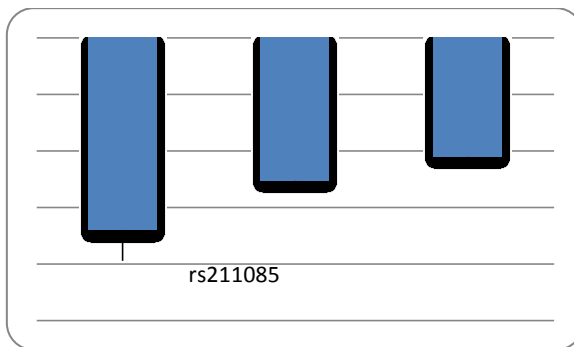


PRKG1

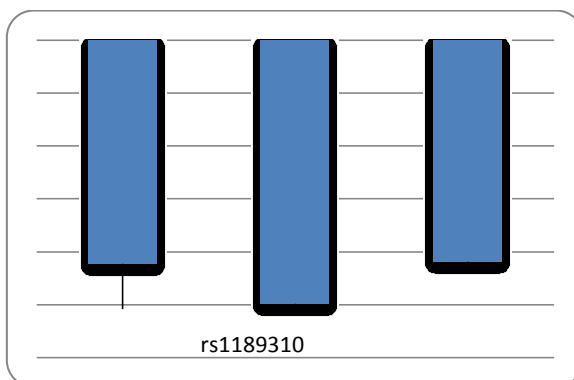
HR								
SNPID	chr	position	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	location
rs1915671	10	53131726	G	C	-4,206	0,96	1,17E-05	intron_variant
Rs1189309*	10	53115378	T	C	-4,123	0,953	1,52E-05	intron_variant
rs211085	10	53103108	C	T	-3,871	0,946	4,25E-05	intron_variant
rs7898516	10	53070953	T	C	-2,274	0,56	4,86E-05	intron_variant
rs1189310	10	53114847	G	A	-2,987	0,754	7,48E-05	intron_variant



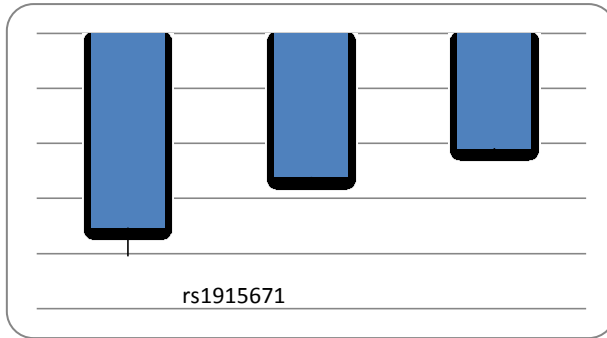
rs7898516			
GENO	MEAN	SE	N
T/T	-23,02	1,20	88
T/C	-22,96	0,85	199
C/C	-19,79	1,29	109



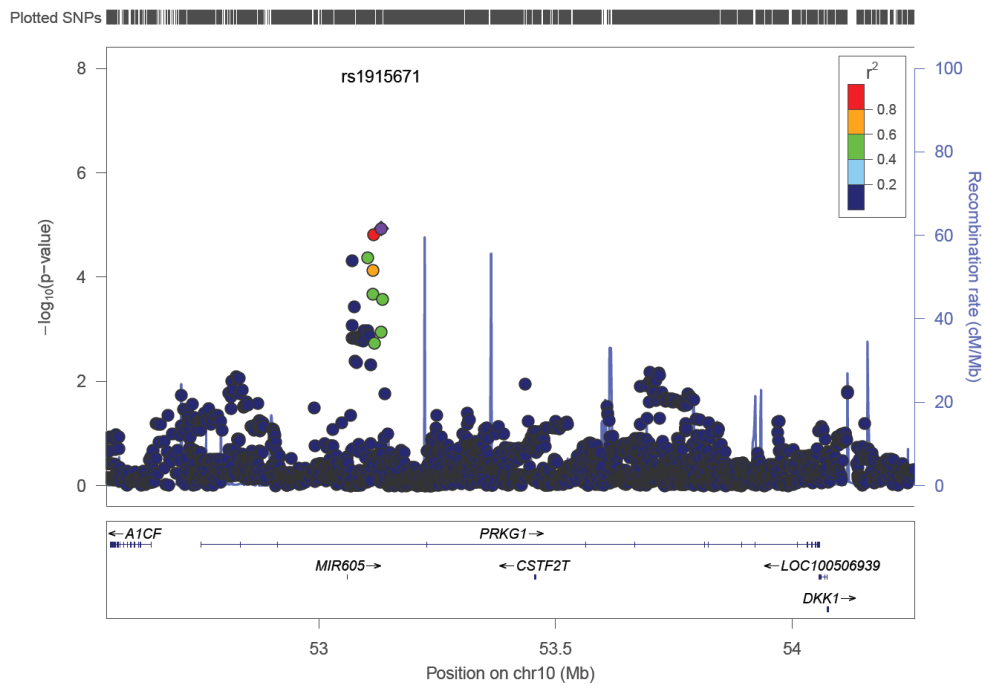
rs211085			
GENO	MEAN	SE	N
C/C	-34	5,43	4
C/T	-25,33	1,30	86
T/T	-21,04	0,70	306



rs1189310			
GENO	MEAN	SE	N
G/G	-21,11	4,30	9
G/A	-24,91	1,14	118
A/A	-20,9	0,74	269

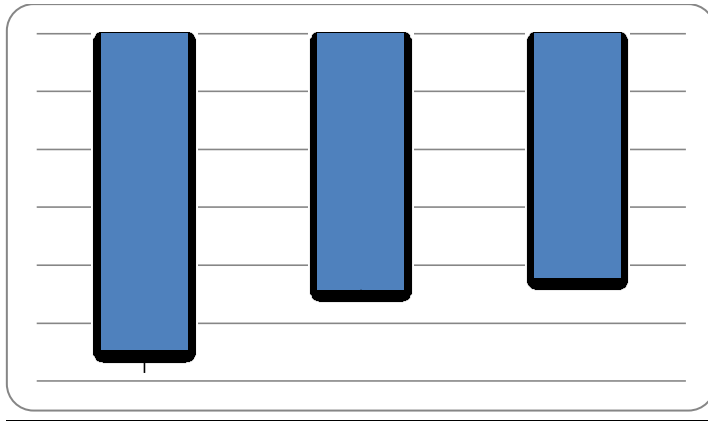


rs1915671			
GENO	MEAN	SE	N
G/G	-35,33	5,24	3
G/C	-26,1	1,29	82
C/C	-20,92	0,69	311

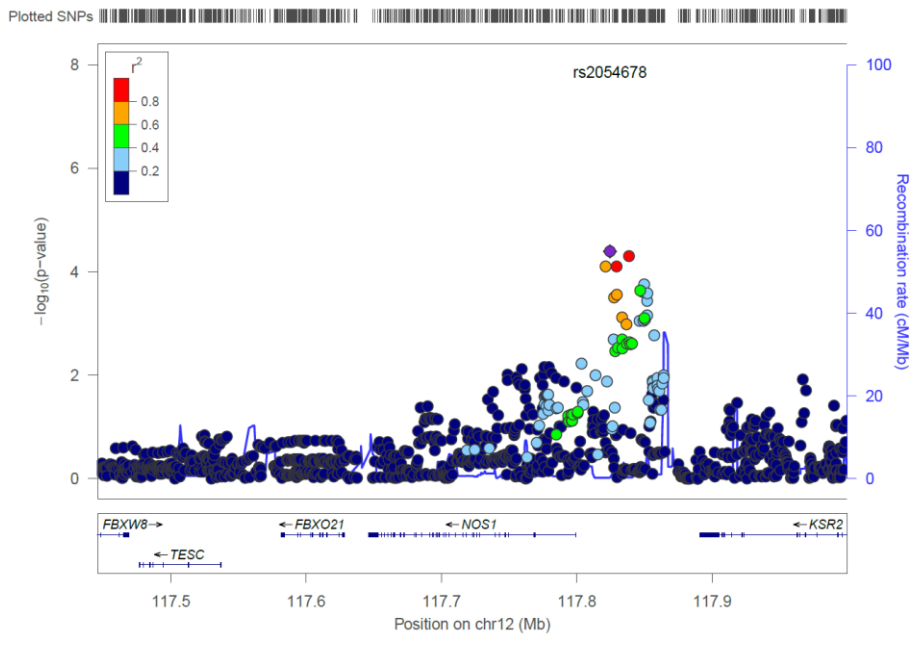


NOS1

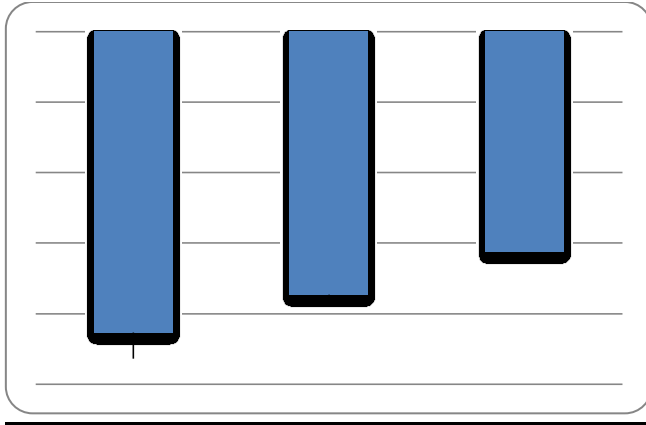
HR								
SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	location
rs58746216	12	T	A	-2,565	0,649	7,79E-05	NOS1	intron_variant
rs2054678	12	G	A	-2,427	0,591	4,05E-05	NOS1	intron_variant
rs11068468	12	A	T	-2,421	0,597	4,95E-05	NOS1	nc_transcript_variant
rs10850818	12	T	C	-2,302	0,583	7,83E-05	NOS1	intron_variant



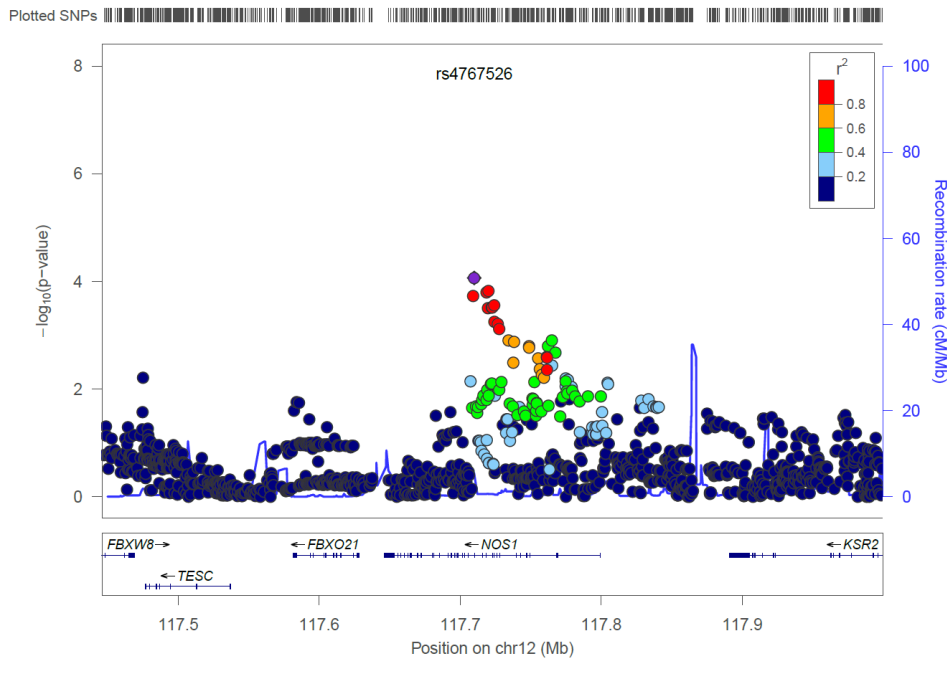
rs2054678				
GENO	MEAN	SD	COUNTS	SE
G/G	-27,32	12,49	40	1,974842
G/A	-22,09	12,51	151	1,018049
A/A	-21,09	11,93	205	0,833227



dDBP4								
SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	location
rs4767526	12	C	T	-2,749	0,7	8,61E-05	NOS1	intron_variant

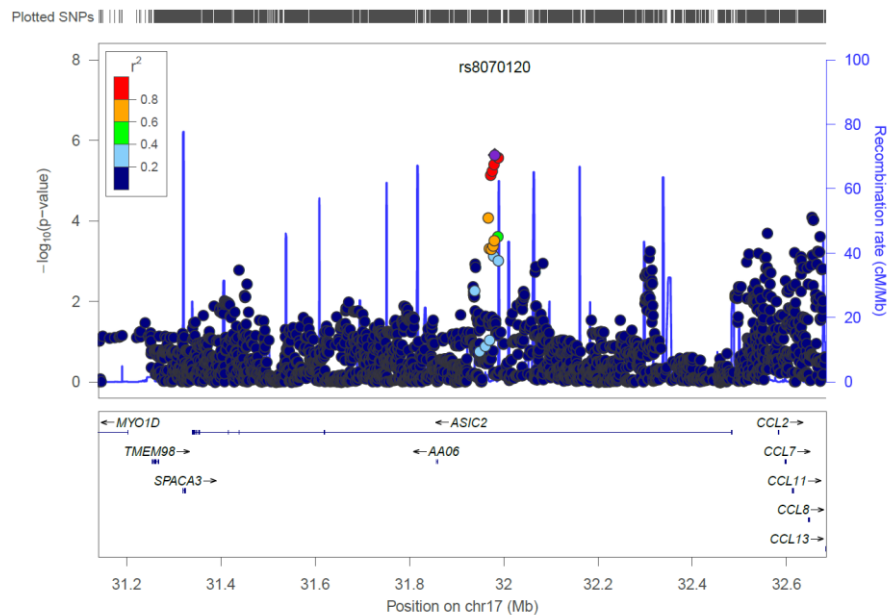
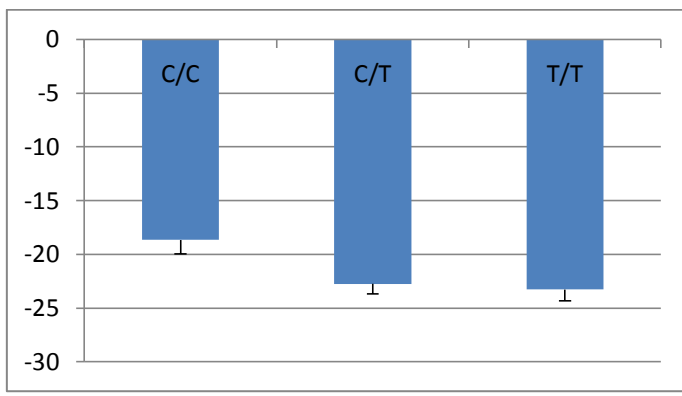


rs4767526				
GENO	MEAN	SD	COUNTS	SE
C/C	-21,36	12,91	50	1,82575
C/T	-18,65	11,14	187	0,814637
T/T	-15,64	10,27	160	0,811915



ASIC2

HR4								
SNPID	chr	coded_all	noncoded_all	beta	SE	pval	Gene name	location
rs1369102	17	T	C	2,333	0,593	8,36E-05	ASIC2	intron_variant
rs1434584	17	G	T	2,608	0,582	7,32E-06	ASIC2	intron_variant
rs67227563	17	T	C	2,63	0,58	5,82E-06	ASIC2	intron_variant
rs10221246	17	A	G	2,66	0,576	3,90E-06	ASIC2	intron_variant
rs8079510	17	T	A	2,668	0,568	2,66E-06	ASIC2	intron_variant
rs8070120	17	C	T	2,741	0,58	2,31E-06	ASIC2	intron_variant



BIBLIOGRAFIA

1. Go, Alan S., et al. "An effective approach to high blood pressure control: a science advisory from the American Heart Association, the American College of Cardiology, and the Centers for Disease Control and Prevention." *Journal of the American College of Cardiology* 63.12 (2014): 1230-1238.
2. Gu Q, Dillon CF, Burt VL, Gillum RF. Association of hypertension treatment and control with all-cause and cardiovascular disease mortality among US adults with hypertension. *Am J Hypertens* 2010;23:38–45
3. Farley TA, Dalal MA, Mostashari F, Frieden TR. Deaths preventable in the U.S. by improvements in use of clinical preventive services. *Am J Prev Med* 2010;38:600–9.
4. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, et al. Heart disease and stroke statistics—2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2012;125:e2–e220
5. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003;42:1206–52.
6. Yang, Quanhe, et al. "Trends in cardiovascular health metrics and associations with all-cause and CVD mortality among US adults." *Jama* 307.12 (2012): 1273-1283.
7. Farley TA, Dalal MA, Mostashari F, Frieden TR. Deaths preventable in the U.S. by improvements in use of clinical preventive services. *Am J Prev Med.* 2010;38(6):600-609
8. Go, A. S., Mozaffarian, D., Roger, V. L., Benjamin, E. J., Berry, J. D., Borden, W. B., ... & Stroke, S. S. (2013). Heart disease and stroke statistics--2013 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, 127(1), e6.
9. Thoenes, M., et al. "Antihypertensive drug therapy and blood pressure control in men and women: an international perspective." *Journal of human hypertension* 24.5 (2010): 336-344.
10. Levy, Daniel, et al. "Evidence for a gene influencing blood pressure on chromosome 17 genome scan linkage results for longitudinal blood pressure phenotypes in subjects from the framingham heart study." *Hypertension* 36.4 (2000): 477-483.
11. Jeunemaitre, Xavier, et al. "Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen." *Cell* 71.1 (1992): 169-180.
12. Cusi, Daniele, et al. "Polymorphisms of α -adducin and salt sensitivity in patients with essential hypertension." *The Lancet* 349.9062 (1997): 1353-1357.

13. Glorioso, Nicola, et al. "Association of ATP1A1 and Deaf Single-Nucleotide Polymorphism Haplotypes With Essential Hypertension Sex-Specific and Haplotype-Specific Effects." *Circulation research* 100.10 (2007): 1522-1529.
14. Lanzani, Chiara, et al. "Adducin-and ouabain-related gene variants predict the antihypertensive activity of rostafuroxin, part 2: clinical studies." *Science translational medicine* 2.59 (2010): 59ra87-59ra87.
15. Salvi, Erika, et al. "Genome-wide association study using a high-density SNP-array and case-control design identifies a novel essential hypertension susceptibility locus in the promoter region of eNOS." *Hypertension* 59.2 (2012): 248.
16. Frau, Francesca, et al. "Genome-wide association study identifies CAMKID variants involved in blood pressure response to losartan: the SOPHIA study." *Pharmacogenomics* 15.13 (2014): 1643-1652.
17. Chittani, Martina, et al. "TET2 and CSMD1 genes affect SBP response to hydrochlorothiazide in never-treated essential hypertensives." *Journal of hypertension* 33.6 (2015): 1301-1309
18. International Consortium for Blood Pressure Genome-Wide Association Studies. "Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk." *Nature* 478.7367 (2011): 103-109.
19. Motulsky, Arno G. "Drug reactions, enzymes, and biochemical genetics." *Journal of the American Medical Association* 165.7 (1957): 835-837.
20. Ayman D. Essential hypertension. The diastolic blood pressure: its variability. *Arch Intern Med.* 1931;48:89-97.
21. Ayman D. An evaluation of therapeutic results in essential hypertension. II. The interpretation of blood pressure reductions. *JAMA.* 1931;96: 2091-2094
22. Rigat, Brigitte, et al. "An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels." *Journal of Clinical Investigation* 86.4 (1990): 1343.
23. Schmidt, Susanne, et al. "Polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene is apparently not related to high blood pressure: Dutch Hypertension and Offspring Study." *Journal of hypertension* 11.4 (1993): 345-348.
24. Li, Xiaotao, et al. "Correlation of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism with effect of antihypertensive therapy by angiotensin-converting enzyme inhibitor." *Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics* 8.1 (2003): 25-30.

25. Ueda, Shinichiro, et al. "ACE (I/D) genotype as a predictor of the magnitude and duration of the response to an ACE inhibitor drug (enalaprilat) in humans." *Circulation* 98.20 (1998): 2148-2153.
26. Stavroulakis, George A., et al. "Predicting response to chronic antihypertensive treatment with fosinopril: the role of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism." *Cardiovascular drugs and therapy* 14.4 (2000): 427-432.
27. Hingorani, Aroon D., et al. "Renin-angiotensin system gene polymorphisms influence blood pressure and the response to angiotensin converting enzyme inhibition." *Journal of hypertension* 13.12 (1995): 1602-1609.
28. Pitt B, Poole-Wilson PA, Segal R, Martinez FA, Dickstein K, Camm AJ, Konstam MA, Riegger G, Klingner GH, Neaton J, Sharma D, Thiyagarajan B. Effect of losartan compared with captopril on mortality in patients with symptomatic heart failure: randomised trial--the Losartan Heart Failure Survival Study ELITE II. *Lancet*. 2000 May 6;355(9215):1582-7.
29. Cohn JN, Tognoni G; Valsartan Heart Failure Trial Investigators. A randomized trial of the angiotensin-receptor blocker valsartan in chronic heart failure. *N Engl J Med*. 2001 Dec 6; 345(23): 1667-75
30. Thomas MC, Atkins RC. Blood pressure lowering for the prevention and treatment of diabetic kidney disease. *Drugs*. 2006;66(17):2213-34. Review
31. Schrader J, Kulschewski A, Dendorfer A. Inhibition of the renin-angiotensin system and the prevention of stroke. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2007;7(1):25-37
32. Kurland L, Melhus H, Karlsson J et al. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism predicts blood pressure response to angiotensin II receptor type 1 antagonist treatment in hypertensive patients. *J Hypertens* 19(10), 1783-7 (2001).
33. Nordestgaard BG, Kontula K, Benn M et al. Effect of ACE insertion/deletion and 12 other polymorphisms on clinical outcomes and response to treatment in the LIFE study. *Pharmacogenet Genomics* 20(2), 77-85 (2010).
34. Suonsyrjä T, Hannila-Handelberg T, Fodstad H, Donner K, Kontula K, Hiltunen TP. Renin-angiotensin system and alpha-adducin gene polymorphisms and their relation to responses to antihypertensive drugs: results from the GENRES study. *Am J Hypertens* 22(2), 169-75 (2009).
35. Berge, K. E., and K. Berg. "Polymorphisms at the angiotensinogen (AGT) and angiotensin II type 1 receptor (AT1R) loci and normal blood pressure." *Clinical genetics* 53.3 (1998): 214-219.

36. Ortlepp JR, Hanrath P, Mevissen V, Kiel G, Borggreffe M, Hoffmann R. Variants of the CYP11B2 gene predict response to therapy with candesartan. *Eur J Pharmacol* 445(1-2), 151-2 (2002).
37. Arnett, Donna K., Steven A. Claas, and Stephen P. Glasser. "Pharmacogenetics of antihypertensive treatment." *Vascular pharmacology* 44.2 (2006): 107-118.
38. Hiltunen TP, Suonsyrjä T, Hannila-Handelberg T et al. Predictors of antihypertensive drug responses: initial data from a placebo-controlled, randomized, cross-over study with four antihypertensive drugs (The GENRES Study). *Am J Hypertens* 20(3), 311-8 (2007)
39. Materson, Barry J., et al. "Single-Drug Therapy for Hypertension in Men--A Comparison of Six Antihypertensive Agents with Placebo." *New England Journal of Medicine* 328.13 (1993): 914-921.
40. Mellen, Philip B., and David M. Herrington. "Pharmacogenomics of blood pressure response to antihypertensive treatment." *Journal of hypertension* 23.7 (2005): 1311-1325.
41. Sofowora, G. G., et al. "A common β 1-adrenergic receptor polymorphism (Arg389Gly) affects blood pressure response to β -blockade*." *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 73.4 (2003): 366-371.
42. Liu, Jie, et al. "Gly389Arg polymorphism of β 1-adrenergic receptor is associated with the cardiovascular response to metoprolol*." *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 74.4 (2003): 372-379.
43. Filigheddu, F., et al. "Genetic polymorphisms of the beta-adrenergic system: association with essential hypertension and response to beta-blockade." *The pharmacogenomics journal* 4.3 (2004): 154-160.
44. Jia, Haiyan, et al. "Association of the Gsa gene with essential hypertension and response to β -blockade." *Hypertension* 34.1 (1999): 8-14.
45. Filigheddu, F., et al. "Genetic polymorphisms of the beta-adrenergic system: association with essential hypertension and response to beta-blockade." *The pharmacogenomics journal* 4.3 (2004): 154-160.
46. Filigheddu, Fabiana, et al. "Haplotypes of the adrenergic system predict the blood pressure response to β -blockers in women with essential hypertension." *Pharmacogenomics* 11.3 (2010): 319-325.
47. Kurland, Lisa, et al. "Angiotensinogen gene polymorphisms: relationship to blood pressure response to antihypertensive treatment: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs Atenolol (SILVHIA) trial." *American journal of hypertension* 17.1 (2004): 8-13.
48. Staessen, Jan A., et al. "M235T angiotensinogen gene polymorphism and cardiovascular renal risk." *Journal of hypertension* 17.1 (1999): 9-17.

49. Dudley, Christopher, et al. "Prediction of patient responses to antihypertensive drugs using genetic polymorphisms: investigation of renin-angiotensin system genes." *Journal of hypertension* 14.2 (1996): 259-262.
50. Anderson, C. A., et al. "Data quality control in genetic case-control association studies." *Nature protocols* 5.9 (2010): 1564-1573.
51. Patterson N, Price AL, Reich D: Population structure and eigenanalysis. *PLoS Genet* 2, 2074-2093 (2006).
52. Cui, Jing, et al. "Sequence variation of bradykinin receptors B1 and B2 and association with hypertension." *Journal of hypertension* 23.1 (2005): 55-62.
53. Braun, Andreas, et al. "Polymorphisms in the gene for the human B 2-bradykinin receptor. New tools in assessing a genetic risk for bradykinin-associated diseases." *Immunopharmacology* 33.1 (1996): 32-35.
54. Regoli, D., and J. Barabe. "Pharmacology of bradykinin and related kinins." *Pharmacological reviews* 32.1 (1980): 1-46.
55. Fu, Yuxiao, et al. "Relationship of bradykinin B2 receptor gene polymorphism with essential hypertension and left ventricular hypertrophy." *Hypertension Research* 27.12 (2004): 933-938
56. Siragy HM (1993) Evidence that intrarenal bradykinin plays a role in regulation of renal function. *Am J Physiol* 265: E648–E654
57. Braun, Andreas, et al. "Polymorphisms in the gene for the human B 2-bradykinin receptor. New tools in assessing a genetic risk for bradykinin-associated diseases." *Immunopharmacology* 33.1 (1996): 32-35
58. Yy, Li, et al. "Bradykinin β 2 Receptor– 58T/C Gene Polymorphism and Essential Hypertension: A Meta-Analysis." *PloS one* 7.8 (2012): e43068
59. Miano JM, Topouzis S, Majesky MW, Olson EN. Retinoid receptor expression and all-*trans* retinoic acid–mediated growth inhibition in vascular smooth muscle cells. *Circulation*. 1996;93:1886 –1895
60. Wang, Lu, et al. "Common genetic variations in the vitamin D pathway in relation to blood pressure." *American journal of hypertension* 2014
61. Pilz, Stefan, et al. "Vitamin D status and arterial hypertension: a systematic review." *Nature Reviews Cardiology* 6.10 (2009): 621-630
62. Kurtz, Theodore W., and David G. Gardner. "Transcription-Modulating Drugs A New Frontier in the Treatment of Essential Hypertension." *Hypertension* 32.3 (1998): 380-386
63. Iglarz, Marc, et al. "Effect of Peroxisome Proliferator–Activated Receptor- α and- γ Activators on Vascular Remodeling in Endothelin-Dependent Hypertension." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 23.1 (2003): 45-51

64. Yang, Zhiyong, et al. "Identification of a Novel Polymorphism in the 3' UTR of the L-Arginine Transporter Gene SLC7A1 Contribution to Hypertension and Endothelial Dysfunction." *Circulation* 115.10 (2007): 1269-1274.
65. Määttä, Kirsi, Tarja Kunnas, and Seppo T. Nikkari. "Contribution of SLC7A1 genetic variant to hypertension, the TAMRISK study." *BMC medical genetics* 14.1 (2013): 69.
66. Rajapakse, N. W., et al. "Augmented endothelial-specific L-arginine transport prevents obesity-induced hypertension." *Acta Physiologica* 212.1 (2014): 39-48.
67. Marin, Ethan P., et al. "Endothelial cell palmitoylproteomic identifies novel lipid-modified targets and potential substrates for protein acyl transferases." *Circulation research* 110.10 (2012): 1336-1344.
68. Liu J, Garcia-Cardena G, Sessa WC Biosynthesis and palmitoylation of endothelial nitric oxide synthase: mutagenesis of palmitoylation sites, cysteines-15 and/or -26, argues against depalmitoylation-induced translocation of the enzyme. *Biochemistry*. 1995;34:12333–12340.
69. Fernández-Hernando, Carlos, et al. "Identification of Golgi-localized acyl transferases that palmitoylate and regulate endothelial nitric oxide synthase." *The Journal of cell biology* 174.3 (2006): 369-377.
70. Ferraro F, Ma XM, Sobota JA, Eipper BA, Mains RE (2007) Kalirin/Trio Rho guanine nucleotide exchange factors regulate a novel step in secretory granule maturation. *Mol Biol Cell* 18:4813–4825
71. Ratovitski, Edward A., et al. "Kalirin inhibition of inducible nitric-oxide synthase." *Journal of Biological Chemistry* 274.2 (1999): 993-999
72. Wang, Liyong, et al. "Peakwide mapping on chromosome 3q13 identifies the kalirin gene as a novel candidate gene for coronary artery disease." *The American Journal of Human Genetics* 80.4 (2007): 650-663
73. Niu, Yuxin, et al. "Genetic Variation in the β 2 Subunit of the Voltage-Gated Calcium Channel and Pharmacogenetic Association With Adverse Cardiovascular Outcomes in the INternational VERapamil SR-TRandolapril STudy GENetic Substudy (INVEST-GENES)." *Circulation: Cardiovascular Genetics* 3.6 (2010): 548-555.
74. Levy, Daniel, et al. "Genome-wide association study of blood pressure and hypertension." *Nature genetics* 41.6 (2009): 677-687.
75. Lin, Yinghua, et al. "Genetic variations in CYP17A1, CACNB2 and PLEKHA7 are associated with blood pressure and/or hypertension in She ethnic minority of China." *Atherosclerosis* 219.2 (2011): 709-714.
76. Hong, G. L., et al. "Genetic variations in MOV10 and CACNB2 are associated with hypertension in a Chinese Han population." *Genetics and molecular research: GMR* 12.4 (2013): 6220.

77. Johnson, Julie A. "Advancing management of hypertension through pharmacogenomics." *Annals of medicine* 44.sup1 (2012): S17-S22.
78. Schmid, Johannes A., and Andreas Birbach. "IkB kinase β (IKK β /IKK2/IKBKB)—A key molecule in signaling to the transcription factor NF- κ B." *Cytokine & growth factor reviews* 19.2 (2008): 157-165.
79. Basson, Jacob J., Lisa de las Fuentes, and Dabeeru C. Rao. "Single Nucleotide Polymorphism—Single Nucleotide Polymorphism Interactions Among Inflammation Genes in the Genetic Architecture of Blood Pressure in the Framingham Heart Study." *American journal of hypertension* (2014): hpu132.
80. Gloerich M, Bos JL. Epac: defining a new mechanism for cAMP action. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2010;50:355–75.
81. Lincoln TM, Komalavilas P, Boerth NJ, MacMillan-Crow LA, Cornwell TL. cGMP signaling through cAMP- and cGMP-dependent protein kinases. *Adv Pharmacol* 1995;34:305–22.
82. Ruiz-Hurtado, Gema, et al. "Epac in cardiac calcium signaling." *Journal of molecular and cellular cardiology* 58 (2013): 162-171.
83. Metrich M, Lucas A, Gastineau M, Samuel JL, Heymes C, Morel E, et al. Epac mediates beta-adrenergic receptor-induced cardiomyocyte hypertrophy. *Circ Res* 2008;102:959–65.
84. Pereira L, Metrich M, Fernandez-Velasco M, Lucas A, Leroy J, Perrier R, et al. The cAMP binding protein Epac modulates Ca²⁺ sparks by a Ca²⁺/calmodulin kinase signalling pathway in rat cardiac myocytes. *J Physiol* 2007;583:685–94.
85. Pereira, Laetitia, et al. "Epac enhances excitation–transcription coupling in cardiac myocytes." *Journal of molecular and cellular cardiology* 52.1 (2012): 283-291.
86. Zieba, Bartosz J., et al. "The cAMP-responsive Rap1 guanine nucleotide exchange factor, Epac, induces smooth muscle relaxation by down-regulation of RhoA activity." *Journal of Biological Chemistry* 286.19 (2011): 16681-16692.
87. Cullere, Xavier, et al. "Regulation of vascular endothelial barrier function by Epac, a cAMP-activated exchange factor for Rap GTPase." *Blood* 105.5 (2005): 1950-1955.
88. Yamada, Tomohiro, et al. "RA-RhoGAP, Rap-activated Rho GTPase-activating protein implicated in neurite outgrowth through Rho." *Journal of Biological Chemistry* 280.38 (2005): 33026-33034.
89. Verbeek, Elly, et al. "COL4A2 mutation associated with familial porencephaly and small-vessel disease." *European Journal of Human Genetics* 20.8 (2012): 844-851.

90. Levinsson, Anna, et al. "Nitric oxide synthase (NOS) single nucleotide polymorphisms are associated with coronary heart disease and hypertension in the INTERGENE study." *Nitric Oxide* 39 (2014): 1-7.
91. Arking, Dan E., et al. "A common genetic variant in the NOS1 regulator NOS1AP modulates cardiac repolarization." *Nature genetics* 38.6 (2006): 644-651.
92. Tobin, Martin D., et al. "Gender and effects of a common genetic variant in the NOS1 regulator NOS1AP on cardiac repolarization in 3761 individuals from two independent populations." *International journal of epidemiology* 37.5 (2008): 1132-1141.
93. Pollock, Jennifer S., and David M. Pollock. "Endothelin and NOS1/nitric oxide signaling and regulation of sodium homeostasis." *Current opinion in nephrology and hypertension* 17.1 (2008): 70-75.
94. Ortiz PA, Hong NJ, Garvin JL. NO decreases thick ascending limb chloride absorption by reducing Na-K-2Cl cotransporter activity. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 281:F819–F825.
95. Hyndman, Kelly A., et al. "Renal Collecting Duct NOS1 Maintains Fluid–Electrolyte Homeostasis and Blood Pressure." *Hypertension* 62.1 (2013): 91-98.
96. Natarajan, Vasanti, et al. "Characterization of the human gene encoding the type I α and type I β cGMP-dependent protein kinase (PRKG1)." *Genomics* 42.2 (1997): 311-318.
97. Michael, Simon K., et al. "High blood pressure arising from a defect in vascular function." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105.18 (2008): 6702-6707.
98. Joyce, N. C., et al. "cGMP-dependent protein kinase is present in high concentrations in contractile cells of the kidney vasculature." *Journal of cyclic nucleotide and protein phosphorylation research* 11.3 (1985): 191-198.
99. Gambaryan, Stepan, et al. "Endogenous or overexpressed cGMP-dependent protein kinases inhibit cAMP-dependent renin release from rat isolated perfused kidney, microdissected glomeruli, and isolated juxtaglomerular cells." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95.15 (1998): 9003-9008.
100. Hofmann, Franz. "The biology of cyclic GMP-dependent protein kinases." *Journal of Biological Chemistry* 280.1 (2005): 1-4.
101. Ignarro, Louis J., and Philip J. Kadowitz. "The pharmacological and physiological role of cyclic GMP in vascular smooth muscle relaxation." *Annual review of pharmacology and toxicology* 25.1 (1985): 171-191.
102. Abboud, François M., and Christopher J. Benson. "ASICs and cardiovascular homeostasis." *Neuropharmacology* (2015).

103. Lu, Yongjun, et al. "The ion channel ASIC2 is required for baroreceptor and autonomic control of the circulation." *Neuron* 64.6 (2009): 885-897.
104. Herrera, Victoria L., et al. "A Functional 12T-Insertion Polymorphism in the ATP1A1 Promoter Confers Decreased Susceptibility to Hypertension in a Male Sardinian Population." *PloS one* 10.1 (2015).
105. den Hoed, Marcel, et al. "Identification of heart rate-associated loci and their effects on cardiac conduction and rhythm disorders." *Nature genetics* 45.6 (2013): 621-631.

RINGRAZIAMENTI

A mamma e papà, la luce che illumina il mio cammino anche nei percorsi più difficili.

Al mio piccolo angelo che è volato in cielo prima che potessi abbracciarlo...quell'amore immenso mi ha riempito il cuore anche se per pochi attimi.

A Massimo che ha condiviso con me percorsi di vita, senza lui non avrei intrapreso questo viaggio.

Al Prof. Nicola Glorioso che continua ad essere la mia guida nella professione e nella ricerca.

A Wanda, Roberta, Maria Francesca, Daniela, Giovanni che mi hanno sostenuto con il loro affetto e la loro amicizia.

A Dr. Oppes che ha creduto in me sin dall'inizio.

A Piera, Cristina, Chicco, Dial, agli amici del passato e a quelli del presente per l'amore e la stima che mi hanno da sempre dimostrato.

Anche un viaggio di migliaia di miglia incomincia con un singolo passo....