

Estudo da influência do polimorfismo da enzima conversora de angiotensina em casos de hipertensão

Study of the influence of angiotensin-converting enzyme polymorphism in cases of hypertension

 <https://doi.org/10.56238/cienciasaudeestuepsv1-006>

Melina Fernandes Castro

Rafael Barbosa De Almeida

Paulo Roberto Martins Queiroz

RESUMO

A OMS estima que cerca de 1,13 bilhão de pessoas no mundo tenham Hipertensão Arterial (HA), e esse número pode chegar a 1,56 bilhão em 2025, sendo considerada a maior causa de morte prematura mundialmente. O sistema renina angiotensina aldosterona é uma das vias mais importantes na patogênese e tratamento da hipertensão. Nesse sentido, a investigação de fatores genéticos relacionados à enzima conversora de angiotensina (ECA) é de fundamental importância para o esclarecimento dos fatores que contribuem para a hipertensão. Os objetivos desse trabalho foram realizar o levantamento da frequência alélica da enzima conversora de angiotensina I (ECA) em indivíduos normais e hipertensos e relacionar os hábitos de vida dos participantes da pesquisa com o polimorfismo da ECA. O trabalho foi realizado em três etapas sendo: 1) uma meta-análise de artigos publicados entre 2011 e 2021; 2) a análise do polimorfismo do gene ECA por PCR-RFLP; 3) levantamento da qualidade de vida dos participantes da pesquisa por meio da aplicação de um questionário aplicado a 68 participantes da pesquisa. A meta-análise demonstrou que o genótipo DD mostrou-se um importante contribuinte para a suscetibilidade da prevalência de casos de hipertensão nos estudos analisados, enquanto os genótipos ID e II apresentam-se em maior frequência no grupo controle. A análise do polimorfismo do gene ECA determinado pela técnica de PCR-RFLP identificou que a distribuição dos genótipos foi: DD (49%), ID (36%) e II (15%), não apresentando diferença significativa na distribuição ($p < 0,05$). A frequência alélica observada

para a variante alélica D foi de 0,67 e para a variante I foi de 0,33. A análise do questionário de qualidade de vida demonstrou que os pais dos participantes da pesquisa, em sua maioria, não apresentavam histórico de pressão arterial, o que pode ser um item importante para proteção cardiovascular dos participantes da pesquisa. Além disso, a conduta dos participantes da pesquisa não se mostra de risco, ou seja, parte importante dessa população não tem aderência ao alcoolismo e tabagismo, fatores importantes para uma elevação dos riscos cardiovasculares. Ainda, na análise do questionário, observou-se que a maioria dos participantes da pesquisa possui IMC dentro do perfil de normalidade, uma vez que, a condição de obesidade é um fator chave para a evolução da elevação dos riscos à saúde cardiovascular do indivíduo. Dessa forma, observa-se que a população amostrada poderia ser usada como um grupo controle para futuros estudos comparativos com outras populações previamente selecionadas para estudo de riscos cardiovasculares.

Palavras-chave: ECA, PCR-RFLP, Polimorfismo, Qualidade de vida, Saúde.

ABSTRACT

The WHO estimates that about 1.13 billion people worldwide have Arterial Hypertension (AH), and this number may reach 1.56 billion by 2025, being considered the leading cause of premature death worldwide. The renin angiotensin aldosterone system is one of the most important pathways in the pathogenesis and treatment of hypertension. In this sense, the investigation of genetic factors related to the angiotensin-converting enzyme (ACE) is of fundamental importance to clarify the factors that contribute to hypertension. The objectives of this study were to survey the allele frequency of angiotensin I-converting enzyme (ACE) in normal and hypertensive individuals and to relate the life habits of the research participants with the ACE polymorphism.

The study was conducted in three stages: 1) a meta-analysis of articles published between 2011 and 2021; 2) analysis of the ACE gene polymorphism by PCR-RFLP; 3) survey of the quality of life of research participants through the application of a questionnaire applied to 68 research participants. The meta-analysis showed that the DD genotype was an important contributor to the susceptibility to hypertension prevalence in the studies analyzed, while the ID and II genotypes were more frequent in the control group. The analysis of the ACE gene polymorphism determined by the PCR-RFLP technique identified that the distribution of genotypes was: DD (49%), ID (36%) and II (15%), with no significant difference in distribution ($p < 0.05$). The allele frequency observed for the D allelic variant was 0.67 and for variant I was 0.33. The analysis of the quality of life questionnaire showed that the parents of the research participants mostly had no history of blood pressure, which may be

an important item for cardiovascular protection of the research participants. Moreover, the behavior of the research participants does not show to be risky, i.e., an important part of this population does not have adherence to alcoholism and smoking, important factors for an increase in cardiovascular risks. Still, in the analysis of the questionnaire, it was observed that most research participants have BMI within the normality profile, since the obesity condition is a key factor for the evolution of increased risks to the cardiovascular health of the individual. Thus, it is observed that the sampled population could be used as a control group for future comparative studies with other populations previously selected for cardiovascular risk studies.

Keywords: ACE, CRP-RFLP, Polymorphism, Quality of life, Health.

1 INTRODUÇÃO

A enzima conversora de angiotensina (ECA) é produzida através da clivagem de uma carboxipeptidase entre os aminoácidos arg663 e ser664. É uma megaloprotease de zinco que atua na conversão de angiotensina I em angiotensina II, além de ser o agente na inativação de bradicinina (BUENO et al, 2013).

Está presente no endotélio dos vasos e no plasma sanguíneo. Sua concentração depende do polimorfismo genético que possui, sendo que indivíduos com o polimorfismo de deleção possuem maior quantidade de enzima circulante do que os demais (MATOS, 2006).

O aumento na quantidade da ECA influencia no desenvolvimento de cardiopatias, como casos de hipertensão arterial, uma vez que é um importante agente na vasoconstrição do organismo (CRISAN; CARR, 2000). Também há estudos que indicam relação de hereditariedade da patologia citada devido a altos índices dessa enzima.

Esse estudo é proposto visando entender a relação da enzima conversora de angiotensina em casos de hipertensão, estudando a interferência de seu polimorfismo, casos de hereditariedade e ação de seus inibidores.

Um dos mecanismos que o corpo humano utiliza para controlar a pressão arterial é o sistema renina-angiotensina (NEGRÃO; BARRETTO, 2006). A renina é sintetizada e armazenadas em células específicas dos rins e liberada quando há um decréscimo da pressão sanguínea. Após entrar na corrente sanguínea, essa enzima converte o angiotensinogênio circulante em angiotensina I (PORTH; GROSSMAN, 2019). A angiotensina I é inativa, portanto, para que tenha algum efeito no organismo, é necessário que ela seja convertida em angiotensina II (COSTANZO, 2015). Essa etapa acontece durante a circulação pulmonar

onde a enzima conversora de angiotensina (ECA), presente no endotélio dos vasos pulmonares – e no plasma (MATOS, 2006) -, catalisa a conversão de angiotensina I em angiotensina II, um potente vasoconstritor (PORTH; GROSSMAN, 2019).

Além de participar da regulação da pressão arterial, a atuação da ECA também reflete nos mecanismos de regulação do equilíbrio hidroeletrólítico. A conversão de angiotensina I em angiotensina II promove, nos rins, o armazenamento de sal e água e efeito antinatriurético (SANTOS et al., 2000).

Seja na regulação da pressão arterial ou atuando nos rins, os níveis da ECA são proporcionais a sua concentração que, por sua vez, é determinada de acordo com o polimorfismo genético que essa enzima possui (BUENO et al., 2013).

O polimorfismo acontece no cromossomo 17, no íntron 16 do gene da ECA e ocorre através da inserção (I) ou deleção (D) do fragmento Alu com, aproximadamente, 287 pb. Como consequência, é possível encontrar três genótipos para essa enzima: II e DD, ambos homocigotos e I/D, heterocigoto (COSTA et al, 2009). Indivíduos com genótipo DD possuem maior concentração de ECA circulante o que resulta no aumento da produção de angiotensina II (NEGRÃO; BARRETTO, 2010). No genótipo II ocorre uma diminuição na produção da ECA enquanto no I/D essa produção é intermediária (BUENO et al., 2013).

A elevação da quantidade de angiotensina II promove um aumento da pressão sanguínea, uma vez que a atividade vasoconstritora do hormônio será incentivada (NEGRÃO; BARRETTO, 2010). Essa elevação favorece o surgimento de doenças cardíacas como a hipertensão (MATOS, 2006).

No estudo feito por O'Donnell et al. (1998) foram coletadas amostras de sangue de 3095 pessoas, sendo 1445 homens e 1650 mulheres. Ele afirmou que existem provas de que, em um grupo controlado, indivíduos com o genótipo DD possuem hipertensão arterial, contudo ele ressalta que ainda faltam estudos que comprovem essa teoria em uma população maior.

Para combater a ação da vasoconstrição, medicamentos que inibem a ação dessa enzima foram desenvolvidos. Em síntese, eles agem promovendo uma limitação a atividade enzimática da ECA e, como consequência, proporcionam a vaso dilatação de arteríolas e veias. Porém, a administração dessas drogas prejudica funções renais, como a absorção de potássio, e pode gerar casos de hipercalemia (PORTH; GROSSMAN, 2019).

Um outro medicamento que também pode ser citado são os bloqueadores do receptor da angiotensina I. No estudo feito por van Vark et al (2012), houve redução 10% dos óbitos de pacientes que utilizaram bloqueadores da ECA, enquanto nos usuários que tomavam bloqueadores do receptor da Angiotensina I não houve nenhum decréscimo no índice de mortalidade.

Badenhop et al. (1995) propuseram que o polimorfismo da enzima conversora de angiotensina, além de estar associado com patologias cardíacas, também seria hereditário, atingindo familiares de pacientes com histórico de infarto. Declarou que, crianças com genótipo DD ou ID, possuíam avós com algum tipo de doença coronária.

Das 17 milhões de pessoas que morrem de doenças cardíacas todo ano, a hipertensão é responsável por 45% delas. Essa condição pode se dar pela elevação da quantidade de angiotensina II. A hipertensão em muitos casos é uma condição assintomática que pode evoluir a longo prazo com lesão importante cardíaca vascular e renal. A taxa de prevalência em jovens é baixa, mas há tendência de aumento com a idade.

Existem muitos trabalhos relacionando hipertensão a polimorfismo, mas não há trabalhos descritos na literatura que estudem a presença do polimorfismo de ECA entre a população do Distrito Federal. Além disso, o estudo em população universitária, predominantemente de jovens, pode permitir associações não descritas até o momento, principalmente caso variantes associadas à hipertensão sejam identificadas em indivíduos antes da manifestação hipertensiva.

O conhecimento de variações em pequenos grupos populacionais auxilia no entendimento de como estes achados interferem na prevalência populacional de hipertensão, ajudando a descrever grupos com maior ou menor tendência a essas alterações de pressão na população, pois o entendimento da variação pode ser de extrema utilidade na elaboração de definição de estratégias terapêuticas do uso de hipertensivos.

A correlação dos achados do trabalho com as respostas do questionário pode permitir a associação com hereditariedade. Além disso, o comportamento do polimorfismo em diferentes populações pode, no futuro, permitir a terapia molecular voltada para o controle de cada tipo polimórfico.

O objetivo desse estudo foi realizar o levantamento da frequência alélica da enzima conversora de angiotensina I (ECA) em indivíduos normais e hipertensos e relacionar os hábitos de vida dos participantes da pesquisa com o polimorfismo da ECA.

2 METODOLOGIA

Aprovação ética

Inicialmente, o projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Centro Universitário de Brasília – CEUB. Após a aprovação pelo CEP, o mesmo foi aplicado mantendo-se a integridade, a individualidade, a confidencialidade, o sigilo e a inviolabilidade dos dados obtidos a partir dos participantes da pesquisa. O projeto foi aprovado em 04 de dezembro de 2019, recebendo o CAAE: 43484721.1.0000.0023, sob o parecer número 4.605.363.

Os dados obtidos dos participantes da pesquisa seguiram as orientações que estão preconizadas na Resolução nº 466/12, do Conselho Nacional de Saúde (CNS) que aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos, a Constituição Federal de 1988, o Pacto Internacional sobre os Direitos Civis e Econômicos, a Convenção Americana sobre os Direitos Humanos, e mais recentemente a Lei n. 13.709, de 14 de agosto de 2018, que dispõe sobre a proteção de dados pessoais e a Lei n. 13.787, de 17 de dezembro de 2018, que trata da digitalização e da utilização de sistemas informatizados para a guarda, armazenamento e manuseio de prontuário de paciente, além de outras normas do ordenamento jurídico brasileiro.

A manipulação do material genético dos participantes da pesquisa seguiu o disposto na Resolução Nº 340, de 8 de julho de 2004 que trata das Diretrizes para Análise Ética e Tramitação dos Projetos de Pesquisa da Área Temática Especial de Genética Humana, seguindo-se a legislação que vigora e ordena a manutenção de material genético humano em biorrepositório, reservatórios cujos materiais biológicos coletados ficam armazenados ao longo da pesquisa específica, sob responsabilidade institucional e sob gerenciamento do pesquisador, sem haver fins comerciais.

Local

A coleta de células da mucosa da boca, processamentos e análises dos resultados foram feitos nos laboratórios do Labocien do UniCEUB.

Recrutamento e coleta de dados do participante

Inicialmente foram selecionados 50 participantes da pesquisa maiores de 18 anos pertencentes à comunidade acadêmica do CEUB, recrutados mediante convite de forma presencial.

Critério de inclusão

Considerou-se como critério de inclusão aqueles participantes da pesquisa que tinham idade superior a 18 anos, e que aceitaram o convite feito pelos pesquisadores para participar do projeto e que assinaram o TCLE.

Critério de exclusão

Considerou-se como critério de exclusão os participantes da pesquisa que não se dispuseram a assinar o TCLE ou que não aceitaram o convite feito pelos pesquisadores. Também foram excluídos da pesquisa quaisquer participantes que no momento da coleta das células da mucosa da boca estiveram acometidos por alguma patologia de natureza temporária (por exemplo, gripe ou resfriado).

Riscos

Os riscos foram devidos à coleta das células da mucosa da boca. O procedimento foi realizado segundo os padrões estabelecidos na literatura e sob a orientação do professor orientador, em meios assépticos e com uso de Equipamentos de Proteção Individual, obedecendo as normas de biossegurança.

Benefícios

O participante da pesquisa teve como benefício a determinação do seu polimorfismo genético relacionada à ECA e se este possui alguma alteração.

Critérios para suspensão ou encerramento da pesquisa

A pesquisa seria suspensa ou encerrada se houvessem desistências dos participantes ou se o número de amostras fosse inferior a 30.

O projeto foi encerrado ao término do período de vigência do Programa de iniciação Científica do UniCEUB ano 2020/2021.

Formas de acompanhamento e assistência aos participantes

Os participantes da pesquisa receberam os resultados da análise genética mediante solicitação prévia. O sigilo quanto à identidade do doador foi mantido e ele não teve quaisquer despesas decorrentes da sua participação.

Ao término do período de realização do projeto, todas as amostras coletadas de DNA dos participantes da pesquisa foram encaminhadas para destruição, conforme o procedimento vigente pelo Labocien e seguindo as normas de biossegurança.

Consentimento livre e esclarecido

Os pesquisadores forneceram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) antes do início do estudo. Ao concordarem com o termo, os participantes preencheram um Questionário para a coleta de dados, que foi disponibilizado em um formulário através do Google Forms. Em sequência, o material genético dos participantes foi fornecido por meio da coleta de 15 ml de bochecho da mucosa bucal.

No questionário foram realizadas perguntas a respeito da qualidade de vida, incluindo os hábitos alimentares e as práticas de exercícios físicos, e a análise de predisposições genéticas interligadas a determinadas doenças. Também foram realizadas a pesagem e a medição da altura dos participantes da pesquisa para a realização da determinação do Índice de Massa Corporal (IMC) visando estabelecer critérios para o grau de obesidade, feito a partir do preceito estipulado pela Organização Mundial da Saúde (OMS).

Foram classificados como indivíduos obesos os participantes que obtiveram um valor 20 de IMC igual ou superior a 30 kg/m²; com sobrepeso entre 25 e 29,9 kg/m²; eutróficos de 18,5 a 24,9 kg/m²; e abaixo do peso (magreza) quando <18,5 kg/m².

Extração de DNA da mucosa da boca

A coleta de material e respectiva extração de DNA genômico foram realizadas nas instalações do Labocien, instituição pertencente ao CEUB. O DNA foi obtido a partir de células da mucosa bucal. Os participantes da pesquisa realizaram um bochecho de 30 segundos com 15 mL de água glicosada. Em seguida, foi realizada uma raspagem da mucosa bucal com uma espátula descartável, que foi homogeneizada nos 15 mL do bochecho previamente obtido.

Depois, 5 mL do conteúdo do bochecho foram transferidos, por meio de uma micropipeta automática, para um tubo de ensaio, no qual adicionou-se cloreto de sódio o suficiente para que a parte

inferior côncava do tubo fosse totalmente preenchida e, com movimentos cuidadosos, a solução foi agitada até a completa dissolução do sal. Em seguida, adicionou-se 500 µL de detergente diluído (1:4) e o tubo foi levado ao banho-maria regulado para uma temperatura de 55 °C durante 10 minutos.

Posteriormente, o tubo de ensaio contendo a solução foi resfriado por 5 minutos em um recipiente contendo água. Finalmente, foi adicionado lentamente ao tubo uma quantidade equivalente de 1 volume (6 mL) de álcool gelado para a formação de uma solução bifásica aquosa/etanólica. O precipitado de DNA foi coletado na fração alcoólica com pipeta Pasteur de plástico e depositado em um microtubo de 1,5 mL.

O DNA foi purificado por centrifugação a 12.000xg por 5 min. O sobrenadante foi dispensado e foram adicionados 500 µL de álcool 70%. O tubo foi centrifugado por 5 minutos a 12.000xg. Esse sobrenadante foi descartado e o procedimento de lavagem com álcool 70% repetido. Ao final, o DNA foi seco e ressuspensão com 100 µL de tampão TE 0,1X.

Diagnóstico da mutação da ECA

A presença da mutação da ECA foi determinada pela amplificação de um fragmento do íntron 16 do gene que codifica a enzima conversora de angiotensina pela reação em cadeia da polimerase (PCR).

A reação foi feita em 25 µL contendo tampão 1X, 2 mg/mL de Albumina Sérica Bovina (BSA), 8 pM de cada iniciador (ACE F: 5' CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT 3' e ACE R: 5' GTC TCG ATC TCC TGA CCT CGT G 3'), 0,2 mM de dNTP's, 1 U da enzima Taq DNA polimerase, água milliQ e 100 ng de DNA.

Os parâmetros utilizados na reação foram: uma etapa inicial de 2 minutos a 94 °C, quarenta ciclos de 1 minuto (desnaturação) a 94 °C, 1 minuto (anelamento) a 66 °C e 1 minuto (extensão) a 72 °C. A reação sofreu uma etapa extra de extensão por 10 minutos, 72 °C.

O fragmento amplificado foi digerido com a enzima de restrição BsrBI (Biolabs®), de acordo com as instruções do fabricante, seguida de eletroforese em gel de agarose a 1,5% (Gibco-BRL), corado com brometo de etídio, para visualização em transiluminador ultravioleta (Ultra Lum) (PERSUHN et al., 2006).

Questionário de avaliação

Anteriormente à coleta das células da mucosa da boca, os sujeitos da pesquisa responderam um questionário visando o levantamento de possíveis padrões alimentares (Anexo I).

Meta-análise

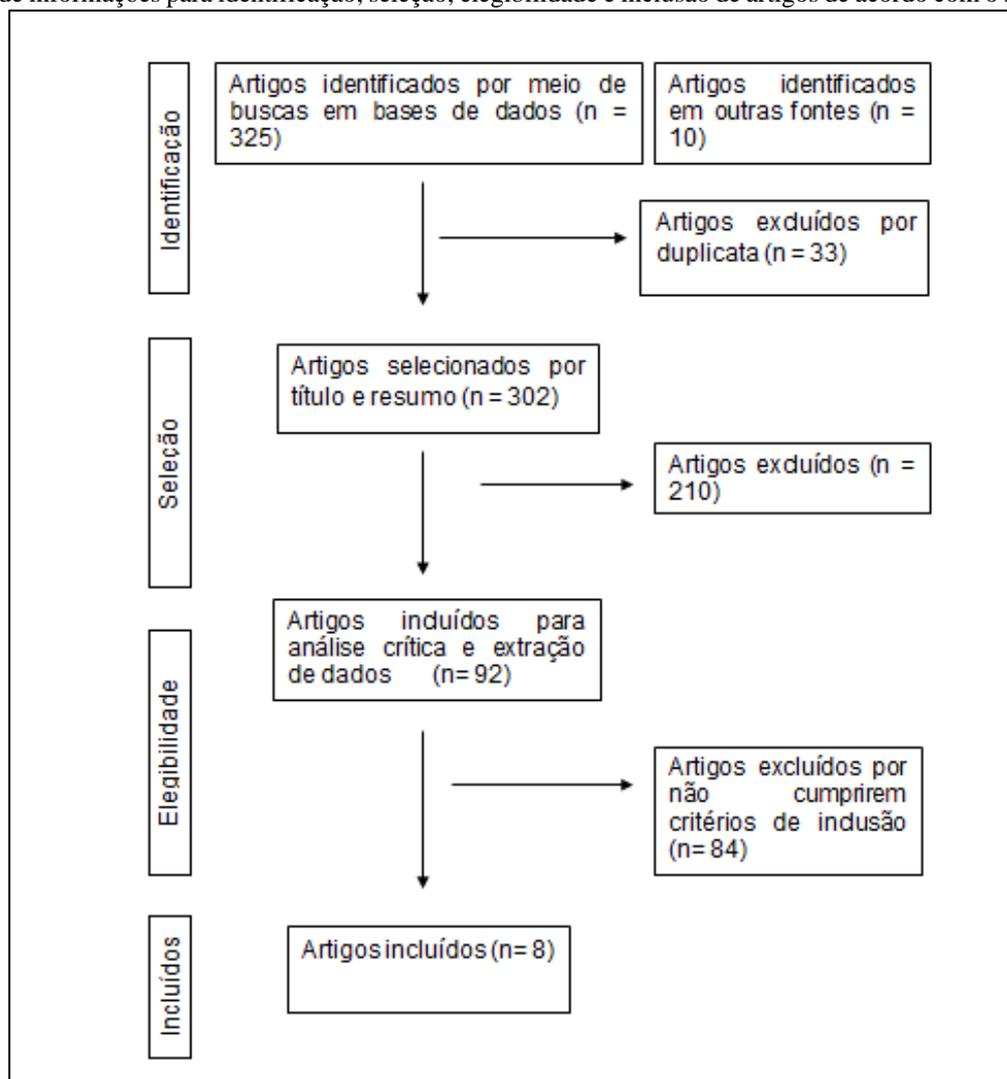
Pesquisaram-se os bancos de dados BVS, Pubmed e Science Direct na busca por artigos que investigassem a associação entre o polimorfismo do gene ECA ID e o risco de hipertensão arterial entre os anos de 2011 a 2021. Não houve restrição de idioma. A estratégia de busca para identificação dos estudos incluiu a utilização do Medical Subject Heading (MeSH) e dos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS). Os descritores utilizados foram: (“Hipertensão arterial” OR “Pressão sanguínea alta”) AND (“Enzima

conversora de angiotensina” OR “ECA”) AND (“Polimorfismo genético”). As listas de referência dos estudos e revisões incluídos também foram revisadas.

Foram inclusos estudos de caso-controle, realizados em humanos e que utilizassem a hipertensão como desfecho de interesse. Foram excluídos artigos que fossem relatos de casos ou revisões e estudos que investigassem o papel da ECA em outras doenças de maneira isolada. Foi definido um protocolo para extração de dados dos artigos completos, sendo extraídos: sobrenome do primeiro autor, ano de publicação, país de realização do estudo, idade e tamanho da amostra, além dos valores de pressão arterial sistólica e diastólica. Gene e polimorfismo foram calculados para grupos de caso e controle a partir da distribuição de genótipos correspondentes. Dois autores conduziram independentemente a extração e síntese dos dados, com qualquer discórdia resolvida por meio de discussão.

Na elaboração deste artigo, seguimos as recomendações do Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) (Figura 1).

Figura 1. Fluxo de informações para identificação, seleção, elegibilidade e inclusão de artigos de acordo com o sistema PRISMA.



Para a realização da meta-análise foi utilizado o programa RStudio for Windows versão 1.4.1106. A razão de probabilidade (OR) e intervalo de confiança de 95% (IC) foram utilizados para medir a força da associação entre o polimorfismo do gene da ECA ID e hipertensão entre os estudos. A heterogeneidade foi medida pela estatística I². A comparação dos efeitos de cada genótipo foi calculada através do modelo de efeitos fixos ou o modelo de efeitos aleatórios. O modelo de efeito aleatório foi utilizado se os estudos tivessem heterogeneidade e se não houvesse nenhum modelo de efeito fixo. Foram construídos modelos de Florest plot para todos os genótipos a fim de identificar o efeito de todos os estudos incluídos nesta meta-análise.

Oito estudos foram inclusos, sendo cada estudo de uma nacionalidade distinta. O tamanho da amostra variou de 61 a 1.980, sendo maior (1.980) em um estudo chinês conduzido por Zhang et al. (2018) e menor (61) em um estudo egípcio realizado por Zarouk et al. (2012). A idade das amostras ficou entre > 25 e < 75 anos. A pressão arterial média dos participantes foi diferente entre os estudos incluídos. A média de PAS / PAD foi mais alta em um estudo realizado no Brasil relatando um nível de PA de 201,0 (± 29,3) / 128,1 (± 18,0) (VILELA-MARTIN et al., 2013). E a média de PAS/PAD foi mais baixa em um estudo indiano que relatou um nível de PA de 145,5 (± 14,05) / 93,6 (± 8,09) (SRIVASTAVA et al., 2012).

A maioria dos estudos apresentaram frequências mais altas do genótipo DD em comparação com os genótipos ID e II no grupo de hipertensos; enquanto, no grupo controle, a distribuição variou dependendo do estudo. Um estudo determinou a associação do polimorfismo do gene ID em resposta a inibidores da ECA (Enalapril e Lisinopril). Um estudo avaliou outros genes possivelmente relacionados com a ocorrência de hipertensão, sendo eles: ECA ID rs4340, ECA A2350G rs4343, AGT T174M rs4762, AGT M235T rs699 AGTR1 A1166C rs5186, CYP11B2 - 344 C/T rs1799998, ADRB1 R389G rs1801253, ADRB2 R16G rs1042713, ADD1 G460W rs4961, SCNN1G G173A rs5718, GNB3 C825T rs5443, ATP2B1 A/G rs2681472, CYP17A1 T/C rs11191548, SLC4A2 C/T rs2303934 (SOUSA et al., 2018).

Abaixo, na Tabela 1 estão dispostos em ordem cronológica os dados extraídos de cada estudo.

Tabela 1. Características dos estudos incluídos na revisão sistemática e meta-análise.

ESTUDO/ANO/LOCAL	AMOSTRA		IDADE	HIPERTENSÃO	
	CASO	CONTROLE		PAS	PAD
SRIVASTAVA <i>et al.</i> , 2012 Índia	222	252	> 25 < 60 anos	145,5 ± 14,05	93,6 ± 8,09
ZAROUK <i>et al.</i> , 2012 Egito	40	21	> 40 < 70 anos	164,97 ± 23,12	99,18 ± 11,65
VILELA-MARTIN <i>et al.</i> , 2013 Brasil	187	75	> 45 < 75 anos	201,0 ± 29,3	128,1 ± 18,0
KOOFREH; ANUMUDU; KUMAR, 2014 Nigéria	612	612	> 20 < 60 anos	161,14 ± 13,26	93,25 ± 13,77
HEIDARI <i>et al.</i> , 2015 Malásia	72	72	> 30 < 60 anos	152,0 ± 13,0	94,6 ± 8,7
SOUSA <i>et al.</i> , 2018 Portugal	860	852	> 40 < 60 anos	147,5 ± 19,0	91,0 ± 11,9
ZHANG <i>et al.</i> , 2018 China	1024	956	< 60 anos	148,68 ± 18,76	91,61 ± 10,0
HADIAN <i>et al.</i> , 2020 Irã	102	104	> 40 < 60 anos	Não informado	Não informado

3 RESULTADOS

META-ANÁLISE

O forest plot para os três genótipos mostra a relação de cada estudo com os casos de hipertensão. As figuras mostram que a hipertensão foi associada com polimorfismo modelo DD, modelo ID e modelo II. Importante mencionar que houve heterogeneidade entre os estudos, que pode estar relacionada com a diferença no tamanho das amostras entre cada estudo. Pacientes com o genótipo DD foram 1,09 vezes mais propensos para desenvolver HA (OR: 1,09; IC 95%: 0,84; 1,43) (Figura 2). Da mesma forma pacientes com genótipo ID têm risco 1,01 vezes maior de desenvolver HA (OR: 1,01; IC 95%: 0,88; 1,16) (Figura 3). O risco da ocorrência de HA relacionada com o genótipo II mostrou-se semelhante com a do genótipo ID (OR: 1,01; IC 95%: 0,64; 1,60) (Figura 4).

Figura 2. Modelo forest plot para a descrição do genótipo DD.

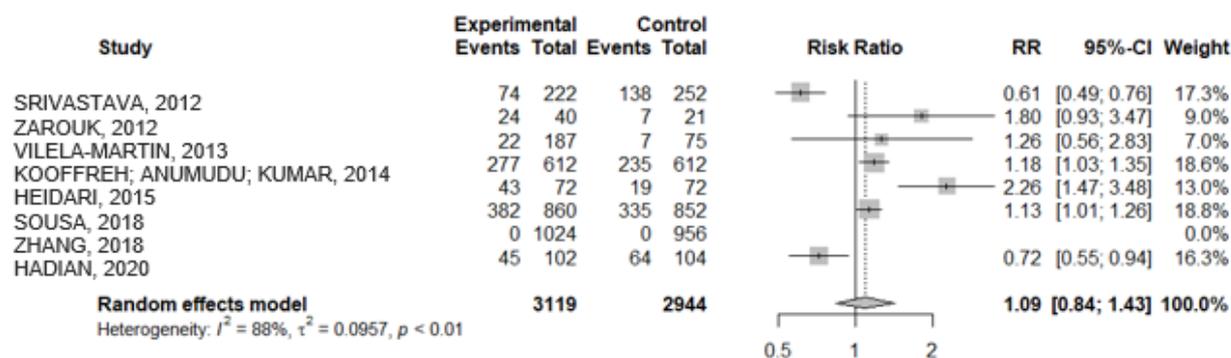


Figura 3. Modelo forest plot para a descrição do Genótipo ID.

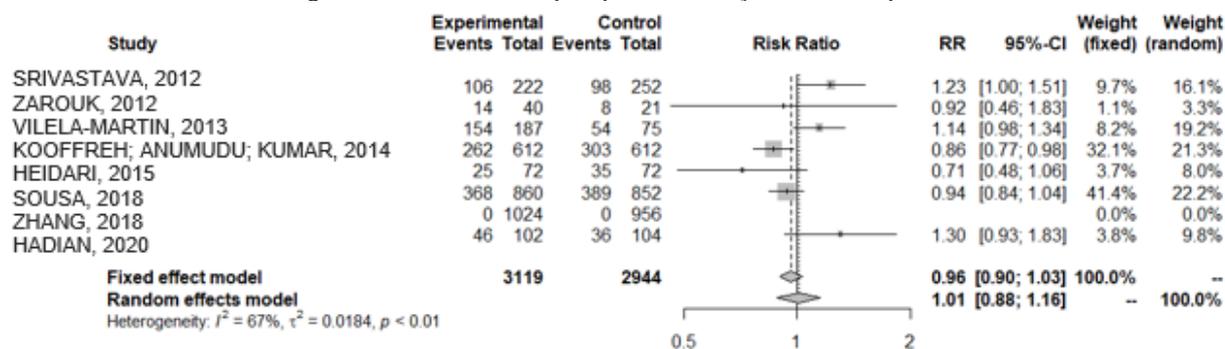
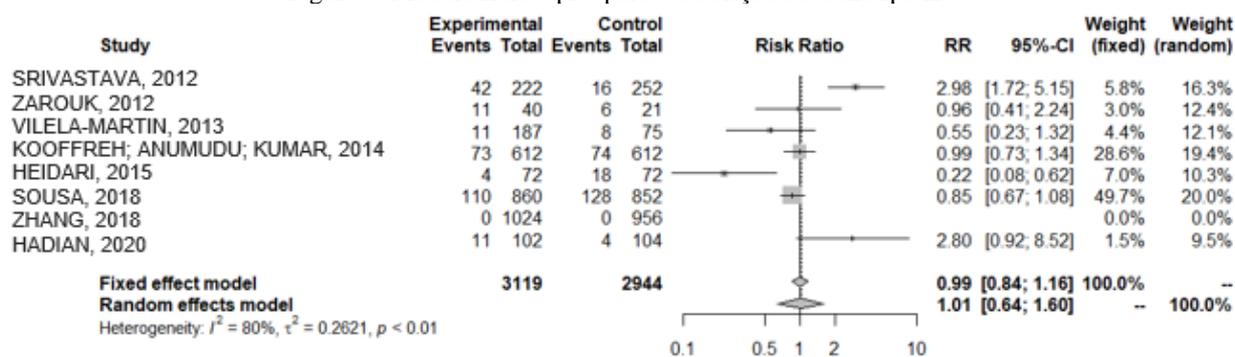


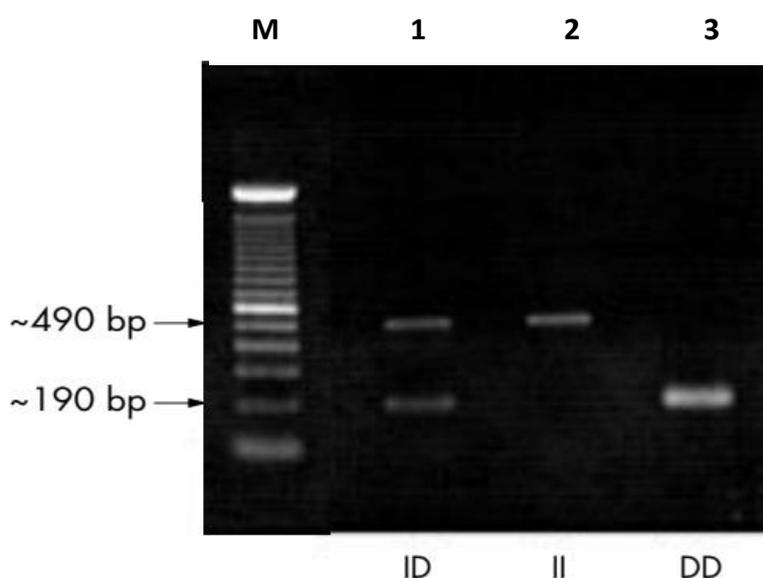
Figura 4. Modelo forest plot para a descrição do Genótipo II.



Análise do polimorfismo da ECA

Ao realizar o processamento das amostras após a técnica de PCR, foi possível observar como o gel de PCR-RFLP do gene da ECA foi obtido. A figura 5 mostra a distribuição das bandas de DNA, de forma representativa, na qual há o indicador de massa molecular 100 pb Ladder no gel, representado pela letra M; o perfil do genótipo ID (485 e 198 pb) apontado pelo número 1; o genótipo II com o fragmento de 485 pb indicado pelo número 2; e o genótipo DD com fragmento de 198 pb apontado pelo número 3.

Figura 5 – Gel representativo de PCR-RFLP do produto do gene da ECA. Gel de agarose corado com brometo de etídio revelando o perfil de amplificação dos alelos I (490 pb) e D (190 pb).



Na análise do gene ECA foram encontrados 3 genótipos (ID, II, DD) conforme a figura 5. Dos 50 participantes da pesquisa analisados, observou-se que a distribuição dos genótipos foi: DD (49%), ID (36%) e II (15%), não apresentando diferença significativa na distribuição ($p < 0,05$). A frequência alélica observada para a variante alélica D foi de 0,67 e para a variante I foi de 0,33.

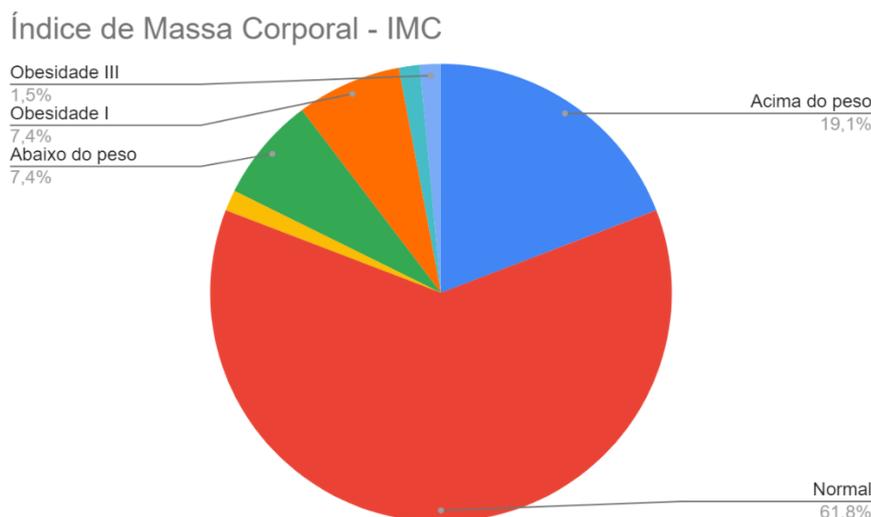
Análise do questionário

A aplicação do questionário de qualidade a 68 participantes da pesquisa permitiu identificar várias características dos participantes da pesquisa.

Observou-se que a população amostrada era composta por 80,9% de participantes do sexo masculino e 19,1% do sexo feminino.

Em seguida, avaliou-se o IMC dos participantes (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Determinação do IMC dos participantes da pesquisa.



Observou-se que a maioria se enquadrava no perfil de normalidade (61,8%). Foram encontrados participantes com obesidade tipo I (7,4%) e tipo III (1,5%). Foi possível identificar participantes abaixo do peso (7,4%).

Com relação ao participante da pesquisa possuir alguma doença respiratória observou-se que a maioria (88,2%) não possuía qualquer problema. Para os demais (11,8%) foram relatadas as condições de asma, rinite, sinusite e broncoespasmo induzido.

Com relação à prática do tabagismo a maioria (79,4%) relatou não fumar. E quando se perguntou àqueles indivíduos quando haviam interrompido a prática, 5,9% relataram ter parado de fumar na faixa etária entre 17 a 21 anos.

Com relação à prática do alcoolismo observou-se que 27,9% bebem menos de uma vez por mês, 20,6% não bebem, 17,6% bebem de 1 a 3 vezes por semana e 33,8% bebem de 1 a 3 vezes por mês. As principais bebidas ingeridas são cachaça, cerveja, gin, vinho e vodka.

Na avaliação se os parentais possuíam algum quadro já definido de hipertensão, 62,7% dos participantes disseram que o pai não apresentava hipertensão e 37,3% relataram o quadro de hipertensão paterna. Já analisando-se o quadro de hipertensão materna, 91,2% dos participantes disseram que a mãe não possuía quadro hipertensivo. Apenas 8,8% dos participantes possuíam mães com quadro de hipertensão relatado.

Avaliou-se também o nível de dificuldade na realização de tarefas pelos participantes da pesquisa (Tabela 2).

Tabela 2 – Classificação segundo os participantes da pesquisa a respeito do nível de dificuldade na execução de atividades.

Perguntas	Sim, dificulta muito (%)	Sim, dificulta um pouco (%)	Não, não dificulta de modo algum (%)
Atividades rigorosas, que exigem muito esforço, tais como correr, levantar objetos pesados, participar em esportes árduos.	45,6	25	29,4
Atividades moderadas, tais como mover uma mesa, passar aspirador de pó, jogar bola, varrer a casa.	4,4	20,6	75
Levantar ou carregar mantimentos	4,4	16,2	79,4
Subir vários lances de escada	20,6	45,6	33,8
Subir um lance de escada	2,9	13,2	83,8
Curvar-se, ajoelhar-se ou dobrar-se	7,4	17,6	75
Andar mais de 1 quilômetro	8,8	23,5	67,6
Andar vários quarteirões	14,9	49,3	35,8
Andar um quarteirão	5,9	25	69,1
Tomar banho ou vestir-se	0	2,9	97,1

Na avaliação geral das diversas condições de atividades, os participantes da pesquisa marcaram a opção “Não, não dificulta de modo algum” na execução de 10 atividades que foram apresentadas. Nessa condição, a maior restrição ficou no quesito andar vários quarteirões (35,8%). Esses dados se relacionam com o quadro geral de IMC, uma vez que, 62% apresentaram IMC dentro do padrão de normalidade.

Os participantes da pesquisa na opção: “Sim, dificulta um pouco” relataram andar vários quarteirões (49,3%) como a maior restrição.

Em seguida, realizou-se uma análise a respeito da percepção do participante da pesquisa com relação à sua saúde (Tabela 3).

Tabela 3 – Percepção dos participantes da pesquisa quanto a própria saúde.

Pergunta	Definitivamente verdadeiro (%)	A maioria das vezes verdadeiro (%)	Não sei (%)	A maioria das vezes falso (%)	Definitivamente falso (%)
Eu sou tão saudável quanto qualquer pessoa que conheço	10,3	27,9	23,5	29,4	8,8
Eu acho que minha saúde vai piorar	8,8	16,2	23,5	30,9	20,6
Minha saúde é excelente	7,4	48,5	14,7	19,1	10,3

Na análise dos dados apresentados observou-se que os participantes marcaram a resposta “A maioria das vezes falso” para as perguntas: Eu sou tão saudável quanto qualquer pessoa que conheço (29,4%); e Eu acho que minha saúde vai piorar (30,9%). E para a resposta “A maioria das vezes verdadeiro” para a condição: Minha saúde é excelente (48,5%).

Na análise geral das condições dos participantes da pesquisa observa-se que é uma população composta por indivíduos saudáveis com baixa adesão ao alcoolismo e tabagismo. Além disso, os pais não apresentam em sua maioria a hipertensão arterial como quadro de comorbidade. Essa população apresenta

IMC dentro da normalidade para a maioria e como uma percepção que a própria saúde seja excelente. Esses achados encontram suporte na questão feita a respeito da percepção da própria saúde, na qual 42,6% dos participantes da pesquisa reconheceram estar em “boas condições de saúde” e 38,2% em “muito boa” condição de saúde. Apenas 10,3% dos participantes relataram a condição “ruim”. Essa baixa porcentagem pode estar associada aos participantes com IMC de obesidade e abaixo do peso. Contudo, maiores investigações devem ser abordadas antes de fechar um consenso a respeito da população analisada.

4 DISCUSSÃO

Para a condução desse estudo formulou-se a hipótese de que variações genéticas da ECA poderiam estar relacionadas ao aumento da prevalência de hipertensão e, por isso, conhecer tais polimorfismos poderia ser útil no manejo e tratamento dessa síndrome. Assim, embora existam diferentes fatores ambientais que desempenham um papel para a PA elevada, estudos têm mostrado que a genética possui uma contribuição significativa (CAMARGO, 2020).

Nesse sentido, segundo os resultados do estudo de Sousa et al. (2018) as variantes genéticas analisadas que se associaram à HA foram a ECA ID rs4340, ECA A2350G rs4343, ADD1 G460W rs4961, GNB3 C825T rs5443. Os autores demonstraram que as duas primeiras variantes interferem no sistema renina-angiotensina-aldosterona, e que os genes que codificam os componentes desse sistema são candidatos naturais ao desenvolvimento e progressão da HA. Além disso, os autores salientaram que o grupo de hipertensos do estudo ainda possui elevado consumo de sal, o que poderia contribuir para o aparecimento de tais polimorfismos, relevantes na ingestão de sal e água e consequentemente, no aparecimento de hipertensão.

Outro estudo publicado no mesmo ano também investigou diferentes polimorfismos do gene da ECA na ocorrência de hipertensão em gêneros diferentes. Cinco polimorfismos de nucleotídeo único do gene ECA (rs1514283, rs4646155, rs4646176, rs2285666 e rs879922) foram determinados como associados de forma significativa com HA em participantes do sexo feminino do grupo de hipertensos, o mesmo não foi observado no sexo masculino. Os autores ainda pontuaram que as variantes genéticas da ECA além de desempenharem papel vital no desenvolvimento de hipertensão, podem predizer o desenvolvimento de disfunção cardíaca em pacientes com HA (ZHANG et al., 2018).

Evidenciado na maioria dos estudos incluídos nessa revisão sistemática e meta-análise como significativo preditor da ocorrência de HA, o polimorfismo Inserção/Deleção (ID) da ECA foi alvo de estudo de uma meta-análise publicada em 2012. O autor explicitou a associação desse polimorfismo à hipertensão em dois modelos, especificamente o modelo de contraste de alelo e o modelo recessivo, dominante e homocigoto co-dominante. Este estudo mostrou que o alelo D dominante é importante para o aumento da expressão da atividade da ECA, estando associado a uma maior prevalência de hipertensão (LI, 2012). Contudo, esse achado opõe-se ao encontrado por Srivastava et al. (2012) em seu estudo de caso-controle, realizado na Índia, no qual, o alelo D dominante foi mais frequente na população normotensa

(54,7%), enquanto no grupo de hipertensos, a frequência do mesmo alelo foi de 33,3%. Ainda assim, a média de PA do grupo controle foi de 120,0 ($\pm 3,47$) / 80,49 ($\pm 2,5$).

Corroborando com os achados do estudo anterior Hadian et al. (2020) observaram uma diferença significativa na distribuição dos genótipos DD, II e ID do polimorfismo da ECA ID entre os pacientes hipertensos (44,1; 10,8 e 45,1%, respectivamente) e o grupo controle (61,5; 3,8 e 24,6%, respectivamente). O estudo ainda mostrou um risco aumentado de HA em pessoas com genótipo II em comparação com os genótipos ID e DD (0,46 (0,1–1,75) e 0,26 (0,05–0,94), respectivamente). No entanto, os autores destacaram que mais pesquisas com maior tamanho de amostra são recomendadas para o melhor estudo de fatores genéticos em pacientes hipertensos.

Todavia, em outro estudo, os autores determinaram a associação do polimorfismo ID da ECA em indivíduos hipertensos e com diabetes mellitus tipo 2 e encontraram uma frequência do genótipo DD significativamente maior em pacientes hipertensos (60%) e diabéticos (68%), em comparação com o grupo controle (33,3%). Concluindo, assim, que o alelo D bem como o genótipo DD estão associados à hipertensão e diabetes mellitus tipo 2 em pacientes egípcios (ZAROUK et al., 2012).

De forma semelhante, Vilela-Martin et al. (2013) avaliaram a influência do polimorfismo ID da ECA em indivíduos brasileiros com HA. Os autores observaram que o grupo de hipertensos mostrou maiores valores de PAS, Índice de Massa Corporal (IMC), glicemia, creatinina, e menores valores de lipoproteína de alta densidade (HDL) em comparação com indivíduos normotensos. Além disso, o genótipo II, associado a valores baixos de PA, foi mais predominante no grupo controle (18,7%) que no grupo de hipertensos (5,9%). Já o genótipo ID, associado a valores intermediários de PA, apareceu em 82,3% no grupo de hipertensos, enquanto o genótipo DD obteve uma prevalência de 11,8% no mesmo grupo. Os autores concluíram que a baixa prevalência do genótipo II da ECA pode estar associada a maior ocorrência de HA em indivíduos brasileiros.

Vale destacar que o modelo co-dominante (ID vs DD + II) não apresenta dados significativos na determinação da hipertensão na população mundial. Isso pode ser devido às características que os pacientes adquiriram de alelos homozigotos e heterozigotos. Consequentemente, o genótipo ID poderia ter um efeito nulo na patogênese da hipertensão (FRANCESCHINI et al., 2013). Dito isso, Kooffreh; Anumudu; Kumar (2014) observaram uma maior frequência do genótipo ID no grupo controle, dos quais 208 (61%) eram mulheres, apresentando o sexo como outro possível preditor para a ocorrência de HA. Além disso, as frequências do genótipo ID foram 12%, 43% e 45% para o genótipo II, ID, DD no grupo de pacientes e 12%, 50% e 38%, respectivamente, no grupo controle.

Por estar bem fundamentada a associação da ocorrência de hipertensão com polimorfismos genéticos da ECA, Heidari et al. (2015) buscaram determinar a associação do polimorfismo do gene ID em resposta a inibidores da ECA entre indivíduos malaios hipertensos do sexo masculino. O genótipo DD foi encontrado com maior frequência no grupo de hipertensos (59,4%) quando comparado ao grupo controle (26,4%). O genótipo ID obteve uma prevalência de 49,9% no grupo controle, o qual também apresentou

uma prevalência de 23,6% sobre o genótipo II. Após administração diária de 20 mg por 24 semanas de enalapril ou lisinopril, houve uma diminuição da PA em pacientes portadores do genótipo DD (PAS = $18,5 \pm 8,1$ mmHg, PAD = $15,29 \pm 7,1$ mmHg) em vez da ID (PAS = $4,1 \pm 3,3$ mmHg, PAD = $9,1 \pm 3,5$ mmHg) e genótipo II (PAS = $3,0 \pm 0,2$ mmHg, PAD $0,11 \pm 6,1$ mmHg).

Esta meta-análise buscou avaliar a associação dos principais polimorfismos do gene da ECA na prevalência de hipertensão ao redor do mundo, esperando que mais pesquisas com essa temática surjam em um futuro breve. Fica evidenciado aqui que houve uma heterogeneidade significativa que pode estar relacionada à variação no tamanho da amostra do estudo.

Analisando as frequências obtidas dos 3 genótipos da ECA observou-se que os valores obtidos ficaram próximos aos valores do grupo controle que está descrito no trabalho de Munhoz et al. (2005) cujas frequências dos genótipos foram determinadas: DD (45,0%), ID (39,6%) e II (15,4%).

Uma limitação encontrada no nosso trabalho foi a ausência de medição da pressão arterial. Esse item seria importante para o levantamento das condições cardiovasculares dos participantes da pesquisa. Observamos que os pais dos participantes da pesquisa, em sua maioria, não apresentavam histórico de pressão arterial, o que pode ser um item importante para proteção cardiovascular dos participantes da pesquisa. Além disso, a conduta dos participantes da pesquisa não se mostra de risco, ou seja, parte importante dessa população não tem aderência ao alcoolismo e tabagismo, fatores importantes para uma elevação dos riscos cardiovasculares. Ainda, na análise do questionário, observou-se que a maioria dos participantes da pesquisa possui IMC dentro do perfil de normalidade, uma vez que, a condição de obesidade é um fator chave para a evolução da elevação dos riscos à saúde cardiovascular do indivíduo.

Dessa forma, o que observamos é que a população amostrada poderia ser usada como um grupo controle para futuros estudos comparativos com outras populações previamente selecionadas para estudo de riscos cardiovasculares.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Assim, diante do que foi exposto na presente revisão sistemática e meta-análise, sugere-se que o polimorfismo do gene ECA ID represente um risco para a ocorrência de casos de hipertensão na população. Além disso, o genótipo DD mostrou-se um importante contribuinte para a suscetibilidade da prevalência de casos de hipertensão nos estudos analisados, enquanto os genótipos ID e II apresentam-se em maior frequência no grupo controle.

Vale ressaltar que os estudos disponíveis na literatura e elencados para análise no presente trabalho não avaliaram a associação dos polimorfismos da ECA com o tratamento de hipertensão, o que pode ser caracterizado como uma nova vertente de estudos dentro dessa temática.

Assim, recomenda-se que mais pesquisas sejam desenvolvidas com o intuito de reforçar esses achados e ampliar a literatura acerca dessa temática com o surgimento de mais estudos de caso-controle e até mesmo de coorte para melhor fundamento de futuras meta-análises.

Nesse estudo observamos que o genótipo DD apresentou-se em 49% dos participantes da pesquisa, mas as condições de qualidade de vida que foram identificadas nos participantes da pesquisa mostram que os fatores ambientais serviriam como elemento protetor para que qualquer predisposição relacionada ao polimorfismo da ECA não possa se manifestar. Ainda, concluímos que a população amostrada nesse trabalho possui as características para ser usada como um grupo controle.

REFERÊNCIAS

- BADENHOP, R. F. et al. Angiotensin-Converting Enzyme Genotype in Children and Coronary Events in Their Grandparents. *Circulation*; março, 1995. Disponível em: <<http://circ.ahajournals.org/content/91/6/1655.full>> Acesso em: 4 de maio de 2020.
- BORTOLOTTI, Luiz Aparecido. Hipertensão arterial e insuficiência renal crônica. *Rev Bras Hipertens*, v. 15, n. 3, p. 152-5, 2008.
- BREWSTER, L. M.; SEEDAT, Y. K. Why do hypertensive patients of African ancestry respond better to calcium blockers and diuretics than to ACE inhibitors and β -adrenergic blockers? A systematic review. *BMC medicine*, v. 11, n. 1, p. 1-16, 2013.
- BUENO, S. et al. Relação entre o polimorfismo da ECA e aptidão física. *ACTA Brasileira Do Movimento Humano*; v. 3, n. 2, abril/junho 2013. Disponível em: <<http://www.revista.ulbrajp.edu.br/ojs/index.php/actabrasileira/article/viewFile/2086/620>> Acesso em 6 de abril de 2020.
- CAMARGO, A. L. A. Perfil brasileiro de internações por hipertensão essencial. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 6, p. 33053-33056, 2020.
- COSTA, A. M. et al. Efeitos do sistema renina-angiotensina-aldosterona e do polimorfismo I/D do gene da ECA no desempenho esportivo. *Revista Brasileira de Ciências do Esporte*; v. 31, n. 1, setembro 2009. Disponível em: <<http://rbceonline.org.br/revista/index.php/RBCE/article/view/629/389>> Acesso em 8 de abril de 2020.
- COSTANZO, L.S. FISILOGIA. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.
- CRISAN, D.; CARR, J. Angiotensin I-Converting Enzyme. *Journal of Molecular Diagnostic*; agosto, 2000. Disponível em: <[http://jmd.amjpathol.org/article/S1525-1578\(10\)60624-1/pdf](http://jmd.amjpathol.org/article/S1525-1578(10)60624-1/pdf)> Acesso em: 5 de maio de 2020.
- DBHA. Diretrizes Brasileiras de hipertensão arterial (2020). Disponível em: <http://abccardiol.org/wp-content/uploads/2020/11/DBHA-2020.x64000.pdf> Acesso em: 22. Mar. 2021.
- EHRET, G. B. et al. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature*, v. 478, n. 7367, p. 103, 2011.
- FRANCESCHINI, N. et al. Genome-wide association analysis of blood-pressure traits in African-ancestry individuals reveals common associated genes in African and non-African populations. *The American Journal of Human Genetics*, v. 93, n. 3, p. 545-554, 2013.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. *Tratado de Fisiologia Médica*. Ed. Elsevier, 13ª edição, 2017.
- HADIAN, B. et al. Angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and hypertension disease. *Archives of physiology and biochemistry*, p. 1-5, 2020.
- HEIDARI, F. et al. Association of insertion/deletion polymorphism of angiotensin-converting enzyme gene among Malay male hypertensive subjects in response to ACE inhibitors. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, v. 16, n. 4, p. 872-879, 2015.
- KOOFREH, M. E.; ANUMUDU, C. I.; KUMAR, P. L. Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and the risk of hypertension among residents of two cities, South-South Nigeria. *Advanced biomedical research*, v. 3, 2014.

LI, Y. Angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and essential hypertension in the Chinese population: a meta-analysis including 21 058 participants. *Internal medicine journal*, v. 42, n. 4, p. 439-444, 2012.

MATOS, M. F. D; Polimorfismo dos genes da ECA, angiotensinogênio e do receptor tipo I da angiotensina II e pressão arterial. 2006. Disponível em <<http://www.ices.ufrj.br/images/mariadefatimaduartematos.pdf>> Acesso em 10 de abril de 2020.

MENGESHA, H. G. et al. Effects of angiotensin converting enzyme gene polymorphism on hypertension in Africa: A meta-analysis and systematic review. *PloS one*, v. 14, n. 2, p. e0211054, 2019.

MILLER S. A.; DYKES D. D.; POLESKY H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. US National Library of Medicine; 1988. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC334765/?page=1>> Acesso em 5 de maio de 2020.

MUNHOZ, T. P. ET AL. Angiotensin converting enzyme (ACE) DD genotype: relationship with venous thrombosis. *Rev. bras. hematol. hemoter.* 27(2):87-90, 2005.

NDONG. A. G. R.; OBAME-ENGONGRA, L. C.; OVONO, A. F. Correlation between the insertion-deletion polymorphism of the angiotensin conversion enzyme gene and hypertension among the Gabone population, v. 12, n. 2, p. 44-52.

NEGRÃO, C. E; BARRETO, A. C. P. *Cardiologia do exercício: do atleta ao cardiopata*. 3ª ed. Barueri, São Paulo: Manole, 2010.

O'DONNELL C.J. et al. Evidence for Association and Genetic Linkage of the Angiotensin-Converting Enzyme Locus with Hypertension and Blood Pressure in Men but Not Women in the Framingham Heart Study. *Circulation*; Maio, 1998. Disponível em: <<http://circ.ahajournals.org/content/97/18/1766.full.pdf+html>> Acesso em: 5 de maio de 2020.

PASSOS, Valéria Maria de Azeredo; ASSIS, Tiago Duarte; BARRETO, Sandhi Maria. Hipertensão arterial no Brasil: estimativa de prevalência a partir de estudos de base populacional. *Epidemiologia e serviços de Saúde*, v. 15, n. 1, p. 35-45, 2006.

PORTH, C. M.; GROSSMAN, S. C. *Fisiopatologia*. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019.

SANTOS, R. A. D.; FAGUNDES-MOURA, C. R.; SILVA, A. C. S. Efeitos cardiovasculares e renais do sistema renina-angiotensina. *Revista Brasileira de Hipertensão*; junho/setembro, 2000. Disponível em: <<http://departamentos.cardiol.br/dha/revista/7-3/007.pdf>> Acesso em: 5 de maio de 2020.

SOUSA, A. C. et al. Polimorfismos genéticos associados ao aparecimento de hipertensão arterial numa população portuguesa. *Acta Médica Portuguesa*, v. 31, n. 10, p. 542-550, 2018.

SRIVASTAVA, K. et al. Association of angiotensin converting enzyme (insertion/deletion) gene polymorphism with essential hypertension in northern Indian subjects. *Genetic testing and molecular biomarkers*, v. 16, n. 3, p. 174-177, 2012.

VARK, L. C. van et al; Angiotensin-converting enzyme inhibitors reduce mortality in hypertension: a meta-analysis of randomized clinical trials of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors involving 158998 patient. *European Heart Journal*; agosto, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22511654>> Acesso em 2 de maio de 2020

VILELA-MARTIN, J. F. et al. Renin angiotensin system blockage associates with insertion/deletion polymorphism of angiotensin-converting enzyme in patients with hypertensive emergency. *DNA and cell biology*, v. 32, n. 9, p. 541-548, 2013.

WHO. World Health Organization. Hypertension. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension> Acesso em: 22. Mar. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. A global brief on hypertension. 2013. Geneva, Switzerland: World Health Organization, p. 7-15, 2015. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/79059/1/WHO_DCO_WHD_2013.2_eng.pdf> Acesso em 2 de maio de 2020

ZAROUK, W. A. et al. Association of angiotensin converting enzyme gene (I/D) polymorphism with hypertension and type 2 diabetes. *Bratislavské lekárske listy*, v. 113, n. 1, p. 14-18, 2012.

ZHANG, Q. et al. Association of angiotensin-converting enzyme 2 gene polymorphism and enzymatic activity with essential hypertension in different gender: A case-control study. *Medicine*, v. 97, n. 42, 2018.