



**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE**  
**GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA**

**MARINA ARAÚJO SIMÕES DE CARVALHO**

**RELAÇÃO DO POLIMORFISMO DA ENZIMA CONVERSORA DE**  
**ANGIOTENSINA (ECA) COM A**  
**CLÍNICA CARDIOVASCULAR**

Trabalho de Conclusão de Curso no formato de artigo científico ao UniCEUB como requisito parcial para conclusão do Curso de Bacharelado em Biomedicina.

Orientador: Prof. Paulo Roberto Queiroz

Brasília

2015

# RELAÇÃO DO POLIMORFISMO DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA (ECA) COM A CLÍNICA CARDIOVASCULAR

Marina Araújo Simões de Carvalho<sup>1</sup>  
Paulo Roberto Martins Queiroz<sup>2</sup>

## Resumo

As enfermidades cardiovasculares têm sido um objeto de estudo cada vez mais frequente entre as diversas populações, além de serem relacionadas a diversos polimorfismos, entre eles o da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA). O objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento bibliográfico a respeito do polimorfismo dos alelos que codificam ECA e sua relação com a incidência da clínica cardiovascular. Trata-se de uma revisão em formato narrativo, em que foram analisadas diversas manifestações cardiovasculares relacionadas à ação da angiotensina II – produto da ECA – e o polimorfismo dessa enzima, além de sua interação com outros polimorfismos de outros genes e fatores externos. Dessa forma, espera-se que técnicas mais avançadas, além de outros estudos de polimorfismos e suas interações sejam realizados afim de auxiliar a descoberta das causas genéticas relacionadas com a clínica, de uma terapêutica adequada, assim como a prevenção dessas enfermidades.

**Palavras-chave:** hipertensão arterial, polimorfismo, enzima conversora de angiotensina, sistema renina-angiotensina, hipertrofia.

## THE RELATIONSHIP BETWEEN THE POLYMORPHISM OF THE ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME (ACE) AND THE CARDIOVASCULAR CLINIC

### Abstract

The cardiovascular diseases have been a more frequent object of study between the many populations besides being related with several polymorphisms like the Angiotensin Converting Enzyme (ACE). The objective of this work is to do a bibliographic survey about the polymorphism of the alleles that codify ACE and its relation with the incidence of cardiovascular clinic. It was done a review in a narrative format that various cardiovascular clinics is related to the angiotensin II action – ACE's product – will be analyzed, and this enzyme's polymorphism, and also (besides) its interaction with other polymorphisms. Thus, it is expected that the most advanced techniques besides others polymorphisms studies and their interactions will be done in order to assist in the most enlightened discovery about the genetic causes related with the <sup>1</sup>clinic, of an adequate therapeutic, as the prevention of these diseases.

**Key-words:** hypertension, polymorphism, angiotensin converting enzyme, renin-angiotensin system, hypertrophy

---

<sup>1</sup> Graduanda do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB

<sup>2</sup> Biólogo, MsC em Biologia Molecular - UnB, PhD em Biologia Animal - UnB, Professor de Biomedicina e Biologia do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB

## 1. Introdução

As enfermidades cardiovasculares são um dos maiores problemas de saúde pública em todo o mundo. Na atualidade, as doenças coronarianas são consideradas a principal causa de morte em países industrializados. Os fatores de risco clássicos associados ao desenvolvimento da enfermidade cardiovascular são o estilo de vida, tabagismo, hipertensão arterial, dislipidemias e diabetes mellitus. No entanto, por serem enfermidades multifatoriais, o estudo de componentes genéticos é de grande importância para compreender as diferenças alélicas entre as populações e a relação destas com a clínica. Estudos têm demonstrado que há uma susceptibilidade genética ao desenvolvimento da enfermidade coronariana, que não pode ser explicada só por fatores de risco individuais e ambientais, e que essa susceptibilidade está fundamentada em variações dos genes relacionados com a sistemática cardiovascular. O sistema renina-angiotensina (SRA) tem adquirido grande importância no estudo da enfermidade coronária, devido a seu papel relevante na modulação da pressão sanguínea e na ação de remodelação cardíaca (BARRETO et al., 2011).

A hipertensão arterial é uma doença de alta morbi-mortalidade e grande prevalência mundial, afetando de 20 a 30% da população adulta e cerca de 50% da população idosa. Esse é um importante fator de risco para a manifestação de doenças coronarianas, insuficiência cardíaca congestiva – devido ao aumento da frequência cardíaca –, acidente vascular cerebral e doenças renais – pela elevação da pressão arterial. É uma desordem que pode ter herança multifatorial, também conhecida como hipertensão arterial essencial (HAE), ou apenas por fatores externos, qualificando uma hipertensão secundária, sendo caracterizado como hipertensivo o indivíduo que apresentar pressão arterial média acima da faixa superior aceita como normal, ou seja, acima de 110 mm Hg, quando a pressão sistólica é superior a 135 mm Hg e a diastólica é superior a 90 mm Hg (GUYTON, 2003; FRANKEN et al., 2004; AIRES et al., 2011; QINGFANG et al., 2013).

A insuficiência cardíaca (IC) é a segunda maior causa de internação no Brasil e no mundo, sendo gastos milhões de reais para investimento em controle da doença. Apesar de ter havido uma diminuição da morbidade e da mortalidade de portadores de insuficiência cardíaca com a criação de novas drogas, esse avanço não foi suficiente. Dessa forma, uma das consequências do desenvolvimento insatisfatório das drogas para essa enfermidade é uma evolução clínica desfavorável. Variações no sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) pro-

movem um remodelamento cardíaco e a retenção hidrossalina, característicos da IC, o que determina diferentes respostas patológicas, conferindo, assim, diferentes estados clínicos da doença. Polimorfismos genéticos associados a processos moleculares genéticos, como receptores beta-adrenérgicos, síntese de angiotensina, metabolismo do óxido nítrico e a ECA foram identificados como marcadores genéticos para a descoberta da síndrome (ALBUQUERQUE et al., 2014).

O presente trabalho trata da relação dos SNPs rs4646994 e rs1799752 com o gene da ECA. Para introduzir a discussão, faz-se necessário explicar o conceito de SNP (Single Nucleotide Polimorfism). No genoma humano, há um alto nível de identidade de nucleotídeos entre as diferentes pessoas, porém existem milhões de variações entre os genomas, sendo essas variações resultados de mutações – quando inferiores a 1% – ou de polimorfismo – quando superiores a 1% – nas sequências de bases do DNA, podendo haver deleção de uma ou várias bases, bem como inversão, inserção e translocação. Esse processo de polimorfismo de uma ou várias bases caracteriza o que se chama de SNP. No polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) da ECA, encontram-se perfis de inserção/deleção, também chamados de *indel*, que vêm sendo correlacionados à performance atlética, além de hipertensão arterial e hipertrofia do ventrículo esquerdo (CRISP, 2012).

Estudos realizados em populações de diferentes países, incluindo as populações chinesa, africana, brasileira, colombiana, mexicana, árabe e outras, mostraram que o polimorfismo *indel* inserção (I) ou deleção (D) de 287 pares de base do gene que codifica a ECA parece ser uma forte evidência de que todo o genótipo D e/ou DD gera fenótipos de hipertensão ou anormalidades clínicas cardiovasculares. Usualmente os genótipos II, ID e DD são associados com baixo, intermediário e altos níveis de ECA e Angiotensina II plasmáticas (FRANKEN et al., 2004; QINGFANG et al., 2013; ALBUQUERQUE et al., 2014; VANZZINI et al., 2014; VERLENGIA et al., 2014).

O objetivo deste trabalho foi apresentar a relação do polimorfismo dos alelos que codificam a Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) com a incidência da clínica cardiovascular.

## **2. Metodologia**

Este artigo consiste em uma revisão de literatura no formato narrativo, que, “quando comparada à revisão sistemática, apresenta uma temática mais aberta” (CORDEIRO et al., 2007, p. 429).

Para isso, foram selecionados 21 artigos científicos nas bases de dados SciELO, Lilacs, Pubmed, Ebsco, NCBI, Google Acadêmico e *Science Direct*, publicados desde 1998 a 2015, por meio da utilização e combinação das seguintes palavras-chave: hipertensão arterial; enzima conversora de angiotensina; sistema renina-angiotensina e hipertrofia. Foram pesquisados, também, os mesmos termos nos idiomas inglês e espanhol, além de materiais disponíveis em endereços eletrônicos específicos e informações encontradas nos livros “Fisiologia” (AIRES, 2001) e “Tratado de Fisiologia Médica” (GUYTON, 2003).

Dos 21 artigos selecionados, 6 foram da base de dados SciELO, 5 da base NCBI, 2 da base PubMed e 2 do Google Acadêmico, 3 da base LILACS, 1 do *Science Direct* e 1 da base de dados EBSCO.

Para avaliar os artigos selecionados, obedeceram-se os seguintes critérios de inclusão: texto na íntegra; tempo de busca num período de 12 anos; abordagem das características da clínica cardiovascular e dos principais polimorfismos candidatos relacionados a enfermidades cardiovasculares – com ênfase nos polimorfismo da enzima conversora de angiotensina (ECA).

## **3. Desenvolvimento**

### **3.1 Fatores que influenciam as alterações cardiovasculares**

Segundo Pessuto e Carvalho (1998), os principais fatores de risco para caracterizar hipertensão arterial tratam-se de variáveis como a idade que, como consequência do processo de envelhecimento, faz surgir alterações na musculatura lisa e no tecido conjuntivo dos vasos; trata-se também do gênero associado à idade, formulando-se a hipótese de que homens tendem a ter a pressão arterial mais alta que as mulheres, quadro que se modifica na idade avançada, pois a mulher em menopausa, que fuma e que usa anticoncepcionais por longo período de tempo tem maior probabilidade de desenvolver hipertensão. Além disso, a não execução de atividades físicas, o uso de grandes quantidades de sal e gordura na alimentação, o tabagismo,

o alcoolismo, a obesidade e o histórico familiar são outros dos diversos fatores de risco que podem levar a casos de hipertensão arterial.

O aumento da pressão arterial, mesmo quando moderado, resulta em menor expectativa de vida, pelos efeitos letais como a sobrecarga de trabalho do coração, a hipertrofia ventricular, as rupturas de vasos sanguíneos de grande calibre – principalmente na região cerebral –, além das inúmeras hemorragias nos rins que podem levar a uremia, insuficiência renal e morte (GUYTON, 2003; FRANKEN et al., 2004).

### **3.2 O Sistema Renina-Angiotensina**

Existem diversos mecanismos que contribuem para a estabilização da pressão arterial, entre eles, encontram-se os de ação de longo prazo e duradoura, que envolvem mecanismos de regulação vascular e da volemia por estímulos neuro-hormonais, por meio de receptores, centros de integração e liberação ou inibição de hormônios. Os receptores envolvidos no controle da pressão são: os mecanorreceptores, também chamados de barorreceptores, encontrados nas grandes artérias; os quimiorreceptores; receptores cardiopulmonares e outros receptores presentes inclusive na circulação renal, também chamados de receptores “extrínsecos”, por serem localizados fora do sistema cardiovascular. O sistema renina-angiotensina faz parte desses reguladores de pressão arterial extrínsecos, pois a renina é uma enzima liberada pelos rins, que utiliza seu substrato proveniente do fígado, o angiotensinogênio, para transformá-lo em angiotensina I que, posteriormente, será clivada pela enzima conversora de angiotensina (ECA) em angiotensina II, potente vasoconstritor e regulador de pressão arterial (AIRES et al., 2011).

O sistema renina-angiotensina (SRA) também participa ativamente da regulação neuro-hormonal da pressão arterial auxiliada pelos barorreceptores. A renina é a enzima que determina a maior ou a menor ativação do SRA plasmático e só é secretada pela estimulação simpática, pela diminuição da tensão vascular na arteríola aferente renal ou pela redução da carga filtrada de sódio. Ela é sintetizada e armazenada nas células justaglomerulares presentes na mácula densa, na sua forma inativa, denominada pró-renina. Ao serem estimuladas pela queda de pressão arterial, essas células promovem reações intrínsecas que irão clivar moléculas de pró-renina e liberar a renina para o sangue. Ao mesmo tempo, o fígado produz continuamente seu substrato, também chamado de angiotensinogênio – uma alfa-globulina que, ao se ligar à renina, será clivado em angiotensina I, um fraco vasoconstritor de dez aminoácidos.

Alguns segundos depois da formação da angiotensina I, ocorre a circulação desta pelo sangue até chegar aos pulmões, onde se encontra a enzima conversora de angiotensina (ECA), que irá catalisar a angiotensina em um octapeptídeo – a angiotensina II – no endotélio dos vasos pulmonares, além de ter efeito degradante sob a bradicinina – forte vasodilatador que tem a capacidade de aumentar a permeabilidade vascular (GUYTON, 2003; AIRES et al., 2011).

A figura abaixo representa o funcionamento do sistema refina-angiotensina de forma esquemática:

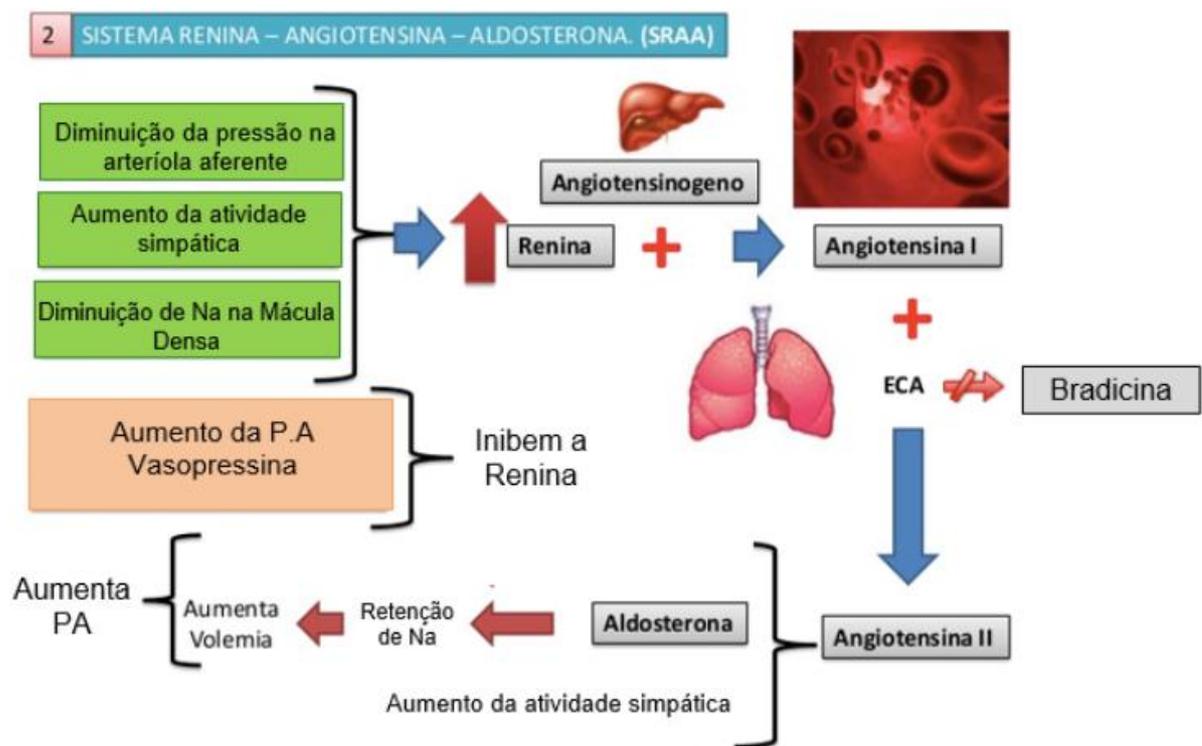


Figura 1 – Esquema do funcionamento do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA).

### 3.3 Efeitos hemodinâmicos da angiotensina II

A angiotensina II é um potente vasoconstritor de ação direta que, além de potencializar os efeitos da noradrenalina, tem a capacidade de: facilitar a liberação das catecolaminas; estimular diversas regiões do sistema nervoso central, induzindo a sede; estimular a liberação de vasopressina e aldosterona, aumentando a retenção hídrica; deprimir o funcionamento do próprio reflexo pressorreceptor, reduzindo sua sensibilidade, tornando-o, assim, menos capaz de controlar grandes oscilações de pressão. Esses efeitos têm como objetivo aumentar a vole-

mia e a resistência periférica para a regulação da frequência cardíaca e, conseqüentemente, da pressão arterial (GUYTON, 2003).

As ações reguladoras de pressão e na osmorregulação exercidas pela angiotensina II têm sido relacionadas aos receptores de angiotensina, os AT1. A estimulação desses receptores medeia o crescimento celular e a proliferação das células lisas vasculares, cardiomiócitos e células endoteliais coronárias *in vitro*. Assim, como consequência, esses receptores AT1 têm sido encontrados em diversas patologias cardiovasculares, entre elas a hipertrofia ventricular esquerda, os acidentes vasculares cerebrais e a hipertensão (MATOS, 2003).

Os efeitos hemodinâmicos da angiotensina II podem contribuir para a redução da perfusão do músculo esquelético e para a utilização da glicose. Em termos celulares, a angiotensina II induz *stress* oxidativo, além de induzir alterações na cascata de sinalização da insulina pela estimulação múltipla de fosforilações inibitórias de serina – outro tipo de receptor para insulina –, atenuando a transdução de sinal. A maioria das ações da angiotensina II acontece em órgãos-alvo específicos, entre eles o coração e as artérias. Esse peptídeo participa da regulação do tono vascular mediante sua ação vasoconstritora do músculo liso vascular, promovendo ação hipertensiva. Em acréscimo, a angiotensina II favorece o desenvolvimento de aterosclerose, mediante a promoção da atração de monócitos e da adesão de leucócitos ao endotélio vascular (MENDONÇA et al., 2004; BONNET et al., 2008; BARRETO et al., 2011).

Os níveis circulantes de Angiotensina II dependem dos níveis de Angiotensina I e, principalmente, dos níveis de enzima conversora de angiotensina (ECA). Análises genéticas demonstram uma determinação familiar na variabilidade interindividual dos níveis plasmáticos de ECA. A ECA é uma dipeptídeo-carboxipeptidase, que está presente como uma enzima de membrana na superfície de células endoteliais, neuroepiteliais e, também, como enzima circulante no plasma. Os níveis plasmáticos de ECA podem ser amplamente diferentes de um indivíduo para outro e suas formas solúveis podem ser encontradas em vários líquidos corporais, tais como sangue, líquido amniótico, sêmen, líquido cefalorraquidiano e urina (MATOS et al., 2003; GOMES et al., 2008).

### **3.4 Polimorfismo da ECA - Enzima Conversora de Angiotensina**

O gene da ECA (21 kb) está localizado no cromossomo 17, braço longo (q), região 23 e se caracteriza por apresentar 24 regiões intrônicas – sequências de DNA que não participam

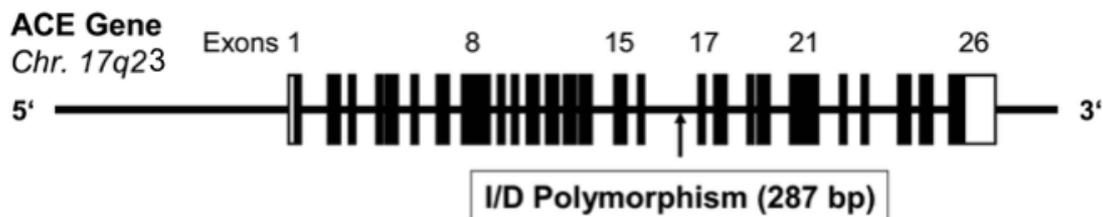
do código genético – que se intercalam com 26 regiões exônicas – sequências de DNA que determinam o código genético. Os níveis de ECA no plasma são geneticamente controlados por dois polimorfismos bialélicos *indel* já descritos – I/D rs4646994 ou rs1799752 – comuns no gene da ECA, e consistem na ausência – deleção ou alelo “D” – ou presença – inserção ou alelo “I” – de 287 pares de base no íntron 16, identificando genótipos homocigotos II e DD, e heterocigotos ID, no qual o alelo D está associado com altos níveis circulatórios e tecidual de ECA, em que os indivíduos de genótipo DD têm os maiores índices plasmáticos da proteína da ECA, enquanto aqueles com genótipo II têm menores índices, e indivíduos heterocigotos (ID) têm níveis intermediários da proteína, indicando co-dominância. Esses polimorfismos funcionam como um QTL (*Quantitative Trait Loci* – Loci de características quantitativas), referindo-se a fenótipos quantitativamente, podendo ser atribuídos a fatores poligênicos; e esse *locus* (rs4340) controla mais de 44% da variabilidade dos níveis da ECA plasmática (MATOS, 2003; DIAS et al., 2007; CUOCO et al., 2008; CRISP, 2012; QINGFANG et al., 2013; VERLENGIA et al., 2014; HARBI et al., 2015; MAZAHERI; SAADAT, 2015).

Após a identificação do polimorfismo da ECA como um QTL em 1990, diversos estudos têm sido realizados na tentativa de determinar se o polimorfismo I/D é o único responsável pelos níveis plasmáticos de ECA ou se há um marcador a mais ou um substituto para isso (HARBI et al., 2015).

O alelo D do polimorfismo I/D da ECA induz uma alta expressão do mRNA dessa enzima. Esse polimorfismo está associado com o desenvolvimento de diversas desordens multifatoriais, tais como, a diabetes mellitus; a hipertensão; a doença coronariana; a diabetes neuropática, entre outras. Em relação aos papéis da ECA na homeostase renal e cardiovascular, há evidências convincentes de que a angiotensina II e seus metabólitos promovem um papel importante no sistema nervoso central (VERLENGIA et al., 2014; MAZAHERI; SAADAT, 2015).

A figura abaixo representa a localização do gene que codifica a enzima conversora de angiotensina:

Figura 2 – Polimorfismo I/D da ECA



### 3.5 Relação do polimorfismo da ECA e diabetes

Estudos recentes têm sugerido que o bloqueio do sistema renina-angiotensina está associado à redução da incidência da diabetes mellitus tipo II. Os estudos foram realizados com pacientes hipertensivos com alta prevalência de resistência à insulina, e esses ensaios clínicos têm provado uma possível interação entre o SRA e o metabolismo da glicose. Há relatos que altos níveis de angiotensina II talvez tenham interação com a regulação de glicose e insulina, podendo aumentar os riscos de diabetes.

Também tem sido sugerido que os níveis plasmáticos de angiotensina II aumentam com hiperglicemia, e o impacto da angiotensina II no dano epitelial e estresse oxidativo podem influenciar no desenvolvimento de diabetes. Efeitos na cascata de sinalização da insulina e na sensibilidade periférica à insulina, além de um efeito específico nas células-beta no pâncreas têm sido propostos.

A sensibilidade à insulina foi diferente entre os genótipos: foi mais baixa no genótipo DD em comparação àqueles com o genótipo II, e nos com genótipo II em comparação com os de genótipo DI. Estimativas encontradas em estudos sugerem que um modelo genético dominante, como DD e ID são mais prevalentes em comparação com II. Os resultados sugerem que os genótipos DD e ID são significativamente associados ao risco de diabetes. Dessa forma, os autores concluíram que a presença do alelo D já aumenta as chances de ter intolerância à glicose, mesmo em uma população não-diabética e normotensa.

Em um estudo realizado na China, foi possível notar um papel protetor do genótipo II em relação ao desenvolvimento de diabetes, assim, a terapia com inibidores da ECA pode ser um tratamento potencial em proteção contra o desenvolvimento da doença. Os mecanismos de sensibilidade à insulina podem variar de acordo com os genótipos da ECA, porém estes estão

pobrememente caracterizados. A presença de SRA em células-beta do pâncreas tem sido descrita. Dessa forma, uma infusão aguda de angiotensina II implica a secreção de insulina, possivelmente pelas alterações de fluxo sanguíneo no interior das ilhotas pancreáticas. Esses achados da interação do polimorfismo *indel* da ECA com a secreção ou a resistência de insulina podem ser um forte preditor do futuro desenvolvimento de diabetes tipo II, além do seu tratamento e prevenção (BONNET et al., 2008; XU et al., 2015).

### **3.5 Relação da ECA com a clínica cardiovascular**

#### **3.5.1 Hipertrofia cardíaca**

Outra consequência da ECA na clínica cardiovascular é o fato de o alelo I ter sido associado a um aumento da porcentagem de fibras tipo I de lenta contração no músculo esquelético humano, sugerindo um impacto potencial em relação ao genótipo da ECA com a estrutura e metabolismo de músculos humanos (BONNET et al., 2008).

A hipertrofia cardíaca que acomete pacientes que possuem hipertensão ocorre por uma adaptação estrutural e funcional pelos níveis pressóricos aumentados, podendo envolver uma predisposição familiar. Em um estudo realizado no estado de São Paulo, foi observado que filhos de indivíduos hipertensos, mesmo que com pressão arterial normal, possuíam septo e parede do ventrículo esquerdo maiores, se comparados a filhos de normotensos. Observou-se menor porcentagem do genótipo II em indivíduos filhos de normotensos, e o alelo D teve porcentagem maior no grupo de indivíduos filhos de hipertensos.

Nesse trabalho, porém, não foi encontrada uma correlação do polimorfismo do gene da ECA com a hipertrofia cardíaca encontrada nos filhos de hipertensos comparada aos filhos de normotensos. Apesar de haver uma diferença significativa da espessura do septo e dos ventrículos cardíacos entre filhos de hipertensos e filhos de normotensos, não houve correlação desse dado com o polimorfismo do gene da ECA, tanto ao se analisarem os genótipos, quanto os alelos separadamente (FRANKEN et al., 2004).

#### **3.5.2 Hipertensão**

Um estudo realizado numa população amazônica em 2006 é ótimo exemplo para ilustrar a correlação entre ECA, hipertensão e fatores externos. Esse estudo demonstrou que idade

avançada, alcoolismo, tabagismo e massa corporal são importantes fatores de risco para hipertensão, sobretudo quando ocorrem simultaneamente com genótipo DD.

A análise multifatorial de polimorfismos genéticos, juntamente com a clínica, indicou que as combinações de alelo D da ECA com idade avançada e consumo de álcool podem contribuir para a elevação tanto da pressão arterial sistólica quanto da pressão arterial diastólica gerando, conseqüentemente, maior risco de hipertensão.

Em destaque, o consumo de álcool é relevante para o desenvolvimento de hipertensão, ao estimular a produção de hormônios adrenocorticóides, como a aldosterona. E os outros fatores atuam em associação com a sensibilidade ao sal, álcool ou, até mesmo, a obesidade. A distribuição genotípica do polimorfismo I/D do gene da ECA diferiu entre os grupos sendo 9,76% de hipertensos contra 5,1% de normotensos que continham o genótipo DD e 57,32% de hipertensos contra 78,2% de normotensos que possuíam o genótipo II. Foi observado que o genótipo DD foi ligeiramente mais frequente nos indivíduos hipertensos (FREITAS et al., 2007).

### **3.5.3 Insuficiência cardíaca**

O genótipo DD vem sido associado a maiores riscos de insuficiência cardíaca (IC), de variações ecocardiográficas e até de morte. Entretanto, há publicações em que esses achados são controversos e essa relação não foi encontrada. Em um estudo realizado com 111 pacientes oriundos do estado do Rio de Janeiro, no período de dezembro de 2009 a janeiro de 2012, em que foram comparados o diâmetro sistólico e diastólico do ventrículo esquerdo e sua fração de ejeção, observou-se um predomínio no grupo que apresentava IC correspondendo a indivíduos brancos do sexo masculino com hipertensão arterial e tabagismo (ALBUQUERQUE et al., 2014).

Nesse mesmo estudo observou-se, porém, que as taxas de diabetes mellitus foram baixas. O genótipo DD teve a pior evolução ecocardiográfica, porém, nesses pacientes, o bloqueio neuro-hormonal com o uso de medicamentos beta-bloqueadores e inibidores da ECA conseguia neutralizar os excessos de atividade do SRA secundário ao genótipo DD.

Dessa forma, a inibição do SRA melhora as complicações microvasculares, assim como a diabetes. Assim, os três genótipos, DD, ID e II, quando em uso de terapia com medicamentos de bloqueio neuro-hormonal, passavam a se comportar de maneira semelhante em relação à evolução clínica. Além disso, pacientes que carregam o alelo D são menos responsivos à medicamentos inibidores da ECA, o que indica uma forte influência do alelo D na ex-

pressão do gene e no curso da doença. Isso pode gerar uma possibilidade de usar inibidores da ECA como manejo para doenças cardiovasculares e fornecer uma oportunidade para uma intervenção farmacológica qualificada (ALBUQUERQUE et al., 2014; HARBI et al., 2015).

Outro fator oriundo da relação entre os níveis da ECA com a clínica cardiovascular foi encontrado em pesquisas com líquido pericárdico. Esses estudos têm sido direcionados para estabelecer o diagnóstico de pericardites, derrames e diagnóstico *post-mortem*. Elevados níveis de substâncias vasoativas e cardioprotetoras são descritos no fluido pericárdico humano. Por meio de exames bioquímicos, uma das enzimas descritas como marcadores de alterações fisiológicas é uma isoforma somática da ECA, encontrada no líquido pericárdico, de 150 a 180 kDa.

Num sobre enzima conversora de angiotensina no líquido pericárdico foi possível descrever pela primeira vez a detecção da ECA no líquido pericárdico pela descoberta de dois domínios homólogos e os sítios catalíticos da enzima. Dados confirmam que a ECA encontrada no líquido pericárdico tem melhor eficiência catalítica. Apesar do endotélio ter sido considerado a principal fonte de ECA, estudos experimentais têm demonstrado maiores evidências para ECA no pericárdio visceral fibrosado, sugerindo que o tecido fibrosado cardíaco, pós-infarto, pode ser uma fonte de angiotensina II. Como o líquido pericárdico é um ultrafiltrado do plasma através do miocárdio, é pouco provável que a isoforma isolada nesse estudo tenha origem plasmática, uma vez que, o processo de difusão é limitado, sendo mais provável que ela se origine de células no interior do pericárdio. Sendo assim, é possível que parte dos efeitos da angiotensina II sobre a homeostasia seja decorrente da produção pericárdica (GOMES et al., 2008).

### **3.6 ECA e febre reumática**

Algumas pesquisas também demonstraram a relação da ECA com a febre reumática. Doenças cardíacas podem ser uma séria complicação desse tipo de febre, que contribui significativamente para morbidade e mortalidade. Inflamações cardíacas resultam de uma inflamação crônica após um ataque severo e agudo de febre reumática, causando fibrose e dano de valva.

Estudos têm mostrado que em corações humanos, a quantidade de mRNA da ECA é significativamente maior em pacientes com estenose de valva aórtica, o que leva a aumentar a atividade de colágeno e fibronectina, o que causa fibrose. Além disso, o polimorfismo da

ECA tem sido associado com o aumento do risco de doença cardíaca reumática em diferentes populações.

As frequências dos genótipos de um estudo realizado na Arábia Saudita entre 2013 e 2014 não tiveram resultados significativamente diferentes, ressaltando o fato de que o alelo D foi encontrado com maior frequência nos pacientes, assim como o genótipo DD. Considerando um modelo de condição genética dominante, pacientes homozigotos DD e heterozigotos ID têm maiores chances de riscos comparados àqueles com genótipo II (HARBI et al., 2015).

### **3.7 Níveis de óxido nítrico**

Os genótipos da ECA se relacionam também com os níveis de óxido nítrico. Em um estudo realizado numa população mexicana, foram encontrados níveis de óxido nítrico mais baixos em homens com genótipo ID e DD.

O óxido nítrico (NO), sintetizado pelo endotélio, é importante para a regulação do tônus vascular e controle da pressão sanguínea em humanos. É importante enfatizar que o NO tem extrema vida curta em sistemas biológicos (menos que 1 s na circulação sanguínea) e seus metabólitos – nitrito e nitrato – são utilizados como indicadores de síntese de NO endotelial. Por essa razão, as concentrações de NO são estimativas, usando os valores desses metabólitos.

É bem conhecido que o total de produção de NO em pacientes com hipertensão arterial é diminuído, mas pouco se sabe a respeito da possibilidade de influência do polimorfismo da ECA na produção de NO em pacientes saudáveis. Foi descoberto que os indivíduos homens saudáveis com genótipo II têm maiores concentrações de metabólitos de NO quando comparados a mulheres com genótipo ID e DD. Se a concentração de metabólitos de NO, na realidade, refletir no aumento da produção de NO, é possível que o genótipo II confira uma proteção para homens que carreguem o alelo e retarde o desenvolvimento de hipertensão.

Isso pode explicar o motivo pelo qual homens com genótipo DD desenvolvem hipertensão arterial sistêmica mais frequentemente que homens com genótipo II, como mostrado em estudos anteriores. Por outro lado, esse genótipo II não tem o mesmo efeito em mulheres. Como proposto em outros estudos, foi concluído que há influências de sexo quando se trata do polimorfismo e atividade da ECA (VANZZINI et al., 2014).

### 3.8 ECA e outras correlações dentro da clínica cardiovascular

Outra relação entre polimorfismo e sexo é encontrada em estudos que reportam que indivíduos do gênero masculino adolescentes e saudáveis possuem maior atividade da ECA, independentemente do genótipo; isso pode explicar o motivo de os homens de diversos estudos associados à clínica cardiovascular apresentarem maior pressão arterial. Além disso, tem sido demonstrado que mulheres têm menor risco de desenvolver doenças cardiovasculares, até chegar a idade de menopausa, quando comparadas aos homens. Foi relatado que há propriedades cardioprotetoras de estrogênio nas mulheres, e que os efeitos cardiovasculares benéficos deste podem ser parcialmente mediados pela redução da atividade da ECA (VANZZINI et al., 2014).

As atividades da ECA, ainda no âmbito da clínica cardíaca, têm relação com obstruções coronarianas. Pesquisadores colombianos realizaram um estudo em que se descobriu que a atividade da ECA, no soro de pacientes com significativa obstrução coronária, foi mais alta que naqueles com obstruções irrelevantes, porém sem diferenças significativas.

Também destacou-se que há maior atividade de ECA nos homens que em mulheres. Sendo assim, a enfermidade coronária é mais predominante no sexo masculino, como encontrado em outros estudos. Para os autores, nenhum dos genótipos do polimorfismo do gene da ECA, nem os alelos do mesmo gene, apresentaram relação com obstruções coronárias nos indivíduos (MENDONÇA et al., 2004; BARRETO et al., 2011; ALBUQUERQUE et al., 2014; VANZZINI et al., 2014; HARBI et al., 2015).

Além do polimorfismo da ECA, há outros polimorfismos genéticos relacionados à clínica cardiovascular. Há relatos de diversos outros polimorfismos, como: o r577X do gene da alfa-ACTININA 3 (ACTN3) relacionado com a contratilidade muscular; o polimorfismo -9/+9 do receptor b<sub>2</sub> de bradicinina (BDKRB2) relacionado com atividade de hipertrofia muscular; o polimorfismo C34T do gene da AMP deaminase (AMPD1) relacionado ao aumento de ADP com consequente diminuição de ATP, inibindo processos contráteis; o polimorfismo 985+185/1170 do gene da enzima Creatinina Quinase M (CK-M) correlacionado com a manutenção de altas concentrações de ATP nas fibras de miosina do músculo cardíaco; os polimorfismos M235T e o T174M do gene do angiotensinogênio relacionados com os níveis plasmáticos deste, da renina (REN), do receptor tipo 1 da angiotensina II (AGTR1) e da aldosterona sintetase (CYP11B2), podendo aumentar o risco de hipertensão arterial. Porém a influência de polimorfismos desses genes apresentou resultados divergentes em diferentes

populações (TAVARES, 2000; MATOS et al., 2006; DIAS et al., 2007; FREITAS et al., 2007).

O quadro abaixo ilustra esses polimorfismos citados:

<b>POLIMORFISMO</b>	<b>GENE</b>
<b>r577X</b>	Alfa-ACTININA 3 (ACTN3)
<b>-9/+9</b>	Receptor b2 de bradicinina (BDKRB2)
<b>C34T</b>	AMP deaminase (AMPD1)
<b>985+185/1170</b>	Enzima Creatinina Quinase M (CK-M)
<b>M235T e T174M</b>	Angiotensinogênio receptor tipo 1 da angiotensina II aldosterona sintetase (CYP11B2)(AGTR1), e aldosterona sintetase (CYP11B2)

Quadro 1 - Outros polimorfismos relacionados à clínica cardiovascular.

### 3.9 Características genéticas da ECA

Na maioria dos estudos pesquisados, as frequências alélicas e genótípicas não diferiam entre os grupos estudados, sendo relativamente iguais e estando dentro do padrão de equilíbrio de Hardy-Weinberg, em que a frequência de alelos e genótipos será sempre constante durante todas as gerações. Em estudo realizado com uma comunidade mexicana, porém, foram encontrados valores de frequências genótípicas de 37,6% para II, 42,7% para DI e 19,5% para DD (FREITAS et al., 2007; BONNET et al., 2008; BARRETO et al., 2011; ALBUQUERQUE et al., 2014; VANZZINI et al., 2014; VERLENGIA et al., 2014).

Alguns pesquisadores propõem que, além de outros fatores genéticos, pode ser que haja uma influência étnica entre os valores encontrados em relação aos genótipos nos mais variados estudos. Por exemplo, no perfil genotípico da ECA na população estudada pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro, foram encontrados resultados de baixa proporção para o genótipo II e, nessa população, havia maior presença de indivíduos afrodescendentes.

Em comparação ao trabalho realizado por Tiago e colaboradores (2002), em uma população negra, os resultados encontrados foram de 45,2% para DD; 38,2% para ID e 6,5% para II, ou seja, baixa proporção para o genótipo II.

A metanálise realizada por Bai e colaboradores (2012) em diferentes estudos, incluindo 2.453 casos por todas as partes do mundo, teve um total de 60,3% de indivíduos caucasianos. Porém estudos realizados na China encontraram que, no subgrupo de análise pela etnia, uma associação foi feita com caucasianos com genótipo DD ou ID, tendo maiores riscos de desenvolver diabetes, podendo estar associado à posteriores doenças coronarianas.

Dessa forma, é conhecido que a distribuição do polimorfismo da ECA seja diferente entre variados grupos étnicos (ALBUQUERQUE et al., 2014; WIWANITKIT et al., 2014; HARBI et al., 2015; XU et al., 2015).

### **3.10 Desempenho atlético**

No contexto de desempenho atlético, o genótipo II é predominante em atletas de elite que requerem alta capacidade respiratória, tais como em escaladores, corredores de longa distância, nadadores e triatletas. A melhora do desempenho em atletas não mostrou relação positiva com o polimorfismo, assim como os níveis de ECA plasmática não houve interação. Tudo indica que não existem evidências de melhor desempenho atlético ou de hipertensão arterial a partir do estudo separado de genes – incluindo o gene da ECA – apesar de muitos polimorfismos possuírem algum tipo de associação tanto com a melhora do desempenho quanto com os riscos de hipertensão. Dessa forma, concluiu-se que um único polimorfismo da ECA não tem efeito significativo no desempenho cardiorrespiratório (DIAS et al., 2007; VERLENGIA et al., 2014).

### **3.11 Detecção molecular do polimorfismo da ECA**

Para a detecção dos polimorfismos da ECA pode-se realizar a extração de DNA a partir de leucócitos seguida da PCR e eletroforese. O polimorfismo I/D da ECA foi encontrado a partir da detecção da presença ou ausência de uma sequência de 287 pb no íntron 16 do gene (BONNET et al., 2008; VANZINNI et al., 2014).

Na maioria dos estudos analisados nesta revisão foram utilizados os iniciadores 5'CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT3' e 5' GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC

AGA T 3' que reconhecem o início do gene da ECA. Analisou-se o produto da PCR, ou seja, o polimorfismo I/D, por eletroforese com placa de gel de agarose, detectando-se o alelo deleção (D) de 190bp em relação ao alelo inserção (I) de 490pb.

Para evitar um erro de classificação de heterozigotos ID e homozigotos DD e, pelo fato de o alelo D, em amostra de heterozigotos, ser preferencialmente amplificado, cada amostra achada com o alelo D foi submetida a uma segunda PCR, utilizando-se iniciadores 5'CTG GAG ACA CTC CCA TCC TTT CT3' e 5'TTT GAG ACG GAG TCT CGC TC3' que reconheçam a sequência de inserção específica, reduzindo, assim, a subestimação dos heterozigotos.

Amostras com alelo de inserção I produziram um fragmento de 490pb, enquanto o alelo de deleção D foi identificado por um produto de 190pb, pela deleção de uma região de 287 pb. Em amostras de heterozigotos, dois fragmentos (490 e 190 pb) foram detectados. Em homozigotos DD somente um fragmento de 190pb foi detectado; em homozigotos II somente um fragmento de 490pb e em heterozigotos ambos os fragmentos estavam presentes. A acurácia da genotipagem foi determinada pela concordância em amostras duplicadas (HARBI et al., 2015; BONNET et al., 2008; BARRETO et al., 2011; FRANKEN et al., 2004; VANZINNI et al., 2014; VERLENGIA et al., 2014).

A figura abaixo representa a migração da enzima conversora de angiotensina em gel de agarose após eletroforese, diferenciando, assim, os indivíduos homozigotos e heterozigotos, onde "M" representa o marcador de massa molecular:

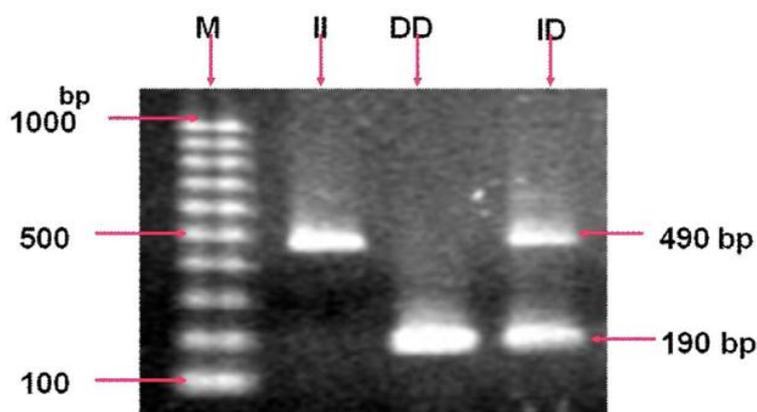


Figura 3 – Perfil eletroforético de restrição do gene ECA.

Alguns pesquisadores realizaram a genotipagem de polimorfismo I/D da ECA, AGT M235T13, REN G1051A2, AGTR1 A1166C4 e C344T6 pela técnica da PCR associada a

análise de polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição (PCR-RFLP), que consiste na extração de DNA, digestão com enzima de restrição, eletroforese, Southern blot, marcação com sonda e auto-radiografia (FREITAS et al., 2007).

#### **4. Considerações Finais**

É importante destacar que, ao contrário de doenças monogênicas, as doenças cardiovasculares possuem uma etiologia complexa, envolvendo uma variedade de genes; uma característica poligênica derivada da combinação e da interação entre genes, da variação da herança genética das populações e que, ao mesmo tempo, interagem com múltiplos fatores ambientais.

Essa complexidade de fatores, de interações e de interrelações promove um entendimento mais lento e complicado dos mecanismos fisiológicos dos distúrbios citados neste estudo. Com a investigação de diversos polimorfismos pôde-se indentificar que apenas combinações de genótipos foram associadas a desfechos clínicos cardiovasculares.

Dessa forma, é proposto que haja ampla variedade de interação gênica entre dois ou mais polimorfismos genéticos, de diferenças nas adaptações fisiológicas de cada indivíduo ou, até mesmo, de outros mecanismos regulatórios, tais como a epigenética, que depende da constituição genética individual.

Sendo assim, é provável que a descoberta de vários marcadores genéticos seja mais eficiente para detectar indivíduos portadores de doenças cardiovasculares do que polimorfismos isolados, como o da ECA, por exemplo. De fato, o polimorfismo da ECA diverge em populações de diversos países, apesar de estar relacionado com a clínica cardiovascular e a relação com desordens cardíacas ser amplamente mencionada.

Os estudos do polimorfismo da ECA têm provado serem úteis no manejo de pacientes cardíacos, como na utilização de medicamentos bloqueadores da ECA para controle de problemas cardiovasculares e, até mesmo, de diabetes. Assim, pode-se determinar que a presença isolada do genótipo ou alelo desfavorável da ECA pode apontar uma pequena ou não-significante associação com hipertensão, mas que a co-ocorrência de diferentes genótipos desfavoráveis junto a fatores clínicos de risco e a fatores ambientais como idade avançada, ingestão de álcool, tabagismo e índice de massa corporal podem aumentar o risco de desenvolver hipertensão. Então, a aplicação genética no contexto de doenças cardiovasculares torna-se uma ferramenta essencial para a determinação de risco, de gravidade, de resposta terapêutica e, principalmente, para a seleção de uma terapia adequada.

Dessa forma, se faz necessária a realização de novos estudos para investigação de novos genes, além da interação destes com os próprios, como também com os fatores do meio ambiente, o que define o fenótipo de cada indivíduo e, além disso, pode haver também uma relação de pleiotropismo genético, em que a expressão de um único gene afete em diversos fenótipos para que, dessa forma, seja encontrada uma relação mais específica entre os polimorfismos relacionados com a clínica e, assim, descobrir de forma mais esclarecida as causas genéticas de hipertensão arterial e enfermidades cardíacas.

## 5. Referencias Bibliográficas:

ALBUQUERQUE, F. et al. Impacto do Polimorfismo Genético da Enzima Conversora da Angiotensina no Remodelamento Cardíaco. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**. Rio de Janeiro; v. 102, n.1, p. 70-79. Jul. 2014.

ATTIA, J. et al. How to use an article about genetic association: A: Background concepts. *Jama*, v.301, n.1, Jan 7, p.74-81. 2009.

AIRES, M. et al. **Fisiologia**. 3 Edição, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

BARRETO, A. et al. Relación entre la enzima convertidora de angiotensina, polimorfismo I/D, y obstrucción coronaria en una población del Quindío, Colombia. **Universitas Scientiarum**, Quindío, v.16, n.3, p.193-199, Nov. 2011.

BONNET, F. et al. Influence of the ACE Gene Insertion/Deletion Polymorphism on Insulin Sensitivity and Impaired Glucose Tolerance in Healthy Subjects. **Diabetes Care**, Lyon, v.31, n.4, p789–794, Abr. 2008.

CRISP, A. Genética e corredores do leste africano. Anais da **Mostra Acadêmica UNIMEP**, 10., Piracicaba, 2012. p 1-4. 19.

CUOCO, M. et al. Polimorfismo genético, terapia farmacológica e função cardíaca sequencial em pacientes com insuficiência cardíaca. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, Rio de Janeiro, v. 90, n. 4, p. 274-279, abr. 2008.

DIAS, E. et al. Polimorfismos genéticos determinantes da *performance* física em atletas de elite. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v.13 n.3, p. 209-216, Maio/Jun. 2007.

FRANKEN, R. et al. Associação do polimorfismo do gene da enzima conversora da angiotensina com dados ecocardiográficos em jovens normotensos filhos de hipertensos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 50, n. 1, p. 62-67, set. 2004.

FREITAS, F. et al. Análise Combinada de Fatores Genéticos e Ambientais na Hipertensão Essencial em um Município da Região Amazônica. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**. Rio de Janeiro, v. 88, n.4, p.447-451 Jul. 2007.

GOMES, R. et al. Enzima Conversora de Angiotensina no Líquido Pericárdico: Estudo Comparativo com a Atividade Sérica. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**. Uberaba, v. 91, n.3, p.172-178, Fev. 2008.

GUYTON, A.; HALL, J. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10 edição. Rio de Janeiro. Elsevier Editora Ltda, 2003.

HARBI, K. et al. Angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism in Saudi patients with rheumatic heart disease. **Saudi Medicine Journal**, Al-Madinah, v. 36, n. 2, p. 176-180. Fev. 2015.

MATOS, M. **Polimorfismos dos genes da ECA, angiotensinogênio e do receptor tipo 1 da angiotensina II e pressão arterial**. Dissertação (Doutorado em Cardiologia). UFRJ/Faculdade de Medicina. Rio de Janeiro. Mai. 2003. p. 1-146f.

MAZAHARI, H.; SAADAT, M. Association between Insertion/Deletion Polymorphism in Angiotensin Converting Enzyme and Susceptibility to Schizophrenia. **Iran Journal Public Health**, Shiraz, v.44, n.3, p.369-373. Mar. 2015.

MENDONÇA, I. et al. Polimorfismo do gene da ECA e risco de doença coronária numa população portuguesa. **Revista Portuguesa de Cardiologia**, Madeira, v. 23, n.12, p.1593-1601, Dez. 2004.

PESSUTO, J.; CARVALHO, E.C. Fatores de risco em indivíduos com hipertensão arterial. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 6, n. 1, p. 33-39, jan. 1998.

QINGFANG, H. et al. Association of ACE gene insertion/deletion polymorphism, ACE activity, and ACE mRNA expression with hypertension in a chinese population. **Plos One**, San Francisco, v.8, n. 10, p. e75870, Oct. 2013.

SAMPAIO, R. F.; MANCINI, M. C. Estudos de revisão sistemática: um guia para síntese criteriosa da evidência científica. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, São Carlos, v. 11, n 1, p. 83-89, jan./fev. 2007.

TAVARES, A. Polimorfismos dos genes do sistema renina-angiotensina-aldosterona e as moléstias cardiovasculares. **Revista Brasileira de Hipertensão**, São Paulo, v.7, n.3, p. 237-242. Jul./Set. 2000.

VANZZINI, N. et al. The ACE I/D polymorphism is associated with nitric oxide metabolite and blood pressure levels in healthy Mexican men. **Archivos de cardiología de México**, Cidade do México; v. 85, n.1, p.6. Dez. 2014.

VERLENGIA, R. et al. Lack of Association Between ACE Indel Polymorphism and Cardiorespiratory Fitness in Physically Active and Sedentary Young Women. **Asian Journal Sports Medicine**, Piracicaba, v.5, n.3, e22768. Set. 2014.

WIWANITKIT, S.; WIWANITKIT, V. Angiotensin-converting Enzyme Genetic Polymorphism. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, Bangkok, v. 102, n.6, p.611-612. Jan. 2014.

XU, W.; QIAN, Y.; ZHAO, L. Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism is a genetic biomarker of diabetic peripheral neuropathy: evidence from a meta-analysis. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, Guangdong, v.8, n.1, p. 944-948, Jan. 2015.