Hipertensão arterial de difícil controle e o polimorfismo A1166C do gene *AT1*

Difficult-to-treat hypertension and AT1 A1166C gene polymorphism

Joelmir Colman[1], Lucas Kraeski Krum[1], Mara Cristina de Almeida[2], Roberto Ferreira Artoni[2], Marcelo Ricardo Vicari[2], Gabriela Cordeiro da Costa[3], Mário Augusto Cray da Costa[1], Viviane Nogaroto[2]

RESUMO

Fundamentos: Polimorfismos presentes em genes que codificam proteínas do sistema renina-angiotensina aldosterona (SRAA) estão associados com o quadro de hipertensão arterial sistêmica (HAS) em algumas populações. Estudos demonstram a relação entre o polimorfismo A1166C no gene do receptor tipo 1 da angiotensina II *(AT1)* com a HAS, mas os dados ainda são controversos. Objetivo: Analisar a presença deste polimorfismo em pacientes portadores de HAS resistente da região dos Campos Gerais (PR), Brasil. Materiais e Métodos: Grupos de pacientes com hipertensão de fácil (G1) (n = 34) e difícil controle medicamentoso (G2) (n = 39) foram analisados quanto ao polimorfismo mencionado, utilizando-se a técnica de *Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Lenght Polymorphism* (PCR-RFLP). Os pacientes foram categorizados em três genótipos: AA, AC e CC. As frequências alélicas e genotípicas foram calculadas para cada grupo e os dados confrontados com as características metabólicas e antropométricas dos indivíduos. Resultados: não houve diferença entre os grupos quanto a sexo e idade. O índice de massa corporal (IMC), pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e número de anti-hipertensivos utilizados foram maiores no G2. As frequências alélicas e genotípicas mostraram-se semelhantes entre os grupos ($p > 0,05$). Conclusão: Nesta população, este polimorfismo não está associado ao fácil ou difícil controle da pressão arterial (PA). Possivelmente, outros fatores devem estar influenciando a HAS nestes pacientes.

PALAVRAS-CHAVE

Polimorfismo de fragmento de restrição; pressão arterial; receptor tipo 1 da Angiotensina II.

ABSTRACT

Background: Polymorphisms in genes encoding proteins of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) are associated with systemic arterial hypertension (SAH) in some populations. Some reports demonstrated the relationship between the angiotensin II type 1 receptor *(AT1)* A1166C gene polymorphism with SAH, but the data are still controversial. Objective: To analyze the presence of this polymorphism in patients porting difficult-to-treat SAH from Campos Gerais region (PR), Brazil. Materials and Methods: Groups of patients porting hypertension easy (G1) (n = 34) and difficult-to-treat using drugs (G2) (n = 39) were analyzed according to the polymorphism mentioned, using the Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Lenght Polymorphism (PCR-RFLP) technique. The patients were categorized into three genotypes: AA, AC and CC. The allele and genotype frequencies were calculated and the results were compared with metabolic and anthropometric characteristics of the patients. Results: There was no difference between groups regarding gender and age. The body mass index (BMI), systolic and diastolic blood pressures and the number of antihypertensive drugs were higher in G2. The allele and genotype frequencies were similar between the groups ($p > 0.05$). Conclusions: In this population, the polymorphism analyzed is not associated with easy or difficult-to-treat SAH. Possibly, other factors are influencing the hypertension in these patients.

KEYWORDS

Restriction fragment length polymorphism; arterial pressure; Angiotensin II type 1 receptor.

Recebido em: 03/06/2014. Aprovado em: 25/08/2014.

[1]Departamento de Medicina da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) – Ponta Grossa (PR), Brasil.
[2]Departamento de Biologia Estrutural, Molecular e Genética da UEPG – Ponta Grossa (PR), Brasil.
[3]Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC/PR) – Curitiba (PR), Brasil.
Correspondência para: Viviane Nogaroto – Universidade Estadual de Ponta Grossa – Departamento de Biologia Estrutural, Molecular e Genética – Avenida Carlos Cavalcanti, 4748 – CEP: 84030-900 – Ponta Grossa (PR), Brasil – E-mail: vivianenogaroto@hotmail.com
Conflito de interesses: nada a declarar.

INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial de difícil controle (HADC) é caracterizada pelo uso de três classes de anti-hipertensivos diferentes em doses máximas (sendo um diurético, de preferência tiazídico), mas ainda com a PA acima de 139/89 mmHg; ou, então, o uso de quatro ou mais classes medicamentosas diferentes para manter a pressão arterial (PA) em níveis tensionais considerados desejáveis.[1,2]

O SRAA é o principal componente responsável pelo controle da PA[3,4] e tem na ligação da angiotensina II (ANGII) ao seu receptor tipo 1 (AT1), a sua via final. O AT1 é o principal responsável pela atividade cardiovascular da ANGII,[1,5] pois leva a vasoconstrição, aumenta a liberação de aldosterona e vasopressina, estimula o sistema nervoso central,[3-5] promove o remodelamento cardiovascular, fibrose, hiperplasia e hipertrofia de células do músculo liso vascular, além de produzir citocinas e adipocinas pelos adipócitos.[1,3-6]

Os genes codificantes das proteínas que compõem esse complexo sistema de controle da PA são passíveis de mutação e são alvos de estudos em várias populações, visto que algumas destas mutações estão ligadas às mudanças dos níveis pressóricos, além de outras alterações cardíacas. Entre os mais estudados, podemos citar: a enzima conversora de angiotensina (*ECA*),[6,7] o angiotensinogênio (*AGT*),[8] a renina (*REN*),[9] a aldosterona sintetase (*CYP11B2*),[10] o *AT1*[11,12] e o *GNB3*.[13]

O *AT1* está presente em vários órgãos (vasos, cérebro, fígado, pulmões, suprarrenais, rins e coração),[14,15] sendo um receptor acoplado a proteína G.[16] Um polimorfismo (*single nucleotide polymorphism* - SNP) bem conhecido neste gene é o A1166C (troca de uma adenina por uma citosina na posição nucleotídica 1166), na região 3' não traduzida deste gene. Podem ser encontrados três genótipos diferentes: homozigotos CC (mais suscetíveis a doenças cardiovasculares[17-20]); homozigotos AA; e o heterozigoto AC. Assim, o objetivo deste trabalho foi relacionar a frequência do polimorfismo A1166C em pacientes com HAS de fácil e de difícil controle medicamentoso em uma população de pacientes da região dos Campos Gerais (PR), Brasil.

MÉTODOS

Coleta de dados e caracterização da amostra

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa (COEP n° 116/2011). Participaram do estudo 73 hipertensos do ambulatório de Cardiologia do Hospital Santa Casa de Misericórdia de Ponta Grossa, Ponta Grossa (PR), e dos municípios de Castro (PR) e Irati (PR), pertencentes à Região dos Campos Gerais. Os pacientes foram selecionados por um único cardiologista e estavam em acompanhamento por HAS há mais de um ano. O grupo de fácil controle medicamentoso (n = 34, grupo G1) era composto de pacientes que tinham sua PA controlada com uso de até dois anti-hipertensivos em doses inferiores ao limite máximo. Já o grupo de difícil controle medicamentoso (n = 39, grupo G2) fazia uso de quatro ou mais drogas anti-hipertensivas em doses máximas, com a PA controlada ou não. Em todos os pacientes com HADC foram investigadas e descartadas a HAS secundária, a HAS do jaleco branco e a HAS por má aderência ao tratamento. Os critérios de exclusão foram: necessidade de uso de betabloqueador e outras medicações hipotensoras por insuficiência cardíaca, ou por outras causas; não aceitação do paciente em participar da pesquisa; e, pacientes em uso de três classes de anti-hipertensivos, visto que o objetivo do estudo era a obtenção de dois grupos bem distintos quanto à necessidade de fármacos para controle da PA (G1: até 2 classes de anti-hipertensivos diferentes; G2: 4 ou mais classes).

Os pacientes foram caracterizados quanto: sexo; idade; pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD); índice de massa corporal (IMC); número de anti-hipertensivos, classes e doses; fármacos hipolipemiantes utilizados; e, presença de diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Além disso, os seguintes padrões metabólicos foram analisados (valores de referência de acordo com *American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement*[21]): colesterol total – CT (valor de referência ≤ 200 mg/dL), triglicerídeos – TG (valor de referência ≤ 150 mg/dL), colesterol *high-density lipoprotein* – HDL (valor de referência homens ≥ 40 mg/dL / mulheres ≥ 50 mg/dL), colesterol *low-density lipoprotein* – LDL (valor de referência ≤ 100 mg/dL ou ≤ 70 mg/dL, em pacientes coronariopatas).

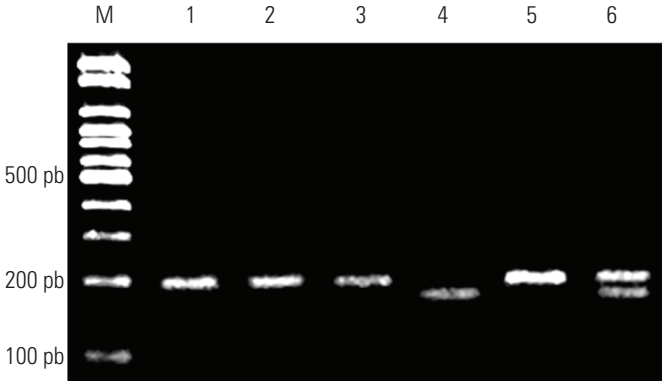
Determinação do polimorfismo

Foram coletados 5 mL de sangue em tubos a vácuo contendo EDTA. A extração do DNA de leucócitos foi realizada utilizando-se kits comerciais (kit Biopur®), de acordo com instruções do fabricante. A análise do polimorfismo A1166C do gene *AT1* foi realizada pela técnica de PCR-RFLP, segundo Hingorani e Brown.[22] Na reação de PCR, foram utilizados os seguintes componentes: 40 ng de DNA molde; 0,4 μM dos oligonucleotídeos *sense* (5´ ATAATGTAAGCTCATCCACCAAGAAG 3´) e *antisense* (5´ TCTCCTTCAATTCTGAAAAGTACTTAA 3´); 2 mM de $MgCl_2$; tampão de reação 1x (contendo 200 mM Tris-HCl, pH 8,4 e 500 mM KCl); 0,08 mM de dNTP´s; 1,5 U de *Taq* DNA Polymerase (Invitrogen®). O termociclador (Biocycler®) foi programado da seguinte maneira: 95°C 5 min; 35x: 95°C 1 min, 54°C 45 s e 72°C 45 s; extensão final 72°C 10 min. Aproximadamente, 600 ng do fragmento amplificado de 166 pb foram digeridos com a enzima de restrição *Bfr* (Fermentas®) (C¯TTAAG), por 16 h a 37°C, segundo instruções do fabricante. Para controle da eficiência das reações de clivagens, foi utilizado um paciente com genótipo sabidamente AC. O genótipo dos indivíduos foi determinado de acordo com o padrão de

bandas visualizadas pela eletroforese em gel de agarose 3%, corado com GelRed (Biotium®). Portadores do genótipo AA apresentam uma banda única de 166 pb (ausência do sítio para enzima de restrição *Bfr)*; três bandas nos tamanhos de 166, 139 e 27 pb são encontradas em pacientes com o genótipo AC (indivíduos com o alelo C apresentam sítio de clivagem para a enzima *Bfr*); nos homozigotos CC são observadas duas bandas de 139 e 27 pb no gel de agarose (Figura 1).

Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o SAS *Software release* 6.10 (*SAS Institute Inc*.). Os valores foram expressos como média ± desvio padrão. Foi utilizado o teste *t* de *Student* para análise entre dois grupos (nível de significância estatística $p < 0,05$). Nas tabelas com 3 grupos, foi utilizado o teste χ^2 de Pearson com correção de Yates para variáveis nominais. Como o desenho do estudo é caso-controle, foi calculado o *odds ratio* (OR) como medida de associação e seu intervalo de confiança de 95% (IC95%).



M: marcador de peso molecular; 1, 3, 5: Fragmento de DNA de 166 pb referente à amplificação da região polimórfica; 2: Genótipo homozigoto AA; 4: Genótipo homozigoto CC; 6: Genótipo heterozigoto AC.

Figura 1. Gel de agarose 3% evidenciando as bandas resultantes de ensaios de PCR-RFLP para genotipagem de indivíduos quanto ao polimorfismo A1166C no gene *AT1*.

RESULTADOS

Dos 73 participantes da pesquisa, 34 foram incluídos no G1 e 39 no G2. O IMC, número de classes medicamentosas em uso pelos pacientes, PAS e PAD foram maiores no G2 ($p < 0,05$) (Tabela 1). Os valores das médias de idade e sexo mostraram-se semelhantes entre os grupos. Em relação ao perfil metabólico, os pacientes do G2 apresentaram níveis mais elevados de CT e TG ($p < 0,05$), indicando um possível quadro de dislipidemia mais grave nestes indivíduos (Tabela 2), tendo em vista que o tratamento com medicamentos hipolipemiantes entre os grupos mostrou-se semelhante ($p > 0,05$) (Tabela 3).

Todos os pacientes do G2 estavam com o SRAA bloqueado por inibidor da enzima conversora da angiotensina (IECA) ou bloqueador do receptor da angiotensina II (BRA), além de um diurético, enquanto o inibidor da enzima conversora de angiotensina (IECA) foi o medicamento mais utilizado no G1 (Tabela 4).

A técnica de PCR-RFLP permitiu a correta determinação dos genótipos dos pacientes, quanto ao polimorfismo A1166C presente no gene *AT1*. A eletroforese em gel de agarose possibilitou a observação de diferentes bandas, referentes aos genótipos (Figura 1). A banda referente a 27 pb não pode ser observada no gel apresentado, devido ao seu tamanho reduzido. Foi identificado apenas um indivíduo portador do genótipo CC (presente no G2). No G1, 21 pacientes apresentaram o genótipo AA e 13 são heterozigotos AC. No G2, 20 indivíduos possuem genótipo AA, 18 são heterozigotos AC e apenas 1 CC.

Ao analisar as frequências alélicas e genotípicas dos pacientes em relação ao polimorfismo analisado neste estudo, pode-se observar que não houve diferenças significativas entre os grupos ($p > 0,05$), indicando que a população deste trabalho encontra-se em equilíbrio (Tabela 5). O OR indicou que para cada 1,53 pacientes portadores de HADC com genótipo AC ou CC, há um paciente com genótipo AA (OR: 1,53; IC95% 0,6 – 3,9), sendo que a chance de um paciente nesta condição clínica ter genótipo AC ou CC é de 60,47%. Quando observado, o OR entre o alelo e a condição clínica estudada, a chance de um hipertenso de difícil controle possuir o alelo C é de 57,08%.

Tabela 1. Caracterização dos pacientes hipertensos de fácil controle (G1) e difícil controle medicamentoso (G2).

Características	G1	G2	p
n	34	39	
Idade (anos)	58,7 ± 9,7	59,6 ± 11,9	0,72
Sexo	20M (59%)/14F (41%)	13M (33%)/26F (66%)	0,056
IMC (kg/m^2)	28,1 ± 2,8	30,1 ± 4,7	0,032*
Nº Classes	1,7 ± 0,6	5,7 ± 0,8	< 0,0001*
PAS (mmHg)	124,4 ± 11,9	152,4 ± 29,2	< 0,0001*
PAD (mmHg)	77,4 ± 7,5	91,7 ± 22,2	0,0006*

Dados expressos como média ± desvio padrão. IMC: Índice de massa corporal; Nº classes: Número de classes diferentes de anti-hipertensivos; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica. p: teste *t Student*; *p < 0,05.

Tabela 2. Características metabólicas dos participantes do estudo.

Características	G1	G2	p
CT (mg/dL)	148,76 ± 32,54	167,10 ± 43,40	0,04*
HDL (mg/dL)			
Feminino	49.28 ± 9,80	43,92 ± 13,90	0,06
Masculino	44,4 ± 8,73	47 ± 19,48	0,47
LDL (mg/dL)	77,8 ± 27,6	86 ± 34,7	0,27
TG (mg/dL)	109,4 ± 36,3	137,3 ± 61,1	0,022*
DM2	10 (29,41%)	18 (46,15%)	0,22

Dados expressos como média ± desvio padrão. CT: colesterol total; HDL: colesterol *high-density lipoprotein*; LDL: colesterol *low-density lipoprotein*; TG: triglicerídeos; DM2: diabetes mellitus tipo 2. p: teste *t Student*, *p < 0,05.

Tabela 3. Fármacos hipolipemiantes utilizados pelos hipertensos dos grupos G1 e G2.

Fármacos	G1 n(%)	G2 n(%)	p
Ezetimiba	5 (14,70)	5 (12,82)	0,81
Estatinas			
Atorvastatina 40 mg	2 (5,88)	0	0,41
Atorvastatina 80 mg	10 (29,41)	9 (23,08)	0,72
Sinvastatina 20 mg	3 (8,82)	3 (7,69)	0,86
Sinvastatina 40 mg	6 (17,64)	7 (17,95)	0,97
Sinvastatina 80 mg	8 (23,52)	10 (25,64)	0,83
Fibrato	9 (26,47)	10 (25,64)	0,93

p: teste do χ^2 com correção de Yates.

Tabela 4. Classes de anti-hipertensivos prescritos aos pacientes.

Medicamentos	G1 n(%)	G2 n(%)
ACC[#]	6 (18)	37 (95)
Ant. aldosterona[ǂ]	0 (0)	37 (95)
Betabloqueador	15 (44)	27 (69)
Bloqueador central[§]	0 (0)	27 (69)
BRA[†]	15 (44)	25 (64)
Diuréticos	7 (21)	39 (100)
IECA[‡]	16 (47)	16 (41)
Inibidor da renina	0 (0)	8 (20)

[#]Antagonista do canal de cálcio; [ǂ]Antagonista de receptor de aldosterona; [§]Bloqueador de ação central; [†]Bloqueador do receptor AT1 da angiotensina II; [‡]Inibidor da enzima conversora da angiotensina.

Tabela 5. Frequências alélicas e genotípicas de G1 e G2, considerando-se o SNP A1166C no *AT1*.

GRUPOS		Genótipos			Alelos	
		AA	AC	CC	A	C
G1 (n = 34)	FO	21	13	0	55	13
	FE	19,09	14,43	0,46	52,63	15,36
G2 (n = 39)	FO	20	18	1	58	20
	FE	21,90	16,56	0,53	60,36	17,63
			$\chi^2 = 1,49$; p = 0,47 OR[1]: 1,53 IC95% 0,6 – 3,9		$\chi^2 = 0,55$; p = 0,45 OR[2]: 1,33 IC95% 0,61 – 2,9	

OR[1]: *Odds ratio* entre AA versus AC/CC; OR[2]: relação entre o alelo A versus alelo C; FO: frequência observada; FE: frequência esperada; IC: intervalo de confiança.

DISCUSSÃO

Neste trabalho, foi analisado o polimorfismo A1166C no gene *AT1* em uma população de hipertensos da região Campos Gerais (PR), Brasil, visto que a relação entre indivíduos CC e portadores de HAS ainda se mostra controversa em alguns estudos.[23,24,28] Ambos os grupos analisados eram compostos apenas por pacientes com HAS, classificados como de fácil ou difícil controle medicamentoso, com o intuito de se observar se fatores genéticos estariam influenciando, e teriam um peso maior que o ambiente em si, no nível tensional e na resposta ao tratamento. Outros trabalhos já relataram a relação entre o polimorfismo estudado em pacientes com HAS essencial e normotensos,[12] pacientes com infarto agudo do miocárdio versus pacientes sem lesão coronariana,[25] ou mesmo comparando-se normotensos ou hipertensos apresentando hipercolesterolinemia.[26] Porém, nenhum estudo ainda havia relacionado a presença do polimorfismo A1166C e a HADC.

Freitas[23] analisou fatores ambientais e genéticos, entre eles o SNP A1166C, em hipertensos e não hipertensos da região Amazônica e concluiu que seria a presença do alelo D da *ECA* (mas não o alelo C do *AT1*), associado à idade avançada, alcoolismo e envelhecimento, como fatores predisponentes para a HAS. Castellano et al.[24] estudaram, na população italiana, a relação entre o SNP A1166C com PA e estrutura cardiovascular, mostrando que pacientes portadores do genótipo CC possuíam menor nível pressórico basal de PA e menor número de pacientes com HAS, em comparação aos portadores do genótipo AA ou AC. Como não foram encontradas diferenças significativas entre o perfil antropométrico e metabólico na amostra italiana, provavelmente o perfil genético desses pacientes tenha sido o grande responsável pelo resultado encontrado.

Nossos dados revelaram que o polimorfismo A1166C do gene *AT1* não tem relação com o fácil ou difícil controle da HAS nos grupos estudados. As frequências alélicas e genotípicas não apresentaram diferenças entre os grupos, evidenciando que a população encontra-se em equilíbrio. Por tratar-se de uma doença multifatorial, outros aspectos podem ter influenciado o quadro de HAS, como o maior IMC no G2, além da dislipidemia mais grave neste grupo, visto que os níveis de CT e TG foram mais elevados do que em G1, mesmo com doses semelhantes de hipolipemiantes entre os participantes do G1 e G2. Houve também uma tendência ao maior número de diabéticos no G2. Sabe-se que a obesidade leva a um aumento do volume extracelular, ocasionando aumento da pós-carga, maior ativação dos componentes do SRAA, aumento da produção de leptina, que de maneira ainda desconhecida, estimula o sistema simpático renal e adrenal.[27] Além disso, esta doença provoca alterações na natriurese e hiperfiltração glomerular, acarretando em lesão renal, o que agrava a retenção de sódio. A associação da resistência à insulina, hiperglicemia e DM2 leva a formação de radicais livres de oxigênio e altera a produção e ação de fatores de crescimento, citocinas e hormônios.[28] Sabidamente, as alterações do metabolismo da glicose aumentam proporcionalmente com o IMC.[27] A hipercolesterolemia, principalmente com aumento do LDL, causa lesão endotelial diminuindo a produção de óxido nítrico (NO) e também aumenta a expressão do *AT1* nas células musculares lisas dos vasos, favorecendo ao aumento da PA.[29] Possivelmente, essas características metabólicas podem ter exercido uma influência maior no quadro clínico dos hipertensos do presente trabalho, levando ao quadro de HAS nestes indivíduos.

CONCLUSÃO

Na população de hipertensos analisada neste trabalho, não foi observada uma relação entre o polimorfismo A1166C de *AT1* e a HAS de fácil ou de difícil controle medicamentoso. Provavelmente, outros fatores devem influenciar a HAS nestes hipertensos, visto que o IMC, níveis de CT e TG apresentaram-se mais elevados no grupo G2. Além disso, o envolvimento de outros genes relacionados ao quadro de HAS, e não analisados neste trabalho, não devem ser descartados.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado pela CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), Fundação Araucária (Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e SETI/UGF (Secretaria de Estado da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior/Unidade Gestora do Fundo do Paraná).

REFERÊNCIAS

1. Calhoun DA, Jones D, Textor S, et al. Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment. A scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. Hypertension. 2008;51:1403-19.
2. Geleilete TJM, Nobre F, Coelho EB. Abordagem inicial em pacientes com hipertensão arterial de difícil controle. Rev Bras Hipertens. 2008;15(1):10-6.
3. Bátkai S, Thum T. MicroRNAs in Hypertension: Mechanisms and therapeutic targets. Curr Hypertens Rep. 2012;14:79-87.
4. Fyhrquist F, Saijonmaa O. Renin-angiotensin system revisited. J Intern Med 2008;264(3):224-36.
5. Farrag W, Eid M, El-Shazly S, Abdallah M. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism and telomere shortening in essential hypertension. Mol Cell Biochem. 2011;351:13-8.
6. Mehri S, Mahjoub S, Hammami S, et al. Renin-angiotensin system polymorphisms in relation to hypertension status and obesity in a Tunisian population. Mol Biol Reports. 2012;39:4059-65.
7. Souza DRS, Russeff GJS, Vaz-de-Melo RO, Pinhel MAS, Vilela-Martin JF. Relevância do polimorfismo inserção/deleção para enzima conversora da angiotensina em casuística brasileira com hipertensão arterial sistêmica e hipertrofia ventricular esquerda. Rev Bras Hipertens. 2013;20(1):42-6.
8. Jeunemaitre X, Soubriert F, Corvol P, et al. Molecular basis of human hypertension: Role of angiotensinogen. Cell. 1992;71:169-80.
9. Hasimu B, Nakayama T, Mizutani Y, et al. Haplotype analysis of the human renin gene and essential hypertension. Hypertension. 2003;41:308-12.
10. Davies E, Holloway CD, Ingram MC, et al. Aldosterone excretion rate and blood pressure in essential hypertension are related to polymorphic differences in the aldosterone synthase gene CYP11B2. Hypertension. 1999;33:703-7.

11. Bonnardeaux A, Davies E, Jeunemaitre X, et al. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension. Hypertension. 1994;24:63-9.
12. Sugimoto K, Katsuya T, Ohkubo T, et al. Association between Angiotensin II Type 1 Receptor gene polymorphism and essential hypertension: the Ohasama Study. Hypertens Res. 2004;27(8):551-6.
13. Krum LK, Colman J, Almeida MC, et al. Relação do polimorfismo C825T do gene *GNB3* e hipertensão arterial sistêmica de difícil controle. Rev Bras Cardiol. 2014;27(2):607-15.
14. Sanjuliani AF, Torres SRG, Paula NL, Bassan FB. Eixo Renina-angiotensina-aldosterona: Bases Fisiológicas e Fisiopatológicas. Rev HUPE. 2011;10:20-30.
15. Mehta PK, Griendling KK. Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. Am J Physiol Cell Physiol. 2007;292(1):C82-97.
16. Katsuya T, Morishita R. Gene polymorphism of angiotensin II type 1 and type 2 receptors. Curr Pharm Des. 2013;19(17):2996-3001.
17. Jiang S, Hsu Y, Vennerse AS, et al. Interactive effect of angiotensin II type 1 receptor (AGT1R) polymorphisms and plasma irbesartan concentration on antihypertensive therapeutic responses to irbesartan. J Hypertens. 2011;29(5):890-5.
18. Hannila-Handelberga T, Kontulaan KK, Paukkub K, et al. Common genetic variations of the renin-angiotensin-aldosterone system and response to acute angiotensin I-converting enzyme inhibition in essential hypertension. J Hypertens. 2010;28(4):771-9.
19. Zhang N, Cui H, Yang L. Effect of Angiotensin II Type I Receptor A1166C Polymorphism on Benazepril Action in Hypertensive Patients: A Family-based Association Test Study. Arch Pharm Res. 2012;35(10):1817-22.
20. de Denus S, Zakrzewski-Jakubiak M, Dube MP, et al. Effects of AGTR1 A1166C gene polymorphism in patients with heart failure treated with candesartan. Ann Pharmacother. 2008;42(7):925-32.
21. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/ National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. Circulation. 2005;112(17): 2735-52.
22. Hingorani AD, Brown MJ. A simple molecular assay for the C1166 variant of the angiotensin II type 1 receptor gene. Biochem Biophys Res Commun. 1995;213(2):725-9.
23. Freitas SRS, Cabello PH, Moura-Neto RS, Dolinsky LC, Bóia MN. Análise combinada de fatores genéticos e ambientais na hipertensão essencial em um município da região Amazônica. Arq Bras Cardiol. 2007;88(4):447-51.
24. Castellano M, Muiesan ML, Beschi M, et al. Angiotensin II Type 1 Receptor A/C^{1166} Polymorphism Relationships With Blood Pressure and Cardiovascular Structure. Hypertension. 1996;28(6):1076-80.
25. Araújo MA, Menezes BS, Lourenço C, Cordeiro ER, Gatti RR, Goulart LR. O polimorfismo A1166C do receptor tipo 1 da angiotensina II no infarto agudo do miocárdio. Arq Bras Cardiol. 2004;83(5):404-8.
26. Morisawa T, Kishimoto Y, Kitano M, Kawasaki H, Hasegawaa, J. Influence of angiotensin II type 1 receptor polymorphism on hypertension in patients with hypercholesterolemia. Clin Chim Acta. 2001;304(1-2):91-7.
27. Barreto-Filho JSA, Consolim-Colombo FM, Lopes HL. Hipertensão arterial e obesidade: causa secundária ou sinais independentes da síndrome plurimetabólica? Rev Bras Hipertens. 2002;9(2):174-84.
28. Mottl AK, Shoham AD, North KE. Angiotensin II type 1 receptor polymorphisms and susceptibility to hypertension: A HuGE review. Genet Med. 2008;10(8):560-74.
29. Marte AP, Santos RD. Bases fisiopatológicas da dislipidemia e hipertensão arterial. Rev Bras Hipertens. 2007;14(4):252-7.