



Sociedade
Brasileira
de Hipertensão

sbh.org.br

ISSN-1809-4260
Setembro-Dezembro 2024
Volume 26, Número 3

R e v i s t a
Hipertensão



Sociedade Brasileira de Hipertensão

Editores Chefes

Rogério Baumgratz de Paula
Márcia Regina Simas Torres Klein

Conselho Editorial

Amaury Zatorre Amaral, Angelina Zanesco, Carlos Alberto Machado, Decio Mion Junior, Evandro José Cesarino, Fernanda Marciano Consolim-Colombo, Fernando Antonio Almeida, Fernando Nobre, Frida Liane Plavnik, Giovanio Vieira da Silva, Grazia Maria Guerra, Heno Ferreira Lopes, Heitor Moreno Junior, José Augusto Soares Barreto Filho, José Fernando Vilela Martin, Kátia de Angelis Lobo D'Ávila, Leandro de Campos Brito, Luciana Angelo, Luciano Ferreira Dragner, Luis Cuadrado Martin, Luiz Aparecido Bortolotto, Marcia Maria Godoy Gowdak, Márcia Regina Simas Torres Klein, Maria Claudia Costa Irigoyen, Márcio Gonçalves de Souza, Nelson Dinamarco Ludovico, Odilson Marcos Silvestre, Paulo Cesar Brandão Veiga Kardim, Rogério Baumgratz de Paula, Rui Manuel dos Santos Póvoa, Sandra Lia do Amaral, Sebastião Rodrigues Ferreira Filho, Thiago Macedo, Wille Oigman

Sociedade Brasileira de Hipertensão

E-mail: sbh@sbh.org.br
Site: www.sbh.org.br

Produção Editorial

Arquivo Digital

Diretoria 2023/2024

Presidente: Kátia de Angelis
Vice-presidente: Frida Liane Plavnik
1º Secretário: Cláudia Lúcia de Moraes Forjaz
2º Secretário: Elizabeth Silaid Muxfeldt
1º Tesoureiro: Sandra Lia do Amaral Cardoso
2º Tesoureiro: Luís Cuadrado Martin
Diretor Científico: Maria Claudia Irigoyen
Presidente Anterior: Luiz A Bortolotto
Diretora Científica da Área Multiprofissional: Grazia Maria Guerra
Diretor de Ensino: Nelson Dinamarco Ludovico
Diretores de Relações Institucionais: Amaury Zatorre Amaral e Martim Elviro de Medeiros Junior
Editores da Revista Hipertensão: Rogério Baumgratz de Paula e Márcia Regina Simas Torres Klein
Representação da Nova Geração: Joao Vicente da Silveira, Leandro Campos de Brito e Michelle Rabello da Cunha

Conselho Científico 2023/2024

Ana Flávia De Souza Moura
Andrea Pio De Abreu
Cibele Isaac Saad Rodrigues
Cláudia Lúcia De Moraes Forjaz
Débora Simões De Almeida Colombari
Dulce Helena Casarini
Evandro José Cesarino
Fernanda Salomão Gorayeb Polacchini
Frida Liane Plavnik
Hélio Salgado
José Fernando Vilela Martins
Luis A. Bortolotto
Mario Fritsch
Nelson Dinamarco
Sandra Lia Do Amaral Cardoso

Índice

Artigos de Revisão

- Associação de fármacos no tratamento da hipertensão**
Mario Fritsch Neves , Wille Oigman 103
- Modelos animais para o estudo de hipertensão arterial**
Débora Simões Almeida Colombari , Milede Hanner Saraiva Paes, Sarah Antunes da Silva,
Rayanelle Tissiane Gomes da Silva, Fernanda Campos de Medeiros,
Guilherme Fleury Fina Speretta, Eduardo Colombari 111
- A situação atual da medição de pressão arterial por wearables**
Rafael Feldmann Farias , Célio Henrique de Matos Fraga, Luciana Casciny Pacifico,
Maria Luiza Otero D’Almeida Lamardo, Olga Satomi Yoshida, Rodrigo de Freitas Guilherme 117
- N-domain Angiotensin-Converting Enzyme of 90 kDa: a potential biomarker for hypertension**
Andréia Cristina Febba-Gomes, Nayara Azinheira Nobrega Cruz, Fernanda Aparecida Ronchi, Fernanda Barrinha Fernandes, Leila Cristina Verlangieri Maluf Meiken,
Danielle Sanches Aragão, Maria Claudina Camargo de Andrade, Andressa Melina Severino Teixeira, Cleber Aparecido Leite, Danielle Yuri Arita, Rodrigo Yokota,
Lilian Caroline Gonçalves Oliveira, Jose Geraldo Mill, Frida Liane Plavnik,
Dulce Elena Casarini 123

Revisão

Associação de fármacos no tratamento da hipertensão

Mario Fritsch Neves^{1,#} , Wille Oigman¹ 

¹Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Departamento de Clínica Médica, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Resumo. Esta revisão destaca os benefícios da terapia combinada no tratamento inicial da hipertensão, incluindo o controle mais eficaz e rápido da pressão arterial, maior adesão ao tratamento, particularmente com pílulas combinadas, e a redução de efeitos adversos. A terapia combinada permite atingir várias vias fisiopatológicas da hipertensão, minimizando efeitos colaterais com doses menores de cada droga. Recomenda-se o início do tratamento com duas classes diferentes de medicamentos, como inibidores do sistema renina-angiotensina-aldosterona combinados com bloqueadores de canais de cálcio ou diuréticos tiazídicos. No entanto, desvantagens incluem risco de hipotensão, escolha complexa das combinações e custo inicial elevado. As diretrizes atuais favorecem a terapia combinada inicial para a maioria dos pacientes hipertensos, não somente nos indivíduos de alto risco, destacando sua eficácia na redução de eventos cardiovasculares e melhora no controle da pressão arterial.

Palavras-chave: terapia combinada, fisiopatologia, efeitos adversos, controle pressórico.

Recebido: 30 de Novembro de 2024; Aceito: 12 de Dezembro de 2024.

Drug combinations in the treatment of hypertension

Abstract. This review highlights the benefits of combination therapy in the initial treatment of hypertension. Among the benefits are more effective and rapid blood pressure control, improved treatment adherence, particularly with single pill combination, and reduced adverse effects. Combination therapy targets multiple pathophysiological pathways of hypertension and minimizes side effects by using lower doses of each medication. It is recommended to start treatment with two different classes of medications, such as renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors combined with calcium channel blockers or thiazide diuretics. However, disadvantages include the risk of hypotension, the complexity of selecting appropriate combinations, and higher initial costs. Current guidelines favor initial combination therapy for most hypertensive patients, not only for high-risk individuals, highlighting its efficacy in reducing cardiovascular events and improving blood pressure control.

Keywords: combination therapy, pathophysiology, adverse effects, blood pressure control.

1. Introdução

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), mais de 1,3 bilhão de pessoas no mundo sofrem de hipertensão, e muitas permanecem sem diagnóstico ou são tratadas inadequadamente¹. Na prática clínica, o tratamento geralmente começa com modificações no estilo de vida e o uso de um agente anti-hipertensivo. Embora alguns pacientes possam obter o controle da pressão arterial com a monoterapia, uma proporção significativa exige um tratamento mais intensivo devido à natureza complexa e multifatorial da hipertensão. A terapia combinada com dois ou mais medicamentos anti-hipertensivos de

diferentes classes farmacológicas, é cada vez mais reconhecida como a estratégia mais eficaz para atingir e manter as metas de pressão arterial.

2. Quais são as razões fisiopatológicas para utilizar combinação de drogas no início do tratamento da hipertensão?

A hipertensão é uma condição complexa e multifatorial que envolve várias vias reguladoras da pressão arterial, incluindo o sistema nervoso, os mecanismos hormonais e os rins. A

[#]Autor de correspondência. E-mail: mariofneves@gmail.com.

compreensão dessas vias ajuda a explicar por que a monoterapia geralmente é insuficiente para o controle adequado da pressão arterial e porque a terapia combinada, que visa a vários mecanismos, geralmente é mais eficaz.

Em muitos pacientes hipertensos, há um aumento da atividade do sistema nervoso simpático. Essa hiperatividade resulta em vasoconstrição, aumento da frequência cardíaca e débito cardíaco elevado, o que contribui para a elevação da pressão arterial. Medicamentos como betabloqueadores, alfa-bloqueadores e simpaticolíticos centrais têm como alvo essa via, reduzindo a estimulação simpática.

O sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) é fundamental na regulação da pressão arterial por meio do controle do volume sanguíneo e da resistência vascular sistêmica. A desregulação desse sistema, principalmente a ativação excessiva da angiotensina II, leva à vasoconstrição, à retenção de sódio e à expansão do volume de fluidos, o que aumenta a pressão arterial. Os inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA) e os bloqueadores dos receptores de angiotensina II (BRA) são comumente usados para inibir o SRAA, reduzindo a resistência periférica e a retenção de líquidos.

A hipertensão também é caracterizada pelo aumento da resistência vascular devido à disfunção endotelial e ao remodelamento vascular que leva à redução da relação média-luz. As células endoteliais desempenham um papel fundamental na modulação do tônus vascular por meio da liberação de vasodilatores, especialmente o óxido nítrico, e vasoconstritores, como a endotelina. Os bloqueadores dos canais de cálcio (BCCs), que inibem o influxo de cálcio nas células do músculo liso vascular, ajudam a reduzir a resistência vascular e a melhorar a função endotelial. Os inibidores do SRAA melhoram a função endotelial e atenuam o remodelamento vascular através da diminuição da ação da angiotensina II. Entre os betabloqueadores, o carvedilol, pelo bloqueio simultâneo dos receptores alfa-adrenérgicos, e o nebivolol, que tem a capacidade de estimular a produção de óxido nítrico (NO) pelas células endoteliais, podem contribuir para vasodilatação, melhora da função endotelial e diminuição da resistência vascular periférica^{2,3}.

Considerando os diversos mecanismos que contribuem para a hipertensão, o direcionamento para uma única via etiopatogênica geralmente é insuficiente. Por exemplo, embora um inibidor da ECA possa reduzir os efeitos da angiotensina II, o organismo pode compensar aumentando a atividade simpática ou a retenção de sódio por meio de outras vias. Portanto, a combinação de medicamentos que atuam em diferentes mecanismos pode proporcionar um controle mais abrangente e adequado da pressão arterial.

3. Quais são os benefícios da terapia combinada?

A terapia combinada, especialmente quando administrada em doses fixas, tende a proporcionar uma redução mais significativa da pressão arterial em comparação com a monoterapia⁴⁻⁶. Estudos demonstram que a combinação de dois agentes anti-hipertensivos pode alcançar metas de pressão arterial em uma proporção maior de pacientes⁷⁻⁹. Além disso, a utilização de combinações em pílula única pode melhorar a adesão dos pa-

cientes ao tratamento, uma vez que simplifica o regime terapêutico, reduzindo o número de comprimidos que o paciente precisa tomar diariamente^{8,10,11}.

Ao contrário dos que muitos médicos pensam, a terapia combinada bem adequada reduz a ocorrência de efeitos adversos. De fato, a combinação de doses baixas de dois medicamentos pode resultar em menos efeitos colaterais do que doses mais altas de um único agente, melhorando a tolerabilidade do tratamento. Além dos possíveis benefícios da combinação de diferentes classes de medicamentos com ações farmacológicas e fisiológicas sinérgicas, essa abordagem é útil para aumentar a adesão do paciente ao tratamento, principalmente se for fornecida em um único comprimido. A minimização dos efeitos colaterais é fundamental para o tratamento de longo prazo de uma condição frequentemente assintomática. As combinações de baixas doses de diferentes classes com ações complementares podem proporcionar a melhor relação entre menores efeitos colaterais e melhor tolerabilidade com uma redução significativa da pressão arterial^{11,12}.

Por fim, a terapia combinada pode proporcionar um controle mais rápido da pressão arterial, o que é desejado mesmo nos hipertensos de baixo risco, mas particularmente benéfico nos pacientes com risco cardiovascular elevado^{13,14}.

4. Quais seriam as desvantagens de iniciar com terapia combinada?

Em alguns pacientes, especialmente naqueles com mais idade, o início da terapia com dois medicamentos pode aumentar o risco de hipotensão ou hipotensão ortostática, exigindo monitoramento cuidadoso, como recomendado em algumas diretrizes^{15,16}. Uma outra desvantagem que deve ser considerada é a complexidade para a escolha de uma combinação mais adequada. A escolha da combinação das classes medicamentosas pode ser complexa, exigindo consideração cuidadosa das características individuais do paciente e das possíveis interações medicamentosas. Portanto, uma tarefa que exige conhecimento e experiência, devendo sempre compartilhar a decisão com o paciente, o que sempre favorece uma maior adesão ao tratamento.

Nos países em desenvolvimento, como o Brasil, e nas regiões de baixa renda, o custo pode ser um fator limitante. Embora algumas combinações possam ser mais econômicas, outras podem aumentar o custo do tratamento, dependendo dos medicamentos específicos utilizados e da disponibilidade de combinações em pílula única¹⁷. Por outro lado, se a análise de custo for feita de uma forma mais global, incluindo redução de eventos cardiovasculares, renais, de outras complicações e de internações, um aumento inicial do custo direto poderia ser rapidamente justificado e compensado pela redução do custo no médio e longo prazo, tanto para o indivíduo como para as políticas de saúde (Tabela 1).

Tabela 1 - Vantagens e desvantagens da terapia combinada.

Vantagens	Desvantagens
Maior redução da PA	Risco de hipotensão ortostática
Proporção maior de pacientes dentro das metas de PA	Escolha complexa da combinação mais adequada
Controle mais rápido da PA	Custo inicial potencialmente maior
Melhor adesão ao tratamento (nas combinações em pílula única)	
Redução de efeitos colaterais	

5. Que grupos de pacientes mais se beneficiam da terapia combinada no início do tratamento anti-hipertensivo?

Já está bem estabelecido que a terapia combinada para hipertensão é particularmente benéfica e indicada para os grupos de pacientes com hipertensão moderada à grave ou de alto risco cardiovascular. De acordo com as diretrizes americanas, europeias e brasileiras, a maioria dos pacientes com pressão arterial suficientemente elevada para justificar a terapia farmacológica pode se beneficiar do tratamento inicial com dois agentes^{15,16,18,19}. Isso é especialmente relevante para pacientes com pressão arterial sistólica ≥ 160 mmHg, pressão arterial diastólica ≥ 100 mmHg, aqueles com hipertensão leve e risco cardiovascular elevado, como aqueles com doença cardiovascular estabelecida, diabetes, doença renal crônica ou múltiplos fatores de risco cardiovascular. Nos últimos anos, a indicação para iniciar com terapia combinada se ampliou para os pacientes hipertensos, independentemente do risco cardiovascular^{16,19}.

Estudos indicam que pacientes com risco cardiovascular elevado, incluindo aqueles com hipertensão resistente ou comorbidades como doença arterial coronariana, se beneficiam significativamente da terapia combinada. Por exemplo, a combinação de um inibidor da enzima conversora de angiotensina (IECA) com um bloqueador dos canais de cálcio (BCC) mostrou-se eficaz na redução de eventos cardiovasculares em pacientes com hipertensão resistente²⁰. Além disso, a terapia combinada pode melhorar a adesão ao tratamento devido à simplificação do regime terapêutico, especialmente quando administrada em forma de pílula única¹¹.

6. Quais são os perfis de pacientes relacionados com boa adesão ao tratamento?

A adesão ao tratamento para hipertensão pode variar significativamente entre diferentes grupos etários, influenciada por fatores demográficos, socioeconômicos e clínicos. Estratégias como o uso de medicamentos de dose única diária e a terapia combinada em pílula única podem melhorar a adesão ao tratamento anti-hipertensivo.

Estudos indicam que a adesão ao tratamento é geralmente melhor em adultos mais velhos em comparação com adultos

mais jovens. Por exemplo, um estudo mostrou que a não adesão total foi três vezes maior em pacientes mais jovens com hipertensão resistente ao tratamento em comparação com pacientes mais velhos ou com complicações cardiovasculares²¹. Além disso, fatores como suporte familiar e nível educacional também influenciam a adesão em idosos, com aqueles vivendo com a família e com maior nível educacional apresentando melhor adesão²².

Entre adultos com menos de 65 anos, a persistência e a adesão ao tratamento anti-hipertensivo não mostraram melhorias significativas ao longo do tempo, com taxas de não persistência e baixa adesão permanecendo relativamente estáveis²³. Em contraste, a adesão entre idosos pode ser melhorada por meio de estratégias como prescrições de 90 dias e liberação programada para uso de medicamentos^{23,24}. Portanto, a adesão ao tratamento para hipertensão é multifatorial e pode ser melhorada por intervenções direcionadas que considerem as características específicas de cada grupo etário.

7. Quais são as recomendações das atuais diretrizes para terapia combinada?

As diretrizes produziram uma variedade de estratégias diferentes para iniciar e aumentar os medicamentos para reduzir a PA nos pacientes hipertensos. No passado, as diretrizes focavam mais na abordagem de cuidados escalonados, iniciando o tratamento com monoterapias diferentes e, em seguida, adicionando sequencialmente outros medicamentos, até que o controle da PA fosse alcançado. O início do tratamento anti-hipertensivo com uma combinação de dois medicamentos era proposto apenas para pacientes com elevações acentuadas da PA ou com elevado risco cardiovascular. A baixa taxa de controle da PA na maioria dos pacientes hipertensos indicou uma necessidade para uma abordagem diferente, pois a estratégia de tratamento por etapas não era suficientemente eficaz.

As diretrizes atuais para hipertensão enfatizam a importância da terapia anti-hipertensiva combinada, não somente para pacientes que não conseguem um controle adequado da pressão arterial com a monoterapia, mas como principal estratégia para início do tratamento. A justificativa para a terapia combinada inclui a necessidade de atingir diferentes vias fisiológicas para obter um melhor controle da pressão arterial e minimizar os efeitos colaterais usando doses menores de cada medicamento^{25,26}.

As diretrizes do *American College of Cardiology/American Heart Association (ACC/AHA)* já recomendam o início do tratamento com dois agentes anti-hipertensivos de classes diferentes para pacientes com PA $\geq 140/90$ mmHg ou com PA basal superior a 20/10 mm Hg acima da meta¹⁵.

As últimas diretrizes da Sociedade Europeia de Hipertensão recomendam o tratamento combinado inicial na maioria dos pacientes hipertensos, considerando as evidências disponíveis¹⁹. Em comparação com a monoterapia, o tratamento combinado inicial contorna o problema da inércia com a monoterapia²⁷, melhora a adesão a longo prazo²⁸⁻³⁰, é acompanhado por um melhor controle da PA a curto e longo prazo^{30,31} e está associado

com uma redução da incidência de desfechos cardiovasculares^{26,32-34}.

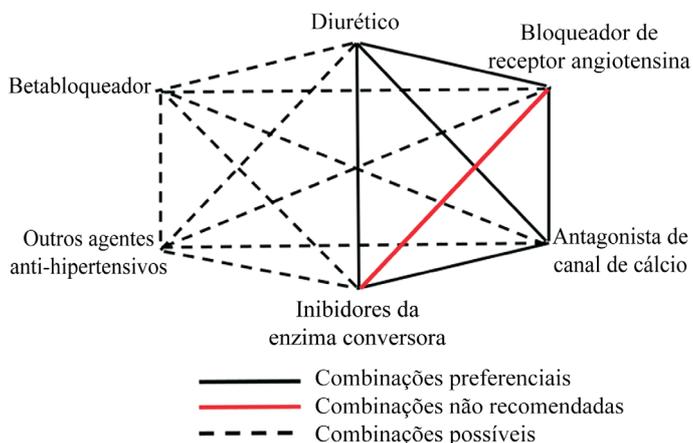
As recentes diretrizes da Sociedade Europeia de Cardiologia recomendam o tratamento combinado para a maioria dos pacientes com hipertensão confirmada como terapia inicial¹⁶. As exceções a serem consideradas incluem pacientes com idade ≥ 85 anos, aqueles com hipotensão ortostática sintomática, fragilidade moderada à grave ou PA elevada (PA sistólica 120-139 mmHg ou PA diastólica 70-89 mmHg) com indicação concomitante de tratamento^{4,5,9,14,27}.

De fato, a grande mudança nos últimos anos foi uma pergunta subentendida para o início do tratamento. No passado, o tratamento padrão se iniciava com monoterapia e a pergunta era: há indicação para iniciar com terapia combinada com duas classes anti-hipertensivas? Com a observação de que a monoterapia controla a PA em menos de 30% dos indivíduos hipertensos, pelas evidências de estudos clínicos e pelas razões fisiopatológicas já descritas, houve uma inversão da pergunta a ser feita no início do tratamento: Há alguma razão para iniciar com apenas um medicamento anti-hipertensivo? Apesar de serem formas diferentes para a mesma resposta, existe uma diferença sutil indicando que se deve iniciar o tratamento com duas classes anti-hipertensivas, a não ser que haja uma indicação específica para uma estratégia mais atenuada com monoterapia.

8. Que combinações de medicamentos são indicados para o início do tratamento anti-hipertensivo?

Como já descrito previamente, para o tratamento inicial da hipertensão, as diretrizes atuais recomendam o uso de uma combinação de dois medicamentos de classes diferentes sempre que possível, especialmente em casos de hipertensão moderada/grave ou quando a pressão arterial está acima do alvo terapêutico. As combinações preferidas incluem um bloqueador do sistema renina-angiotensina-aldosterona, como um inibidor da enzima conversora de angiotensina (IECA) ou um bloqueador do receptor de angiotensina (BRA), com um bloqueador dos canais de cálcio (BCC) ou um diurético tiazídico ou tiazídico-símile (Figura 1)^{8,25,35}.

Figura 1 - Combinações de classes anti-hipertensivas recomendadas e possíveis para o tratamento inicial da hipertensão arterial.



A combinação de um IECA ou BRA com um BCC ou um diurético tiazídico é suportada por evidências robustas que demonstram maior eficácia na redução da pressão arterial em comparação com a monoterapia, além de melhorar a adesão ao tratamento e permitir um controle mais rápido da pressão arterial.^{8,35} Em pacientes afrodescendentes, recomenda-se que pelo menos um dos agentes seja um diurético tiazídico ou um BCC, devido à eficácia superior dessas classes nessa população.^{15,25} Em pacientes com outras condições específicas, como insuficiência cardíaca ou doença renal crônica, as combinações podem ser ajustadas para incluir medicamentos que também tratam essas condições. Em pacientes com insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida, recomenda-se um betabloqueador combinado com um IECA ou BRA, com agentes adicionais adicionados com base nas necessidades clínicas. Para aqueles com doença renal crônica e proteinúria, um IECA ou BRA combinados com um diurético tiazídico ou BCC são recomendados^{25,36}.

Para a maioria dos pacientes hipertensos, o ideal seria uma combinação em um único comprimido, inicialmente contendo duas das quatro principais classes de medicamentos (IECA, BRA, BCC diidropiridínico e diurético tiazídico ou tiazídico-símile) inicialmente em dose baixa^{32,37,38}. A combinação de IECA e BRA não é recomendada devido ao aumento do risco de efeitos adversos sem benefícios cardiovasculares adicionais^{39,40}.

Quando a PA não estiver controlada com a dupla combinação, a terapia de combinação tripla com IECA ou BRA associado a BCC e diurético está indicada. Se após atingir a dose máxima tolerada por, pelo menos, quatro semanas, e após a avaliação da adesão, o paciente ainda não atingir a meta de tratamento, o paciente passa a ser considerado resistente e a adição de espironolactona deve ser considerada.⁴¹ Se a espironolactona não for tolerada, deve-se considerar a eplerenona. Uma alternativa ao antagonista de receptor mineralocorticóide, como tratamento de quarta linha para redução da PA, é o uso de betabloqueadores para indivíduos que ainda não têm uma indicação clara. Um betabloqueador com ação vasodilatadora, como carvedilol ou nebivolol, é preferível nesta situação⁴²⁻⁴⁶. Somente depois disso é que se deve considerar a hidralazina, alfa-bloqueadores ou medicamentos de ação central para redução da PA^{47,48}.

9. Que efeitos adversos devem ser monitorados após iniciar a terapia combinada?

Ao iniciar o tratamento da hipertensão com combinações de IECA ou BRA com BCC e/ou diuréticos tiazídicos, é importante monitorar alguns efeitos colaterais comuns (Tabela 2). O edema periférico é um efeito colateral comum associado ao uso

Tabela 2 - Efeitos adversos mais comuns com a terapia combinada.

Edema periférico	Hiperuricemia
Hipotensão com ou sem Tontura	Dislipidemia
Hipocalcemia ou hipercalcemia	Tosse
Hiperglicemia	Angioedema

de BCC. No entanto, a combinação de BCC com um bloqueador do sistema renina-angiotensina, como um IECA ou BRA, pode reduzir significativamente a incidência de edema periférico em comparação com a monoterapia com BCC. O IECA parece ser mais eficaz que o BRA na redução do edema periférico associado ao BCC, mas estudos comparativos diretos são necessários para provar isso⁴⁹.

A combinação de terapias anti-hipertensivas pode aumentar o risco de hipotensão, especialmente em pacientes com pressão arterial sistólica basal não muito elevada. Estudos indicam que a descontinuação do tratamento devido à hipotensão sintomática é mais comum em pacientes com pressão arterial sistólica inicial inferior a 120 mmHg⁵⁰.

Os níveis de potássio sérico devem ser monitorados durante todo o tratamento anti-hipertensivo. O uso de diuréticos tiazídicos pode levar à hipocalcemia, especialmente quando combinado com outras classes de medicamentos anti-hipertensivos. Por outro lado, a combinação de IECA ou BRA com antagonista de receptor mineralocorticóide pode aumentar o risco de hipercalemia⁵¹⁻⁵³.

Diuréticos tiazídicos, como a hidroclorotiazida, podem causar alterações no perfil metabólico, incluindo hiperglicemia e hiperuricemia. O uso de indapamida é associado com menores taxas de anormalidades no perfil metabólico. É importante monitorar os níveis de glicose e ácido úrico, especialmente em pacientes com histórico de gota^{54,55}.

A tosse é um efeito colateral bem conhecido dos IECAs, e algumas vezes é a indicação de troca do IECA por um BRA. O angioedema, embora raro, é uma preocupação potencial. Esses efeitos são menos comuns com BRA. Esses efeitos colaterais devem ser monitorados de perto para evitar a descontinuidade das medicações prescritas e garantir a segurança e eficácia do tratamento anti-hipertensivo⁵⁵.

10. Conclusão

Em conclusão, a terapia combinada como tratamento inicial para hipertensão pode oferecer benefícios significativos em termos de maior adesão e menor inércia terapêutica, resultando em maior eficácia. Todavia, deve ser cuidadosamente considerada em relação ao perfil do paciente e ao risco de efeitos adversos. As diretrizes atuais vêm reconhecendo cada vez mais a importância da terapia combinada e recomendam essa abordagem para a grande maioria dos pacientes com hipertensão, independente do risco cardiovascular no momento da prescrição farmacológica.

Referências

- World Health Organization. Global report on hypertension. The race against a silent killer [Internet]. 2023. Acessado em 15/11/2024. Disponível em <https://www.who.int/publications/i/item/9789240081062>
- Münzel T, Gori T. Nebivolol: the somewhat-different beta-adrenergic receptor blocker. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54(16):1491-9.
- Zepeda RJ, Castillo R, Rodrigo R, Prieto JC, Aramburu I, Brugere S, et al. Effect of carvedilol and nebivolol on oxidative stress-related parameters and endothelial function in patients with essential hypertension. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2012;111(5):309-16.
- Webster R, Salam A, de Silva HA, Selak V, Stepien S, Rajapakse S, et al. Fixed low-dose triple combination antihypertensive medication vs usual care for blood pressure control in patients with mild to moderate hypertension in Sri Lanka. *JAMA*. 2018;320(6):566.
- Wald DS, Law M, Morris JK, Bestwick JP, Wald NJ. Combination therapy versus monotherapy in reducing blood pressure: meta-analysis on 11,000 participants from 42 trials. *American Journal of Medicine*. 2009;122(3):290-300.
- Law MR, Wald NJ, Morris JK, Jordan RE. Value of low dose combination treatment with blood pressure lowering drugs: analysis of 354 randomised trials. *BMJ*. 2003;326(7404):1427-30.
- Lu Y, Van Zandt M, Liu Y, Li J, Wang X, Chen Y, et al. Analysis of dual combination therapies used in treatment of hypertension in a multinational cohort. *JAMA Netw Open*. 2022;5(3):e223877.
- Coca A, Whelton SP, Camafort M, López-López JP, Yang E. Single-pill combination for treatment of hypertension: Just a matter of practicality or is there a real clinical benefit? *Eur J Intern Med*. 2024;126:16-25.
- MacDonald TM, Williams B, Webb DJ, Morant S, Caulfield M, Cruickshank JK, et al. Combination therapy is superior to sequential monotherapy for the initial treatment of hypertension: a double-blind randomized controlled trial. *J Am Heart Assoc*. 2017;6(11):e006986.
- Düsing R. Optimizing blood pressure control through the use of fixed combinations. *Vasc Health Risk Manag*. 2010;6:321-5.
- Leggio M, Fusco A, Loreti C, Limongelli G, Bendini MG, Mazza A, et al. Fixed and low-dose combinations of blood pressure-lowering agents: for the many or the few? *Drugs*. 2019;79(17):1831-7.
- Salam A, Kanukula R, Atkins E, Wang X, Islam S, Kishore SP, et al. Efficacy and safety of dual combination therapy of blood pressure-lowering drugs as initial treatment for hypertension: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Hypertens*. 2019;37(9):1768-74.
- Mancia G, Rea F, Cuspidi C, Grassi G, Corrao G. Blood pressure control in hypertension. Pros and cons of available treatment strategies. *J Hypertens*. 2017;35(2):225-33.
- Egan BM, Bandyopadhyay D, Shaftman SR, Wagner CS, Zhao Y, Yu-Isenberg KS. Initial monotherapy and combination therapy and hypertension control the first year. *Hypertension*. 2012;59(6):1124-31.
- Whelton PK, Carey RM, Aronow WS, Casey DE, Collins KJ, Himmelfarb CD, et al., 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical practice guidelines. *Hypertension*. 2018;71(6):E13-115.
- McEvoy JW, McCarthy CP, Bruno RM, Brouwers S, Canavan MD, Ceconi C, et al., 2024 ESC Guidelines for the management of elevated blood pressure and hypertension. *Eur Heart J*. 2024;45(38):3912-4018.
- Moser M, Black HR. The role of combination therapy in the treatment of hypertension. *Am J Hypertens*. 1998;11(S5):73S-78S.
- Barroso WKS, Rodrigues CIS, Bortolotto LA, Mota-Gomes MA, Brandão AA, Feitosa AD de M, et al. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial - 2020. *Arq Bras Cardiol*. 2021;116(3):516-658.
- Mancia G, Kreutz R, Brunström M, Burnier M, Grassi G, Januszewicz A, et al., 2023 ESH Guidelines for the management of ar-

- terial hypertension the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension: Endorsed by the International Society of Hypertension (ISH) and the European Renal Association (ERA). *J Hypertens*. 2023;41(12):1874-2071.
20. Brook RD, Kaciroti N, Bakris G, Dahlöf B, Pitt B, Velazquez E, et al. Cardiovascular benefits of angiotensin-converting enzyme inhibition plus calcium channel blockade in patients achieving tight blood pressure control and with resistant hypertension. *Am J Hypertens*. 2021;34(5):531-9.
 21. Georges CMG, Pappaccogli M, Fanelli E, Petit G, Ritscher S, Lopez-Sublet M, et al. Drug adherence and psychological factors in patients with apparently treatment-resistant hypertension: yes but which ones? *J Clin Hypertens*. 2022;24(11):1436.
 22. Uchmanowicz B, Chudiak A, Uchmanowicz I, Rosinczuk J, Froelicher ES. Factors influencing adherence to treatment in older adults with hypertension. *Clin Interv Aging*. 2018;13:2425.
 23. Tajeu GS, Kent ST, Huang L, Bress AP, Cuffee Y, Halpern MT, et al. Antihypertensive medication nonpersistence and low adherence for adults < 65 years initiating treatment in 2007-2014. *Hypertension*. 2019;74(1):35.
 24. Paranjpe R, Chen H, Johnson ML, Birtcher K, Serna O, Abughosh S. Adherence to concomitant diabetes, hypertension, and hyperlipidemia treatments among older patients. *J Am Pharm Ass*. 2022;62(4):1351-8.
 25. Smith DK, Lennon RP, Carlsgaard PB. Managing hypertension using combination therapy. *Am Fam Physician*. 2020;101(6):341-9.
 26. Mancia G, Rea F, Corrao G, Grassi G. Two-Drug Combinations as first-step antihypertensive treatment. *Circ Res*. 2019;124(7):1113-23.
 27. Rea F, Corrao G, Merlino L, Mancia G. Initial antihypertensive treatment strategies and therapeutic inertia evidence from a large population-based cohort. *Hypertension*. 2018;72(4):846-53.
 28. Mancia G, Zambon A, Soranna D, Merlino L, Corrao G. Factors involved in the discontinuation of antihypertensive drug therapy. *J Hypertens*. 2014;32(8):1708-16.
 29. Corrao G, Parodi A, Zambon A, Heiman F, Filippi A, Cricelli C, et al. Reduced discontinuation of antihypertensive treatment by two-drug combination as first step. Evidence from daily life practice. *J Hypertens*. 2010;28(7):1584-90.
 30. Parati G, Kjeldsen S, Coca A, Cushman WC, Wang J. Adherence to single-pill versus free-equivalent combination therapy in hypertension: a systematic review and meta-analysis. *Hypertension*. 2021;77(2):692-705.
 31. Egan BM, Bandyopadhyay D, Shaftman SR, Wagner CS, Zhao Y, Yu-Isenberg KS. Initial monotherapy and combination therapy and hypertension control the first year. *Hypertension*. 2012;59(6):1124-31.
 32. Egan BM, Kjeldsen SE, Narkiewicz K, Kreutz R, Burnier M. Single-pill combinations, hypertension control and clinical outcomes: potential, pitfalls and solutions. *Blood Press*. 2022;31(1):164-8.
 33. Gradman AH, Parisé H, Lefebvre P, Falvey H, Lafeuille MH, Duh MS. Initial combination therapy reduces the risk of cardiovascular events in hypertensive patients: a matched cohort study. *Hypertension*. 2013;61(2):309-18.
 34. Corrao G, Nicotra F, Parodi A, Zambon A, Heiman F, Merlino L, et al. Cardiovascular protection by initial and subsequent combination of antihypertensive drugs in daily life practice. *Hypertension*. 2011;58(4):566-72.
 35. An J, Luong T, Qian L, Wei R, Liu R, Muntner P, et al. Treatment patterns and blood pressure control with initiation of combination versus monotherapy antihypertensive regimens. *Hypertension*. 2021;77(1):103-13.
 36. Committee ADAPP, ElSayed NA, Aleppo G, Bannuru RR, Bruemmer D, Collins BS, et al. 10. cardiovascular disease and risk management: standards of care in diabetes - 2024. *Diabetes Care*. 2024;47(Supplement_1):S179-218.
 37. Gupta AK, Arshad S, Poulter NR. Compliance, safety, and effectiveness of fixed-dose combinations of antihypertensive agents: a meta-analysis. *Hypertension*. 2010;55(2):399-407.
 38. Gnanenthiran SR, Wang N, Di Tanna GL, Salam A, Webster R, de Silva HA, et al. Association of low-dose triple combination therapy vs usual care with time at target blood pressure. *JAMA Cardiol* 2022;7(6):645-50.
 39. Fried LF, Emanuele N, Zhang JH, Brophy M, Conner TA, Duckworth W, et al. Combined angiotensin inhibition for the treatment of diabetic nephropathy. *N Engl J Med*. 2013;369(20):1892-903.
 40. ONTARGET Investigators; Yusuf S, Teo KK, Pogue J, Dyal L, Copland I, Schumacher H, et al. Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. *N Engl J Med*. 2008;358(15):1547-59.
 41. Williams B, MacDonald TM, Morant S, Webb DJ, Sever P, McInnes G, et al. Spironolactone versus placebo, bisoprolol, and doxazosin to determine the optimal treatment for drug-resistant hypertension (PATHWAY-2): a randomised, double-blind, crossover trial. *Lancet*. 2015;386(10008):2059-68.
 42. Ripley TL, Saseen JJ. β -blockers: a review of their pharmacological and physiological diversity in hypertension. *Ann Pharmacother*. 2014;48(6):723-33.
 43. Kamp O, Metra M, Bugatti S, Bettari L, Cas AD, Petrini N, et al. Nebivolol: haemodynamic effects and clinical significance of combined β -blockade and nitric oxide release. *Drugs*. 2010;70(1):41-56.
 44. Fares H, Lavie CJ, Ventura HO. Vasodilating versus first-generation β -blockers for cardiovascular protection. *Postgrad Med*. 2012;124(2):7-15.
 45. Cockcroft JR, Pedersen ME. β -blockade: benefits beyond blood pressure reduction? *J Clin Hypertens*. 2012;14(2):112-20.
 46. Pedersen ME, Cockcroft JR. The vasodilatory beta-blockers. *Curr Hypertens Rep*. 2007;9(4):269-77.
 47. Natale F, Franzese R, Luisi E, Mollo N, Marotta L, Solimene A, et al. The Increasing Problem of Resistant Hypertension: We'll Manage till Help Comes! *Med Sci*. 2024;12(4):53.
 48. Sica DA. Minoxidil: an underused vasodilator for resistant or severe hypertension. *J Clin Hypertens*. 2004;6(5):283-7.
 49. Makani H, Bangalore S, Romero J, Wever-Pinzon O, Messerli FH. Effect of renin-angiotensin system blockade on calcium channel blocker-associated peripheral edema. *Am J Med*. 2011;124(2):128-35.
 50. Atkins ER, Hirakawa Y, Salam A, Woodward M, Cooper M, Hamet P, et al. Side effects and tolerability of combination blood pressure lowering according to blood pressure levels: an analysis of the PROGRESS and ADVANCE trials *J Hypertens*. 2017;35(6):1318-25.
 51. Krogager ML, Mortensen RN, Lund PE, Bøggild H, Hansen SM, Kragholm K, et al. Risk of developing hypokalemia in patients with hypertension treated with combination antihypertensive therapy. *Hypertension*. 2020;75(4):966-72.
 52. Al-Janabi FLM, Moussa F, Taleb S, Leutscher PDC, Søndergaard MM, Melgaard D, et al. Risk of developing hyperkalemia in patients with hypertension treated with combination antihypertensive therapy - a retrospective register-based study. *Hypertens Res*. 2025;48(1):378-387.

53. Shibata S. Antihypertensive combinations: mind the potassium. *Hypertens Res.* 2025;48(1):425-427.
54. Anand TV, Bu F, Schuemie MJ, Suchard MA, Hripcsak G. Comparative safety and effectiveness of angiotensin converting enzyme inhibitors and thiazides and thiazide-like diuretics under strict monotherapy. *J Clin Hypertens* 2024;26(4):425-30.
55. Borghi C, Soldati M, Bragagni A, Cicero AFG. Safety implications of combining ACE inhibitors with thiazides for the treatment of

hypertensive patients. *Expert Opin Drug Saf* 2020;19(12):1577-83.



Hipertensão. Sociedade Brasileira de Hipertensão- ISSN: 1809-4260 – under a license Creative Commons - Version 4.0

Revisão

Modelos animais para o estudo de hipertensão arterial

Débora Simões Almeida Colombari^{1,#} , Milede Hanner Saraiva Paes¹, Sarah Antunes da Silva¹, Rayanelle Tissiane Gomes da Silva², Fernanda Campos de Medeiros¹, Guilherme Fleury Fina Speretta³, Eduardo Colombari¹

¹Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Odontologia de Araraquara, Departamento de Fisiologia e Patologia, Araraquara, SP, Brasil.

²Universidade Federal da Paraíba, Centro de Biotecnologia, Departamento de Biotecnologia, João Pessoa, PB, Brasil.

³Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Ciências Fisiológicas, Florianópolis, SC, Brasil.

Resumo. A hipertensão arterial é uma doença não comunicável com alta prevalência no mundo. No entanto as causas para o desenvolvimento e manutenção desta doença ainda não são completamente elucidadas. Neste contexto, modelos experimentais de hipertensão, principalmente em ratos, têm sido utilizados para se desvendar a patogênese, a prevenção e o tratamento da hipertensão arterial. Neste artigo, discutiremos quatro modelos experimentais de hipertensão utilizados para este fim.

Palavras-chave: hipertensão, modelos animais, sistema-renina angiotensina, atividade nervosa simpática, obesidade, sódio.

Recebido: 4 de Dezembro de 2024; Aceito: 12 de Dezembro de 2024

Animal models for the study of arterial hypertension

Abstract. Arterial hypertension is a non-communicable disease with high prevalence worldwide. However, the causes for developing and maintaining this disease are still not completely elucidated. In this context, experimental models of hypertension, mainly in rats, have been used to unravel the pathogenesis, prevention, and treatment of arterial hypertension. In this article, we will discuss four experimental models of hypertension used for this purpose.

Keywords: hypertension, animal models, renin-angiotensin system, sympathetic nerve activity, obesity, sodium.

1. Perspectiva histórica

Os egípcios (3500 AC) foram os primeiros a descrever relação entre o batimento cardíaco e o pulso periférico em humanos, provavelmente usando uma clepsidra (relógio d'água) [revisão por Bestetti et al.¹]. Porém, os egípcios, não realizavam disseções, e por isso, não avançaram muito na compreensão do sistema cardiovascular [revisão por Bestetti et al.¹]. Os gregos por outro lado (600 a 200 AC), utilizavam disseções em animais para se estudar anatomia [revisão em Franco²], mas não humanos, pois acreditavam que estes eram mais próximos do divino [revisão em Franco²]. Os gregos acreditavam na experimentação observacional e fizeram grandes avanços para o estudo do sistema cardiovascular [revisão por Bestetti et al.¹]. Du-

rante o período medieval (400 DC a 1453), pouco houve de contribuição para o entendimento do sistema cardiovascular, com exceção do período islâmico [revisão por Bestetti et al.¹], até que na Idade Moderna (1453 a 1789), Willian Harvey (1578-1657) forneceu por meio de seus estudos em animais, a descrição mais precisa da circulação sanguínea e da função cardíaca de seu tempo [revisão em Schaafsma³] e em 1710, o reverendo Stephen Hales foi responsável pela primeira medição da pressão nos vasos sanguíneos e por outras importantes descobertas na fisiologia cardiovascular e respiratória [revisão por Franco²]. Na idade contemporânea (1789-presente), podemos citar os estudos de Claude Bernard (1813-1878) sobre sistema vasomotor, onde realizou a desnervação simpática do vaso que irriga a orelha do coelho, observando que esta ficava mais

#Autor de correspondência. E-mail: debora.sa.colombari@unesp.br.

vermelha (vasodilatação) [revisão por Franco et al.⁴]. Outros marcos importantes de experimentos realizados em animais para o estudo do sistema cardiovascular e hipertensão foi a descoberta dos componentes do sistema renina-angiotensina, todos realizados em animais. O trabalho pioneiro de Robert Tigerstedt e Per Bergman publicado em 1898, descreve o efeito pressor do extrato de rim de coelhos [revisão por Hansson⁵]. Essa substância eles chamaram de renina. Posteriormente, estudos quase simultâneos de Braun-Menendez em 1939 e Page e Helmer em 1940, identificaram a mesma substância hipertensora, chamada de hipertensina para Braun-Menezes e angiotonina por Page e Helmer [revisão por Hansson⁵]. Essa substância foi posteriormente chamada de angiotensina II. Destaca-se também a participação do pesquisador brasileiro Sérgio H. Ferreira, que descreveu em 1965 estudo que descrevia as ações de um fator que potencializava os efeitos vasculares (vasodilatação) da bradicipina presente no veneno da *Bothrops Jararaca*⁶. Este estudo foi a base a uma classe de fármacos anti-hipertensivos mais usados, os inibidores de enzima conversora de angiotensina.

Embora haja uma série de critérios e desafios a serem levados em consideração para o emprego de modelos animais para o estudo de doenças, inclusive hipertensão, como pode ser lido nas excepcionais revisões de McGonigle e Ruggeri⁷ e de Lerman et al.⁸, os modelos animais de hipertensão tem auxiliado significativamente para o avanço da compreensão desta patologia, bem como no auxílio na descoberta de potenciais biomarcadores⁹. A seguir abordaremos alguns modelos animais de hipertensão utilizados em experimentação animal, particularmente o uso de ratos em modelos de hipertensão. Focaremos apenas em ratos machos, pois há dimorfismo sexual para o desenvolvimento e manutenção em diferentes modelos de hipertensão¹⁰, e este tópico poderá ser abordado em outro artigo.

2. Hipertensão renovascular

O primeiro modelo animal eficaz para o estudo da hipertensão foi realizado por Goldblatt em 1934¹¹. Neste estudo pioneiro, Goldblatt promoveu a constrição parcial das artérias renais em cães e observou um aumento da pressão arterial sistólica para níveis elevados (acima de 200 mmHg). Este modelo de hipertensão, mimetiza a hipertensão renovascular em humanos, causada por estenose da artéria renal principal ou de seus principais ramos, sendo a aterosclerose a principal causa (90% dos casos). A hipertensão renovascular é o principal tipo de hipertensão secundária¹² e sua principal característica é um aumento da atividade do sistema renina-angiotensina (SRA)-aldosterona, uma vez que há uma grande liberação de renina pela redução do fluxo sanguíneo renal¹², muito embora ocorra também um aumento da atividade nervosa simpática¹³.

O modelo experimental descrito em 1934 por Goldblatt foi adaptado para ratos, com a inserção de um clipe de prata ao redor de uma das artérias renais, em um modelo chamado de 2-rins, 1-clip (2R1C ou 2K1C, em inglês). Em ratos 2R1C, há aumento significativo da pressão arterial a partir da 2^a-3^a semana após a clipagem¹⁴ e é caracterizada por aumento da atividade do sistema renina-angiotensina^{15,16} e da atividade nervosa simpática^{14,17}, como em humanos. Dado o aumento na atividade nervosa sim-

pática nesta hipertensão, várias pesquisas focaram na participação de áreas do sistema nervoso central na geração e/ou manutenção da hipertensão 2R1C^{14,18,19}.

Além disso, estudos da década de 70 do século passado, mostraram que ratos 2R1C apresentavam os comportamentos de sede e apetite ao sódio (definido com ingestão de solução de cloreto de sódio hipertônico, aversivo ao rato) na fase inicial, ou seja, nos primeiros 15 dias de hipertensão²⁰. Mais recentemente, revisitamos estes dois comportamentos nos ratos 2R1C e verificamos que ao longo das 6 semanas após a indução da hipertensão, onde há aumento da atividade do SRAA e da atividade nervosa simpática, os ratos 2R1C apresentam um aumento mantido da ingestão diária de água e transitório da ingestão solução de sódio hipertônico¹⁶. A ingestão diária de sódio tem um pico na 3^a semana após a indução da hipertensão 2R1C, retornando aos níveis basais na 6^a semana. Porém, mesmo com a ingestão diária de solução de sódio hipertônico estando em níveis semelhantes aos basais (antes da hipertensão), os animais 2R1C tem uma maior resposta natriorexigênica, ou seja, maior consumo de sódio frente a desafios, tais como a privação hídrica^{16,21}. A exacerbada ingestão de sódio é mediada pelas ações dos hormônios angiotensina II e aldosterona no sistema nervoso central²¹. Não há ainda dados clínicos para verificar se em humanos há também essa exacerbada ingestão de sódio em pacientes com hipertensão renovascular.

3. Ratos espontaneamente hipertensos

Na década de 60 do século passado, Okamoto e Aoki²² publicaram o primeiro de muitos estudos sobre uma linhagem homozigótica de ratos que apresentavam naturalmente a hipertensão. Eles afirmaram que os animais que denominaram como *spontaneously hypertensive rat - SHR*, foram resultado de cruzamentos entre ratos da linhagem Wistar oriundos da universidade de Kyoto (Wistar-Kyoto; WKY) que apresentavam a pressão arterial mais elevada. O repetido cruzamento entre esses animais mostrou uma prole com hipertensão arterial persistente que se assemelha fenotipicamente a hipertensão essencial em seres humanos²²⁻²⁴. O SHR apresenta aumentos progressivos na pressão arterial à medida que envelhece, semelhante ao que é observado clinicamente, com hipertensão estabelecida em jovens adultos. Os níveis pressóricos de ratos SHR são ainda semelhantes aos de ratos WKY até a 6^a-7^a semana de vida [equivalente a fase peripubertal em humanos²⁵]. A partir da 8^a semana de vida [equivalente a adolescência em humanos²⁵], já há um aumento da pressão arterial, e com 12 semanas de vida os níveis pressóricos alcançam valores associados à hipertensão [(equivalente ao adulto jovem²⁵)]. Para se verificar a evolução da pressão arterial em ratos SHR, vide artigo de Makuch-Martins et al.²⁶.

A hipertensão nos ratos SHR é multifatorial, como a hipertensão essencial em humanos. Sabe-se que há aumento da atividade nervosa simpática comparada com os ratos WKY, aumento da atividade do SRA periférico e no sistema nervoso central, aumento da resistência periférica, neuroinflamação, disfunção endotelial que leva a um prejuízo de vasodilatação, danos renais e cardíacos²⁷⁻³¹. Por esta razão, os SHR são o modelo animal de

hipertensão mais utilizado em pesquisas científicas por todo mundo²⁴.

A dieta hiper-sódica acelera o desenvolvimento da hipertensão em ratos SHR, mostrando que essa linhagem tem maior sensibilidade ao sódio³². Além da maior sensibilidade ao sódio, ratos SHR tem maior ingestão diária de solução isotônica de sódio, maior palatabilidade ao sódio e respondem mais a protocolos experimentais que induzam apetite ao sódio³³. Esses efeitos são mediados pela ação da angiotensina II no encéfalo^{25,34}. Uma vez que o alto consumo de sódio tem uma correlação positiva com aumento da pressão arterial^{35,36}, e o consumo de sódio diário em humanos é maior do que o recomendado pela Organização Mundial da Saúde³⁷, este modelo animal tem sido usado para se estudar a ingestão de sódio na hipertensão essencial.

4. Hipertensão induzida por dieta hipercalórica/hiperlipídica

A obesidade é uma doença crônica multifatorial com alta prevalência no mundo³⁸, é definida pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo, aumentando o risco de doenças metabólicas (por exemplo, diabetes mellitus tipo 2 e doença hepática não-alcoólica), doenças cardiovasculares (hipertensão, infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral), e alguns tipos de câncer (por exemplo, mama, ovário, próstata, fígado, rim e cólon)^{36,39}. Indivíduos obesos apresentam hiperinsulinemia, hiperleptinemia, aumento da atividade do sistema renina angiotensina, e aumenta na atividade nervosa simpática⁴⁰.

Na literatura é possível encontrar diversos modelos animais, comumente em roedores, que desenvolvem a obesidade a partir de mutações genéticas, tais como os ratos da linhagem Zucker⁴¹, porém, ponderando que o modelo deve ser o mais próximo possível da gênese da obesidade observada em humanos, a indução dessa patologia via consumo de alimentos palatáveis e com alto valor energético parece ser o mais apropriado⁴². Diferentes dietas têm sido empregadas para mimetizar as anormalidades cardiometabólicas associadas ao excesso de adiposidade em humanos. Em geral, as dietas hiperlipídicas (HFD) promovem alterações metabólicas sólidas em ratos com um aumento de pressão arterial consistente, embora menor do que observado em outros modelos de hipertensão tais como os modelos de hipertensão renal 2R1C e ratos SHR⁴²⁻⁴⁵. A HFD utilizada por nosso grupo de pesquisa, com aproximadamente 19 g de lipídeos, 40 g de carboidratos e 13 g de proteínas para cada 100 g, tem se mostrado consistente em evocar alterações cardiovasculares e autonômicas em ratos^{43,45-47}. Essa dieta, também induz alterações metabólicas, incluindo hiperinsulinemia, hiperleptinemia, redução na sensibilidade a insulina e dislipidemia^{43,45-48}, ou seja, semelhante ao encontrado em humanos obesos.

Vários mecanismos parecem estar envolvidos com o aumento da pressão arterial induzida pela obesidade. A participação da hiperatividade do SRA periférico e no sistema nervoso central é um consenso^{48,49}, bem como um aumento na atividade nervosa simpática⁵⁰, e o aumento da reabsorção de sódio causado pela aldosterona⁵¹. Nosso grupo e outros, tem estudado

particularmente as interações no sistema nervoso central entre o SRA e o sistema imune^{45,52}. Foi demonstrado que há ativação de células imuno residentes no encéfalo em animais alimentados com HFD e aumento da expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias no sistema nervoso central^{45,52}. Nesse sentido, um outro estudo do nosso grupo demonstrou que, o exercício físico, especificamente o treinamento de força realizado em intensidade moderada, preveniu os distúrbios cardiovasculares induzidos pela HFD em ratos. Tal efeito protetor foi associado com respostas inflamatórias reduzidas e modificações positivas no SRA no sistema nervoso central⁴³.

Ratos obesos também apresentam alterações do equilíbrio hidro-eletrolítico, com uma redução da ingestão diária de água⁴⁸. Indivíduos obesos têm menor sensação de sede quando desafiados com alimentos salgados ou por situações de privação de água^{53,54}. Sendo assim, esse modelo animal pode também ser usado para estudar outros aspectos relacionados à obesidade.

5. Hipertensão sensível ao sódio: ratos Dahl-sensíveis ao sódio

Ratos Dahl sensíveis ao sódio (DSS) são animais que possuem uma resposta de elevação da pressão arterial quando recebem uma dieta rica em sódio durante um longo período. Eles foram resultantes de uma seleção por meio de sucessivos cruzamentos entre animais sensíveis ao sódio, realizada em 1962 por Dahl et al.⁵⁵. Posteriormente, em 1975, Dahl e Heine⁵ demonstraram a grande importância do envolvimento dos rins no desenvolvimento da hipertensão arterial neste modelo animal. O transplante dos rins de ratos Dahl resistentes ao sódio (DSR), para ratos DSS levou à normalização da pressão arterial nos animais que anteriormente eram hipertensos, enquanto o transplante de animais DSS para animais DSR levou à hipertensão arterial no segundo grupo⁵⁶. Entretanto, mesmo após receberem rins saudáveis, os ratos DSS continuavam tendo aumentos na pressão arterial quando alimentados com uma dieta rica em sódio, demonstrando o envolvimento de outros fatores neste tipo de hipertensão⁵⁷. Mesmo que a atividade do SRA seja reduzida nos ratos DSS, uma dieta hiper-sódica eleva os níveis intra-renais de angiotensinogênio, o substrato da renina⁵⁸. Sendo assim, o aumento do angiotensinogênio intra-renal, e conseqüentemente da atividade do SRA intra-renal poderia contribuir para a excreção de sódio reduzida observada neste modelo animal, e conseqüentemente contribuir para o aumento da pressão arterial em ratos DSS alimentados com dieta hiper-sódica⁵⁸.

No modelo DSS com dieta hiper-sódica, foi descrito um aumento da atividade nervosa simpática, mostrando também que tem um componente neurogênico⁵⁹. Ademais, ratos DSS alimentados com dieta hiper-sódica desenvolvem ao longo do tempo, insuficiência cardíaca⁶⁰. Desta forma, este modelo animal, dado ao alto consumo de sódio na população, tem sido muito utilizado.

6. Conclusão

Existem um grande número de modelos animais para o estudo de hipertensão e seus mecanismos de desenvolvimento e manutenção. Revisões sobre esse assunto podem ser encontradas na literatura científica^{8,9,24}. A escolha do modelo pelos pesquisadores depende das questões que queiram ser abordadas e de como o modelo se adequa a uma possível translação para humanos⁷.

Agradecimentos

Os autores agradecem pelo financiamento a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e CAPES (código de financiamento 001).

Referências

- Bestetti RB, Restini CB, Couto LB. Development of anatomophysiological knowledge regarding the cardiovascular system: from Egyptians to Harvey. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2014;103(6):538-45.
- Franco NH. Animal experiments in biomedical research: a historical perspective. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*. 2013;3(1):238-73.
- Schaafsma A. Harvey with a modern twist: how and why conducting arteries amplify the pressure wave originating from the heart. *Medical Hypotheses*. 2014;82(5):589-94.
- Franco JG, Lisboa PC, Lima NS, Amaral TA, Peixoto-Silva N, Resende AC, et al. Resveratrol attenuates oxidative stress and prevents steatosis and hypertension in obese rats programmed by early weaning. *J Nutr Biochem*. 2013;24(6):960-6.
- Hansson THL. The renin-angiotensin system - A century of progress. *Blood Pressure*. 1998;7(2):68-70.
- Ferreira SH. A bradykinin-potentiating factor (bpf) present in the venom of *Bothrops Jararaca*. *Br J Pharmacol Chemother*. 1965;24:163-9.
- McGonigle P, Ruggeri B. Animal models of human disease: challenges in enabling translation. *Biochemical Pharmacology*. 2014;87(1):162-71.
- Lerman LO, Kurtz TW, Touyz RM, Ellison DH, Chade AR, Crowley SD, et al. Animal models of hypertension: a scientific statement from the American Heart Association. *Hypertension*. 2019;73(6):e87-e120.
- Shimosawa T. How animal models can be utilized to find new biomarkers for cardiovascular diseases. *Clinical Science*. 2023;137(6):527-35.
- Hayward CS, Kelly RP, Collins P. The roles of gender, the menopause and hormone replacement on cardiovascular function. *Cardiovascular Research*. 2000;46(1):28-49.
- Goldblatt H, Lynch J, Hanzal RF, Summerville WW. Studies on experimental hypertension: I. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J Exp Med*. 1934;59(3):347-79.
- Textor SC. Renal arterial disease and hypertension. *Med Clin North Am*. 2017;101(1):65-79.
- Johansson M, Elam M, Rundqvist B, Eisenhofer G, Herlitz H, Lambert G, et al. Increased sympathetic nerve activity in renovascular hypertension. *Circulation*. 1999;99(19):2537-42.
- Blanch GT, Freiria-Oliveira AH, Speretta GF, Carrera EJ, Li H, Speth RC, et al. Increased expression of angiotensin II type 2 receptors in the solitary-vagal complex blunts renovascular hypertension. *Hypertension*. 2014;64(4):777-83.
- Leenen FH, De JW. Plasma renin activity and renal blood flow in renal hypertensive rats with different blood pressure levels. *J Endocrinol*. 1970;48(4):lxxv.
- Roncari CF, Barbosa RM, Vendramini RC, De Luca Jr LA, Menani JV, Colombari E, et al. Enhanced angiotensin II induced sodium appetite in renovascular hypertensive rats. *Peptides*. 2018;101:82-8.
- Oliveira-Sales EB, Colombari E, Abdala AP, Campos RR, Paton JF. Sympathetic overactivity occurs before hypertension in the two-kidney, one-clip model. *Exp Physiol*. 2016;101(1):67-80.
- Oliveira-Sales EB, Colombari DS, Davissou RL, Kasparov S, Hirata AE, Campos RR, et al. Kidney-induced hypertension depends on superoxide signaling in the rostral ventrolateral medulla. *Hypertension*. 2010;56(2):290-6.
- Barbosa RM, Speretta GF, Dias DPM, Ruchaya PJ, Li H, Menani JV, et al. Increased expression of macrophage migration inhibitory factor in the nucleus of the solitary tract attenuates renovascular hypertension in rats. *American Journal of Hypertension*. 2017;30(4):435-43.
- Mohring J, Petri M, Mohring B. Salt appetite during the early phase of renal hypertension in rats. *Pflugers Arch*. 1975;356(2):153-8.
- Lucera GM, Menani JV, Colombari E, Colombari DSA. ANG II and aldosterone acting centrally participate in the enhanced sodium intake in water-deprived renovascular hypertensive rats. *Frontiers in Pharmacology*. 2021;12(1223):10.
- Okamoto K, Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J*. 1963;27:282-93.
- Trippodo NC, Frohlich ED. Similarities of genetic (spontaneous) hypertension. Man and rat. *Circ Res*. 1981;48(3):309-19.
- Jama HA, Muralitharan RR, Xu C, O'Donnell JA, Bertagnolli M, Broughton BRS, et al. Rodent models of hypertension. *Br J Pharmacol*. 2022;179(5):918-37.
- Ghasemi A, Jeddi S, Kashfi K. The laboratory rat: age and body weight matter. *EXCLI J*. 2021;20:1431-45.
- Makuch-Martins M, Vieira-Morais CG, Perego SM, Ruggeri A, Ceroni A, Michelini LC. Angiotensin II, blood-brain barrier permeability, and microglia interplay during the transition from pre-to hypertensive phase in spontaneously hypertensive rats. *Front Physiol*. 2024;15:1452959.
- Berecek KH, Kirk KA, Nagahama S, Oparil S. Sympathetic function in spontaneously hypertensive rats after chronic administration of captopril. *Am J Physiol*. 1987;252(4 Pt 2):H796-H806.
- Ruchaya PJ, Speretta GF, Blanch GT, Li H, Summers C, Menani JV, et al. Overexpression of AT2R in the solitary-vagal complex improves baroreflex in the spontaneously hypertensive rat. *Neuropeptides*. 2016;60:29-36.
- Zicha J, Kune J. Ontogenetic aspects of hypertension development: analysis in the rat. *Physiological Reviews*. 1999;79(4):1227-82.
- Santisteban MM, Ahmari N, Carvajal JM, Zingler MB, Qi Y, Kim S, et al. Involvement of bone marrow cells and neuroinflammation in hypertension. *Circ Res*. 2015;117(2):178-91.
- Shan Z, Zubcevic J, Shi P, Jun JY, Dong Y, Murca TM, et al. Chronic knockdown of the nucleus of the solitary tract AT1 receptors increases blood inflammatory-endothelial progenitor cell ratio and exacerbates hypertension in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension*. 2013;61(6):1328-33.
- Sato Y, Ando K, Ogata E, Fujita T. High-potassium diet attenuates salt-induced acceleration of hypertension in SHR. *Am J Physiol*. 1991;260(1 Pt 2):R21-6.

33. Pereira ED, De Luca LA, Menani JV, Andrade CAF. Palatability profile in spontaneously hypertensive rats. *Chem Senses*. 2023;48:bjad013.
34. DiNicolantonio R, Hutchinson JS, Mendelsohn FA. Exaggerated salt appetite of spontaneously hypertensive rats is decreased by central angiotensin-converting enzyme blockade. *Nature*. 1982;298(5877):846-8.
35. Mill JG, Baldo MP, Molina M, Schmidt MI, Barreto SM, Chor D, et al. Sex-specific patterns in the association between salt intake and blood pressure: The ELSA-Brasil study. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2019;21(4):502-9.
36. Watso JC, Fancher IS, Gomez DH, Hutchison ZJ, Gutiérrez OM, Robinson AT. The damaging duo: obesity and excess dietary salt contribute to hypertension and cardiovascular disease. *Obesity Reviews*. 2023;24(8):e13589.
37. WHO. Sodium reduction. Geneva: World Health Organization; 2023. Disponível em <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salt-reduction>.
38. Chew NWS, Ng CH, Tan DJH, Kong G, Lin C, Chin YH, et al. The global burden of metabolic disease: data from 2000 to 2019. *Cell Metab*. 2023;35(3):414-28.
39. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nature Reviews Endocrinology*. 2019;15(5):288-98.
40. Mancia G, Bousquet P, Elghozi JL, Esler M, Grassi G, Julius S, et al. The sympathetic nervous system and the metabolic syndrome. *J Hypertens*. 2007;25(5):909-20.
41. Kurtz TW, Morris RC, Pershadsingh HA. The Zucker fatty rat as a genetic model of obesity and hypertension. *Hypertension*. 1989;13(6 Pt 2):896-901.
42. Rosini TC, da Silva ASR, Moraes Cd. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2012;58(3):383-7.
43. Speretta GF, Silva AA, Vendramini RC, Zanesco A, Delbin MA, Menani JV, et al. Resistance training prevents the cardiovascular changes caused by high-fat diet. *Life Sci*. 2016;146:154-62.
44. Hall JE, do Carmo JM, da Silva AA, Wang Z, Hall ME. Obesity-induced hypertension: interaction of neurohumoral and renal mechanisms. *Circ Res*. 2015;116(6):991-1006.
45. Speretta GF, Ruchaya PJ, Delbin MA, Melo MR, Li H, Menani JV, et al. Importance of AT1 and AT2 receptors in the nucleus of the solitary tract in cardiovascular responses induced by a high-fat diet. *Hypertension Research*. 2019;42(4):11.
46. Speretta GF, Lemes E, Vendramini RC, Menani JV, Zoccal DB, Colombari E, et al. High-fat diet increases respiratory frequency and abdominal expiratory motor activity during hypercapnia. *Respir Physiol Neurobiol*. 2018;258:32-9.
47. Batschauer T, Cordeiro JM, Simas BB, Brunetta HS, Souza RM, Nunes EA, et al. Behavioral, cardiovascular and endocrine alterations induced by chronic stress in rats fed a high-fat diet. *Physiology & Behavior*. 2020;223:113013.
48. Sa JM, Barbosa RM, Menani JV, De Luca LA, Jr., Colombari E, Almeida Colombari DS. Cardiovascular and hydroelectrolytic changes in rats fed with high-fat diet. *Behav Brain Res*. 2019;373:112075.
49. Boustany CM, Bharadwaj K, Daugherty A, Brown DR, Randall DC, Cassis LA. Activation of the systemic and adipose renin-angiotensin system in rats with diet-induced obesity and hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004;287(4):R943-R9.
50. Garcia ML, Milanez MIO, Nishi EE, Sato AYS, Carvalho PM, Nogueira FN, et al. Retroperitoneal adipose tissue denervation improves cardiometabolic and autonomic dysfunction in a high fat diet model. *Life Sci*. 2021;283:119841.
51. de Paula RB, da Silva AA, Hall JE. Aldosterone antagonism attenuates obesity-induced hypertension and glomerular hyperfiltration. *Hypertension*. 2004;43(1):41-7.
52. de Kloet AD, Pioquinto DJ, Nguyen D, Wang L, Smith JA, Hiller H, et al. Obesity induces neuroinflammation mediated by altered expression of the renin-angiotensin system in mouse forebrain nuclei. *Physiol Behav*. 2014;136:31-8.
53. Chang DC, Penesova A, Bunt JC, Stinson EJ, Kavouras SA, Gluck ME, et al. Water intake, thirst, and copeptin responses to two dehydrating stimuli in lean men and men with obesity. *Obesity (Silver Spring)*. 2022;30(9):1806-17.
54. Brannigan M, Stevenson RJ, Francis H. Thirst interoception and its relationship to a Western-style diet. *Physiology & Behavior*. 2015;139:423-9.
55. Dahl LK, Heine M, Tassinari L. Effects of chronic excess salt ingestion. Evidence that genetic factors play an important role in susceptibility to experimental hypertension. *J Exp Med*. 1962;115(6):1173-90.
56. Dahl LK, Heine M. Primary role of renal homografts in setting chronic blood pressure levels in rats. *Circ Res*. 1975;36(6):692-6.
57. Morgan DA, DiBona GF, Mark AL. Effects of interstrain renal transplantation on NaCl-induced hypertension in Dahl rats. *Hypertension*. 1990;15(4):436-42.
58. Kobori H, Nishiyama A, Abe Y, Navar LG. Enhancement of intrarenal angiotensinogen in Dahl salt-sensitive rats on high salt diet. *Hypertension*. 2003;41(3):592-7.
59. Yoshimoto M, Nagata K, Miki K. Differential control of renal and lumbar sympathetic nerve activity during freezing behavior in conscious rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010;299(4):R1114-20.
60. Kameyama T, Chen Z, Bell SP, VanBuren P, Maughan D, LeWinter MM. Mechanoenergetic alterations during the transition from cardiac hypertrophy to failure in Dahl salt-sensitive rats. *Circulation*. 1998;98(25):2919-29.



Hipertensão. Sociedade Brasileira de Hipertensão- ISSN: 1809-4260 – under a license Creative Commons - Version 4.0

Revisão

A situação atual da medição de pressão arterial por *wearables*

Rafael Feldmann Farias^{1,#} , Célio Henrique de Matos Fraga¹, Luciana Casciny Pacifico², Maria Luiza Otero D'Almeida Lamardo², Olga Satomi Yoshida², Rodrigo de Freitas Guilherme¹

¹Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia, Diretoria de Metrologia Legal, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

²Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo, Unidade de Tecnologias Regulatórias e Metrológicas, São Paulo, SP, Brasil.

Resumo. Os dispositivos vestíveis (*wearables*) podem ser entendidos como equipamentos de alta tecnologia que podem ser utilizados como acessórios, integrados em roupas, ou, ainda, implantados no corpo. Na área de saúde, eles têm apresentado uma grande amplitude de aplicação, incluindo diagnósticos, tratamento e reabilitação, além de abranger parte significativa da indústria esportiva. Devido à tecnologia baseada em fotoplethysmografia, a medição de parâmetros fisiológicos tem apresentado um caráter próximo ao contínuo o que, no caso da pressão arterial, se mostra como um novo paradigma frente aos métodos não invasivos atuais. Diante desse cenário, esse artigo discorre sobre o estágio atual do desenvolvimento desses equipamentos, incluindo uma avaliação de sua confiabilidade.

Palavras-chave: pressão arterial; esfigmomanômetro; metrologia; *wearables*.

Recebido: 2 de Dezembro de 2024; Aceito: 10 de Dezembro de 2024.

The current state of blood pressure measurement using wearables

Abstract. Wearable devices can be understood as high-tech equipment that can be used as accessories, integrated into clothing, or even implanted in the body. In the healthcare field, they have demonstrated a wide range of applications, including diagnostics, treatment, and rehabilitation, in addition to encompassing a significant portion of the sports industry. Due to the technology based on photoplethysmography, the measurement of physiological parameters has approached a near-continuous nature, which, in the case of blood pressure, represents a new paradigm compared to current non-invasive methods. In this context, this article discusses the current stage of development of these devices, including an assessment of their reliability.

Keywords: blood pressure; sphygmomanometer; metrology.

1. Introdução

O termo *wearable*, que pode ser traduzido como vestível, remete à tecnologia vestível (*wearable technology*), a qual abrange todas as tecnologias que empregam dispositivos eletrônicos que podem ser usados como acessórios ou integrados em roupas ou, ainda, implantados ou adesivados no corpo ou na pele do usuário.

O conceito de tecnologia vestível não é novo. Começou na década de 1980 com os relógios eletrônicos. Entretanto, desde o

início deste século, fatores de desenvolvimentos tecnológicos promoveram um crescimento surpreendente dos vestíveis e centenas de soluções vestíveis chegaram ao mercado, abrangendo uma ampla gama de domínios de aplicação¹.

Os vestíveis representam em 2024 um mercado de USD 186,48 bilhões, tendo como projeção para 2029 um mercado de USD 493,28 bilhões². Dentre os produtos vestíveis se destacam os denominados vestíveis inteligentes (*smart wearables*), que é um mercado estimado em USD 84,23 bilhões para 2024, tendo como projeção para 2029 ser um mercado de USD 205,10

[#]Autor de correspondência. E-mail: rffarias@inmetro.gov.br.

bilhões³. Quando se considera apenas a área de saúde, o mercado de vestíveis inteligentes é estimado em USD 41,75 bilhões para 2024, tendo como projeção para 2029 ser um mercado de USD 86,20 bilhões⁴.

Os vestíveis inteligentes devem possuir pelo menos dois recursos: usabilidade e inteligência. Usabilidade significa as tecnologias ou dispositivos que poderiam ser usados em corpos humanos, seja incorporado em roupas ou sendo projetados como acessórios vestíveis. Inteligência significa serem capazes de fornecer serviços inteligentes, como coletar informações do ambiente circundante, realizando o processamento de dados necessário e a saída das informações processadas, além de funcionar como parte de um sistema inteligente maior⁴.

As formas dos vestíveis inteligentes são várias, dependendo de onde será usado. Por exemplo: relógios inteligentes (*smartwatches*) e pulseiras para atividades físicas (*fitness*) são dispositivos de pulso que podem ser usados para rastreamento GPS, detecção da qualidade do sono e medição da frequência cardíaca, entre outras; óculos inteligentes podem ser usados para exibição de informações. Há também roupas inteligentes e joias inteligentes, estas últimas na forma de anéis e colares⁵. Assim como as formas, os campos de aplicação dos vestíveis inteligentes também são vários. Podem ser destinados à educação e pesquisa científica, ao ambiente de trabalho, ao esporte e à saúde.

Na área de esportes, os vestíveis inteligentes têm grande aplicação, ajudando os atletas a seguirem suas rotinas diárias e fornecendo informações importantes sobre parâmetros programados para controle, além de permitirem integração com ferramentas analíticas para avaliar os dados obtidos e melhorar o desempenho e aptidão pessoal. Essas possibilidades têm alcançado também indivíduos que não são atletas profissionais, mas que procuram quantificar seu progresso de condicionamento físico.

Na área da saúde, os dispositivos vestíveis apresentam um vasto potencial de aplicação, abrangendo diagnósticos, tratamento e reabilitação. Vistos como tecnologias médicas, os vestíveis inteligentes estão se tornando parte essencial no monitoramento de parâmetros fisiológicos pessoais e variáveis bioquímicas, como o estado físico e lembretes para medicação⁶. Avanços na miniaturização de eletrônicos flexíveis, biossensores eletroquímicos, microfluídica e em algoritmos de inteligência artificial têm possibilitado a criação de dispositivos vestíveis inteligentes capazes de medir em tempo real parâmetros fisiológicos e de integrá-los ao ambiente de Internet das Coisas (*Internet of Things*, IoT), com a finalidade de prever distúrbios ou diagnosticar doenças^{4,5}. Nesse contexto, existem vestíveis inteligentes que oferecem a funcionalidade de medição da pressão arterial, sendo que este artigo visa apresentar um panorama do seu funcionamento e confiabilidade.

2. Funcionamento dos vestíveis de monitoramento da pressão arterial

A medição da pressão arterial (PA) tem sido uma prática essencial na medicina, sendo fundamental para o diagnóstico e manejo de condições cardiovasculares. Historicamente, os métodos tradicionais de medição da PA podem ser divididos em

métodos invasivos, onde o sensor ou sonda entra em contato com o sangue (por exemplo, o cateterismo), ou não invasivo, em que o sensor não entra em contato com o sangue como, por exemplo⁷:

Método Auscultatório, também conhecido como método Riva Rocci-Korotkoff ou método manual, consiste em ouvir os sons de Korotkoff na artéria braquial;

Método Oscilométrico, baseia-se no princípio de que o ponto de máxima oscilação corresponde à pressão arterial média, e com um algoritmo apropriado, os valores sistólicos e diastólicos são calculados, e;

Método Tonométrico, que baseia-se no clampeamento por volume e é mais comumente utilizado em pesquisas.

Embora os métodos não invasivos sejam mais utilizados por não necessitarem de punção arterial, eles dependem da correta inflação do manguito e compressão do braço, o que pode ser desconfortável para o paciente⁸. Para contornar isso, um exemplo de vestível que surgiu foi do tipo *smartwatch* que possui uma braçadeira integrada à sua pulseira para realizar o método oscilométrico através da captura das variações de pressão na artéria radial^{9,10}.

Outra característica importante dos métodos não invasivos é que eles são intrusivos, o que significa que o fluxo sanguíneo é alterado durante a medição. Isto acarreta na necessidade de pausas entre medições para a recuperação hemodinâmica e impede a obtenção contínua de medições⁸. Nesse sentido, o desenvolvimento de vestíveis inteligentes que implementam métodos de medição baseados na fotopletiografia (*photoplethysmography*, ou PPG) tem se apresentado como solução em potencial.

A fotopletiografia visa incidir luz sobre uma parte do corpo humano (que, geralmente, inclui veias, artérias e numerosos capilares), medir a quantidade de luz que é absorvida ou refletida pelos vasos sanguíneos e associá-la às mudanças no volume do sangue. Um sinal PPG bruto geralmente é uma composição de um sinal pulsátil (que está relacionado a mudanças no volume de sangue dentro das artérias e é sincronizado com o batimento cardíaco) e um sinal não pulsátil (que é uma função do volume sanguíneo básico, da respiração, do sistema nervoso simpático e da termorregulação)¹¹.

Uma vez que o tecido humano interage de forma diferente com cada tipo de luz, a sua escolha depende do parâmetro fisiológico que se deseja monitorar. As luzes verde ou amarela, por exemplo, são mais indicadas para avaliação da componente pulsátil refletida, visto que possuem comprimentos de onda na faixa de 510 nm a 590 nm. Por sua vez, a luz infravermelha tem capacidade de penetração maior (cerca de 2,5 mm), o que a torna adequada para a detecção de açúcar no sangue, arteriosclerose e pressão arterial¹¹.

A vantagem do modo PPG reflexivo é que ele é menos restritivo em termos de locais de medição, mas tem a desvantagem de ter uma menor relação sinal-ruído (*Signal Noise Ratio - SNR*). Além disso, o modo PPG reflexivo é mais propenso a artefatos de movimento e varia mais com o posicionamento do sensor e distância entre a fonte de luz e o sensor. Por outro lado, o modo PPG transmissivo tem sido o método mais amplamente utilizado para obter a forma de onda distal (com relação ao

coração), sendo a melhor sugestão no caso da localização do sensor não ser um problema⁷.

Há evidências crescentes de que o tempo de transição de pulso (*PTT - Pulse Transit Time*) possa fornecer a base para obter uma medição adequada de PA. O PTT é definido como o tempo gasto para a onda de pressão se deslocar de um local proximal do corpo (com relação ao coração) para outro distal, como por exemplo, do braço até os dedos da mão⁹. Estudos experimentais mostraram que o PTT está relacionado à PA através de uma equação do tipo $PA = k_1/PTT + k_2$, onde k_1 e k_2 são parâmetros de calibração⁷.

O PTT é normalmente obtido utilizando dois sensores. Contudo, técnicas alternativas e suas combinações permitem sua obtenção utilizando apenas um único sinal PPG⁷. Desta forma, outros parâmetros de tempo obtidos de sinais fisiológicos em associação com o PPG, como os da balistocardiografia e fonocardiografia podem ser utilizados para estimativa da PA. Por exemplo, o tempo gasto para a onda de pulso sair do coração e chegar a um ponto distal, como o dedo da mão, conhecido como tempo de chegada de pulso (*Pulse Arrival Time - PAT*). O PAT equivale a soma do PTT ao período de pré ejeção (*Pre-Ejection Period - PEP*), o qual corresponde ao tempo de atraso adicional entre a despolarização elétrica do ventrículo esquerdo e o início da ejeção ventricular mecânica. O PEP é obtido do sinal QRS de um eletrocardiograma e, portanto, o PTT pode ser determinado a partir da análise do sinal PPG em conjunto com o sinal obtido via eletrocardiografia¹⁰. O PTT também pode ser obtido diretamente pelo método PPG, através do tempo de trânsito de inclinação (*Slope Transit Time - STT*), o qual reflete a tendência de aumento acentuado da onda de pulso¹⁰.

Embora a tecnologia PPG seja atualmente uma técnica amplamente adotada, ainda enfrenta desafios em termos de interferências de medição ocasionadas por diversos fatores dentre os quais pode-se citar aqueles relacionados às variações individuais do paciente (cor da pele, obesidade, idade e sexo), fisiologia (respiração, pulsação venosa, local do corpo de medição e temperatura corporal), e perturbações externas do próprio dispositivo (artefato de movimento, luz ambiente e pressão aplicada à pele)¹². Além disso, sensores PPG também exigem o uso de uma fonte de energia externa. Nos últimos anos, os pesquisadores têm se concentrado na exploração de sensores de pressão vestíveis capazes de superar as deficiências do PPG, alguns destes sensores de pressão, como os piezoelétricos, triboelétrico e magnetoelástico, não precisam de uma fonte de alimentação externa, enquanto sensores do tipo piezoresistivo, capacitivo e ópticos ainda requerem¹³.

Dessa forma, observa-se que os métodos de medição de pressão arterial por vestíveis inteligentes têm evoluído, havendo diversas opções de tecnologias disponíveis e necessidade de melhorias na exatidão da estimativa da PA.

3. Confiabilidade da medição dos vestíveis

Independente da tecnologia utilizada, a pressão arterial exibida na tela de um vestível pode ser um valor diferente da pressão que o paciente tem. Essa diferença é conhecida como erro de medição e a avaliação da sua magnitude está diretamente

associada à confiabilidade do dispositivo. Para lidar com essa situação, dois documentos normativos podem ser considerados:

- A série ISO 81060 - conjunto de normas publicadas pela *International Organization for Standardization* (ISO), dedicadas a avaliar diversos tipos de esfigmomanômetros não invasivos. Ela é composta pelas partes 1, 2, 3 e 5, sendo que as partes 1 e 2 possuem correlatas nacionais publicadas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e a parte 4 não existe devido ao cancelamento do projeto durante o seu desenvolvimento;
- A IEEE 1708 - publicada pelo *Institute of Electrical and Electronics Engineers* (IEEE), essa norma tem como objetivo avaliar vestíveis sem manguito (*cuffless*). Embora ela apresente requisitos acerca da segurança, estabilidade e comunicação com outros equipamentos, seu requisito principal consiste em determinar a diferença entre as medições feitas pelo dispositivo e uma referência (método auscultatório).

Tanto os documentos da ISO 81060 como a IEEE 1708 foram elaborados a partir do consenso obtido diante da opinião de especialistas e têm aceitação internacional, o que facilita seu reconhecimento diante de um mercado globalizado. Contudo, cada região possui particularidades que também devem ser observadas para que a comercialização seja possível. Abaixo são apresentadas as situações de algumas dessas regiões:

- Estados Unidos (EUA) → através da *Food and Drug Administration* (FDA), os EUA classificam os esfigmomanômetros como dispositivos médicos de baixo risco e, por causa disso, não passam pelo processo de Aprovação pré-mercado, mas sim pelo processo de Notificação pré-mercado, no qual a empresa responsável deve demonstrar que o produto é seguro, efetivo e substancialmente equivalente a um produto disponível no mercado¹⁴;
- Comunidade europeia → os esfigmomanômetros são regulados com base no Regulamento de Dispositivos Médicos, que estabelece padrões de qualidade, eficácia e segurança para esses dispositivos. Eles devem ser marcados com o selo CE, que indica conformidade com os requisitos de segurança, saúde e proteção ambiental exigidos pela Comunidade Europeia. Além disso, os países da União Europeia podem ter regulamentações adicionais específicas. Os produtos aprovados devem ter suas informações disponíveis no *European Database on Medical Devices* (EUDAMED)¹⁵;
- Brasil → os esfigmomanômetros que utilizam método auscultatório ou oscilométrico devem ser aprovados pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro)¹⁶ e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa)¹⁷.

Além disso, existem instituições independentes que estabeleceram seus próprios mecanismos de avaliação de dispositivos médicos, como apresentado a seguir:

- *Medical Device Assessment and Validation* (Medaval) → de acordo com as informações disponíveis em seu site, ela é uma organização sem fins lucrativos que avalia monitores de pressão arterial, glicosímetros e oxímetros de pulso disponíveis no mercado e utiliza um conjunto de 5 critérios para classificá-los (a saber, “validação clínica realizada de forma independente”, “tipo de protocolo utilizado na validação”, “validação

dentro dos últimos 10 anos”, “quantidade de validações” e “certificação pela própria Medaval”¹⁸;

- *Stride BP* → de acordo com as informações disponíveis em seu site é uma organização científica internacional sem fins lucrativos fundada por especialistas em hipertensão com a missão de melhorar a precisão da medição da pressão arterial, o diagnóstico e o tratamento da hipertensão em todo o mundo. Opera em afiliação com a *International Society of Hypertension*, *European Society of Hypertension* e *World Hypertension League*, a fim de prover orientações sobre esfigmomanômetros que são devidamente validados. Sua avaliação é baseada em estudos publicados em periódicos com *peer-review* e declarações de fabricantes que demonstrem que o produto é equivalente a produtos já aprovados pela instituição¹⁹;
- *British and Irish Hypertension Society* (BIHS) → fundada em 1981, essa organização visa ser um fórum para profissionais que atuam no campo da hipertensão e das doenças cardiovasculares. Uma de suas atividades é a disponibilização de uma lista de esfigmomanômetros aprovados, a partir da revisão independente de relatórios publicados²⁰.

Dessa forma, pode-se traçar um panorama dos vestíveis que medem pressão arterial disponíveis no mercado por meio da busca de informações nos bancos de dados que essas instituições disponibilizam utilizando as definições apresentadas no Quadro 1, sendo que os resultados obtidos são apresentados no Quadro 2.

Observa-se que ainda há poucos modelos de dispositivos vestíveis inteligentes disponíveis no mercado com algum tipo de reconhecimento de sua utilização para monitoramento da pressão arterial. No Brasil, a Anvisa aprovou, em 2022, dois aplicativos da fabricante Samsung para medição dos sinais de eletrocardiografia (ECG) e monitoramento de pressão arterial, por meio do dispositivo *Galaxy Watch*. Contudo, o cadastro deles ocorreu na forma de registro simplificado devido ao enquadramento na

Quadro 1 - Informações utilizadas para realizar as buscas nas bases de dados

Base de dados	Expressão buscada
FDA	510(k) Database Product Code: DXN
EUDAMED	Devices/SPPs Search by code or description: Z1203020302
Medaval	Category: Blood Pressure Monitors (BPMs) Availability: Available Currently Client Use: Home Measurement Site: Wrist
Stride BP	BP Monitors Use: Home Measurement Site: Wrist watch
BIHS	BP Monitors For home use

Quadro 2 - Resultados das buscas nas bases de dados

Modelo	Método de medição	Base de dados
Healthstats BPro	Tonometria	FDA, EUDAMED
Omron Heartguide (HEM-6410T-ZL)	Oscilometria	FDA, Medaval, Stride BP
Samsung Galaxy Watch3 (SM-R850)	PPG	Medaval
Huawei Watch D	Oscilometria	Medaval, Stride BP
Raycome RBP-88A	<i>Pulse Wave</i>	EUDAMED

categoria de dispositivos médicos da classe de risco II (médio risco)²¹, sendo que eles não têm a função de diagnóstico e não substituem métodos tradicionais, servindo apenas para monitoramento, com fins informativos²².

Um aspecto a ser ressaltado é que ainda persiste o entendimento de que estes dispositivos são apenas para monitoramento durante exercícios físicos, com o intuito de fornecer ao usuário noções de valores, sendo necessário recorrer a um serviço de saúde, e/ou clínicas especializadas, para que se faça um monitoramento médico dos parâmetros de saúde. O aumento na confiança sobre as medições produzidas por esses vestíveis está ligado à realização de mais estudos com indivíduos que abrangem amplas variações em características como idade, cor de pele e condições de saúde²³. Além disso, as normas mencionadas não prevêm mecanismos que possibilitem uma avaliação periódica do desempenho dos produtos que estão em uso.

4. Conclusão

Diante do cenário apresentado, pode-se identificar alguns desafios importantes para que a utilização dos vestíveis inteligentes no diagnóstico de hipertensão e no monitoramento da pressão arterial possa ser considerada, a saber:

- Definição normativa ou regulamentar do termo vestível inteligente (*wearable*);
- Desenvolvimento dos vestíveis visando torná-los mais robustos diante das diversas condições apresentadas pelo ser humano;
- Desenvolvimento de método que permita a rastreabilidade metrológica das medições dos vestíveis;
- Revisão das normas e regulamentos, principalmente com relação à estrutura de monitoramento dos produtos em fase pós-mercado;
- Revisão dos protocolos de gestão de hipertensão e monitoramento da pressão arterial para lidar com os resultados fornecidos pelos vestíveis inteligentes.

Esses desafios demonstram que, atualmente, a medição de pressão arterial por dispositivos vestíveis inteligentes deve ser considerada com cautela e confirmada através de medição com outro dispositivo de confiabilidade assegurada, de preferência tendo a assistência de um serviço de saúde.

Referências

1. Williamson J, Liu Q, Lu F, Mohrman W, Li K, Dick R, et al. Data sensing and analysis: challenges for wearables. The 20th Asia and South Pacific Design Automation Conference, Chiba, 2015;136-141, doi: <https://doi.org/10.1109/ASPDAC.2015.7058994>
2. Mordor Intelligence. Wearable technology market size: report on industry size & markt analysis-growth trend & forecasts (2024-2029). Disponível em <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/wearable-technology-market>, acesso em 4/06/2024.
3. Mordor Intelligence. Smart wearable market size (2024-2029). Disponível em <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/smart-wearables-market/market-size>, a cesso em 4/06/2024.
4. Mordor Intelligence. Wearable medical devices market size. Disponível em <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/global-wearable-medical-device-market-industry>, acesso em 4/06/2024.
5. Xue Y. A review on intelligent wearables: uses and risks. *Hum Behav & Emerg Tech.* 2019;1:287-94. doi <https://doi.org/10.1002/hbe2.173>
6. Yetisen AK, Martinez-Hurtado JL, Ünal B, Khademhosseini A. Wearable medicine. *Advanced Materials*, 2018;30(33):1706910. doi <https://doi.org/10.1002/adma.201706910>
7. Panula T, Sirkiä J-P, Wong D, Kaisti M. Advances in non-invasive blood pressure measurement techniques. *IEEE Reviews in Biomedical Engineering*, 2023;16:424-38. doi <https://doi.org/10.1109/RBME.2022.3141877>
8. Konstantinidis D, Iliakis P, Tatakis F, Thomopoulos K, Dimitriadis K, Tousoulis D, et al. Wearable blood pressure measurement devices and new approaches in hypertension management: the digital era. *J Hum Hypertens.* 2022;36:945-51. doi <https://doi.org/10.1038/s41371-022-00675-z>
9. Kuwabara M, Harada K, Hishiki Y, Kario K Validation of two watch-type wearable blood pressure monitors according to the ANSI/AAMI/ISO81060-2: 2013 guidelines: Omron HEM-6410T-ZM and HEM-6410T-ZL. *The Journal of Clinical Hypertension.* 2019;21:853-8. doi <https://doi.org/10.1111/jch.13499>
10. Takeshi K, Takanori N. Arterial compression technology for watch-type blood pressure monitor. *OMRON TECHNICS.* 2020;52.016EN 2020.8
11. Elgendi M, Fletcher R, Liang Y, Howard N, Lovell NH, Abbott D, et al. The use of photoplethysmography for assessing hypertension. *NPJ Digit. Med.* 2019;2:60. doi <https://doi.org/10.1038/s41746-019-0136-7>
12. Fine J, Branam KL, Rodriguez AJ, Boonya-Ananta T, Ajmal, Ramella-Roman JC, et al. Sources of inaccuracy in photoplethysmography for continuous cardiovascular monitoring. *Biosensors.* 2021;11(4):126. doi <https://doi.org/10.3390/bios11040126>
13. Meng K, Xiao X, Wei W, Chen G, Nashalian A, Shen S, et al. Wearable pressure sensors for pulse wave monitoring. *Advanced Materials.* 2022;34(21):2109357. doi <https://doi.org/10.1002/adma.202109357>
14. Food and Drug Administration. Device approvals and clearance. Disponível em <https://www.fda.gov/medical-devices/products-and-medical-procedures/device-approvals-and-clearances>, acesso em 24/10/2024.
15. European Commision. European Database on medical devices. Disponível em <https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home>, acesso em 24/10/2024.
16. Ministério da Economia, Instituto Nacional de Metrologia e Tecnologia. Portaria N° 341 de 9 de agosto de 2021. Disponível em <http://sistema-sil.inmetro.gov.br/rtac/RTAC002827.pdf>, acesso em 04/08/2023
17. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N° 751, de 15 de Setembro de 2022 (Publicada no DOU n° 180, de 21 de setembro de 2022). Dispõe sobre a classificação de risco, os regimes de notificação e de registro, e os requisitos de rotulagem e instruções de uso de dispositivos médicos. Disponível em http://antigo.anvisa.gov.br/documentos/10181/5672055/RDC_751_2022_.pdf/37b2d641-82ec-4e64-bb07-4fc871936735, acesso em 4/08/2023
18. Medaval. Disponível em <https://www.medaval.ie/index.html>, acesso em 24/10/2024.
19. Stride BP. Disponível em <https://www.stridebp.org/>, acesso em 24/10/2024.
20. British and Irish Hypertension Society. Disponível em <https://bihs.org.uk/>, acesso em 24/10/2024.
21. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N° 751, de 15 de Setembro de 2022 (Publicada no DOU n° 180, de 21 de setembro de 2022). Dispõe sobre a classificação de risco, os regimes de notificação e de registro, e os requisitos de rotulagem e instruções de uso de dispositivos médicos. Disponível em http://antigo.anvisa.gov.br/documentos/10181/5672055/RDC_751_2022_.pdf/37b2d641-82ec-4e64-bb07-4fc871936735, acesso em 24/10/2024.
22. Nacional de Vigilância Sanitária. Aprovados aplicativos para ECG e pressão arterial. Disponível em <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2020/aprovados-aplicativos-para-ecg-e-pressao-arterial>, acesso em 24/10/2024.
23. Kario K, Shimbo D, Tomitani N, Kanegae H, Schwartz JE, Williams B. The first study comparing a wearable watch-type blood pressure monitor with a conventional ambulatory blood pressure monitor on in-office and out-of-office settings. *The Journal of Clinical Hypertension (Greenwich, Conn.).* 2020;22(2):135-41. doi <https://doi.org/10.1111/jch.13799>



Hipertensão. Sociedade Brasileira de Hipertensão- ISSN: 1809-4260 – under a license Creative Commons - Version 4.0

Mini-Review

N-domain Angiotensin-Converting Enzyme of 90 kDa: a potential biomarker for hypertension

Andréia Cristina Febba-Gomes¹, Nayara Azinheira Nobrega Cruz²; Fernanda Aparecida Ronchi³,
Fernanda Barrinha Fernandes⁴, Leila Cristina Verlangieri Maluf Meiken², Danielle Sanches Aragão²,
Maria Claudina Camargo de Andrade², Andressa Melina Severino Teixeira², Cleber Aparecido Leite²,
Danielle Yuri Arita³, Rodrigo Yokota², Lilian Caroline Gonçalves Oliveira², Jose Geraldo Mill⁵,
Frida Liane Plavnik⁶, Dulce Elena Casarini^{2,#} 

¹Hospital do Rim, Fundação Oswaldo Ramos, São Paulo, SP, Brazil.

²Universidade Federal de São Paulo, Departamento de Medicina, São Paulo, SP, Brazil.

³Instituto Jô Clemente, São Paulo, SP, Brazil.

⁴Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo, SP, Brazil.

⁵Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências Fisiológicas, Centro de Ciências da Saúde,
São Paulo, SP, Brazil.

⁶Universidade de São Paulo, Instituto do Coração, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, São Paulo,
SP, Brazil.

Abstract. Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) is a key regulator of Renin-Angiotensin-Aldosterone and Kallikrein-Kinin Systems, two major hormonal systems that, when dysregulated, promote hypertension, the leading cause of worldwide premature death. This review focuses on the 90 KDa N-domain of ACE isoform as a potential biological marker for hypertension. Three isoforms of ACE can be found in the urine of humans, one resembling somatic ACE with 190 KDa, and two catalytic active fragments of N-Domain with 90 KDa and 65 KDa. Normotensive individuals with a family history of hypertension present the three isoforms, hypertensive patients present only the 90 KDa and 65 KDa N-domain isoforms while normotensive individuals without family risk of hypertension lack the 90 KDa isoform. These findings were further confirmed by in vitro assays and animal models of hypertension, solidifying the 90 KDa isoform of ACE as a potential marker to identify individuals at higher risk of hypertension and grounding the development of new therapeutic strategies contributing to prevention and treatment of hypertension and consequential diseases.

Keywords: N-domain Angiotensin-Converting Enzyme, Renin-Angiotensin-Aldosterone System, Kallikrein-Kinin System, hypertension, inflammation.

Recebido: 2 de Dezembro de 2024; Aceito: 15 de Dezembro de 2024.

Enzima Conversora de Angiotensina N-domínio de 90 kDa: um potencial biomarcador para hipertensão

Resumo. A Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) é um importante regulador dos sistemas Renina-Angiotensina-Aldosterona e Caliceína-Cininas relevantes sistemas hormonais que quando desregulados promovem a hipertensão, a principal causadora de morte prematura no mundo. Esta revisão foca na isoforma N-domínio de 90 KDa da ECA como potencial marcador biológico para hipertensão. Três isoformas da ECA podem ser encontradas na urina de humanos, uma semelhante a ECA somática com 190 KDa, e duas formas cataliticamente ativas do N-domínio com 90 KDa e 65 KDa. Indivíduos normotensos com histórico familiar de hipertensão apresentam as três isoformas, pacientes hipertensos apresentam somente as isoformas N-domínio de 90 KDa e 65 KDa enquanto normotensos sem histórico familiar de hipertensão não apresentam a isoforma de 90 KDa. Esses resultados foram confirmados por ensaios in vitro e modelos de hipertensão com animais,

#Autor de correspondência. E-mail: casarini.elena@unifesp.br.

solidificando a isoforma N-domínio de 90 KDa da ECA como potencial biomarcador para identificar indivíduos com predisposição à hipertensão e embasar o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas contribuindo para prevenção e tratamento da hipertensão e doenças correlatas.

Palavras-chave: Enzima Conversora de Angiotensina N-domínio, Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona, Sistema Caliceína-Cininas, hipertensão, inflamação.

1. Introduction

Arterial hypertension (AH) is a complex, multifactorial, and polygenic disease dependent on diet, demographic, and genetic factors that result from the imbalance of several systems. It is considered a public health problem, characterized as the major global contributor to cardiovascular diseases and premature mortality, particularly due to its impact on vital organs and the coexistence of various comorbidities such as chronic renal disease, diabetes, cerebrovascular diseases, heart failure, myocardial infarction, stroke, and obesity¹⁻³. Population studies highlight the importance of controlling arterial hypertension, given that it is prevalent in developing and industrialized countries. Arterial hypertension is characterized by an elevation of blood pressure (BP) levels above normal systemic blood pressure values, 140/90 mmHg considered the upper limit of normal, with multiple etiologies and pathophysiology. Regardless of the accessibility of several well-established pharmacological treatments, the percentage of patients achieving adequate BP control is still significantly lower⁴.

Arterial BP is the product of cardiac output and peripheral vascular resistance. The determining factors of blood pressure affect both cardiac output and arteriolar vascular physiology. These factors include salt intake, renal function, the sympathetic nervous system, and the balance of humoral mediations measured by systemic and local vasoconstrictors as angiotensin II (Ang II), catecholamines, vasopressin, endothelin and vasodilators as prostaglandins, kinins, nitric oxide, atrial natriuretic factor, and substance P¹.

The Renin-Angiotensin-Aldosterone System (RAAS) is essential for the regulation of fluid and electrolyte balance and BP⁵. The RAAS operates at the endocrine, paracrine, and intracrine levels, and alterations in this system have been associated with the pathogenesis of cardiovascular and renal diseases⁶. Classically, the RAAS is seen as a linear and sequential cleavage pathway in which angiotensinogen is converted to Ang I by renin⁷. Ang I is subsequently converted by Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) to Ang II, the main effector of the RAAS^{8,9}. Ang II is a vasoconstrictor, proliferative, proinflammatory, and profibrotic peptide that acts primarily through its cognate G-protein-coupled receptor (GPCR), the type 1 receptor (AT1R)¹⁰. Inhibition of the RAAS with ACE inhibitors (ACEIs) and angiotensin receptor blockers (ARBs) are key therapies against the progression of nephropathy and cardiovascular disease, as they effectively decrease the expression and activity of Ang II¹¹.

ACE2 is a recently discovered homologue of ACE and can cleave Ang II into Ang 1-7¹². ACE2 also cleaves several other bioactive peptides including neurotensin, dynorphin A (1-13), apelin-13, and des-Arg⁹-bradykinin (DABK)¹³. Increased levels

of DABK, a peptide from the Kallikrein-Kinin System (KKS), are responsible for increasing vascular permeability, and proinflammatory repercussions, which may be blocked by the action of ACE2, as this enzyme can degrade it¹³. The vasoactive system has as a principal peptide, bradykinin (BK), generated from kininogen by kallikrein and opposes the vasoconstrictor effects provided by the RAAS. The components of the RAAS and KKS are shown in Figure 1.

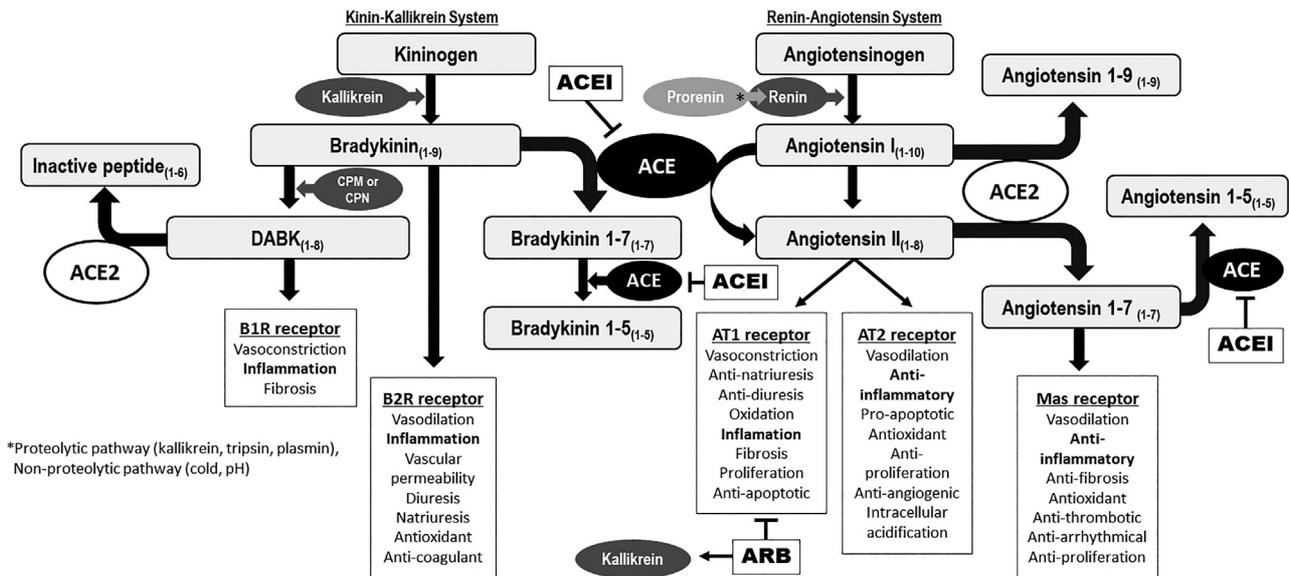
Ang 1-7, a biologically active peptide binds to a GPCR-coupled receptor, Mas (MasR), and antagonizes the deleterious actions of Ang II¹⁵. ACE2 can also catalyze the cleavage of Ang I to Ang 1-9¹⁶. In healthy kidneys, ACE2 is widely distributed and most abundantly expressed in the proximal tubules. Many studies have shown that this distribution is altered in kidney disease. Aminopeptidases are responsible for forming Ang II and Ang IV, and neutral endopeptidases are capable of forming Ang 1-7 directly from Ang I.

ACE, a peptidyl dipeptidase A, is an ectoenzyme anchored to the cell membrane, with its catalytic sites exposed to the extracellular surface (Figure 2). It is a zinc-dependent metallo-peptidase characterized by its specificity for various substrates. The fact that ACE releases the potent vasopressor agent Ang II, an aldosterone-stimulating octapeptide that is involved in fluid and electrolyte homeostasis¹⁷, means that it plays an important role in the control of vascular tone and the regulation of blood pressure. Two isoforms of ACE are described in the literature: a form present in the vascular bed of almost all organs, where it is found bound to the membrane of endothelial cells, called somatic, and a germinal isoform found in the testes¹⁸.

These two soluble forms differ in their primary structures, which were determined through cDNA cloning^{20,21}. The somatic form has a molecular mass ranging from 130 to 180 kDa and has two homologous domains, the N- and C-terminal domains, each containing a functional site. These domains are highly homologous, each containing a zinc-binding site, but they differ in their substrate specificity and sensitivity to regulatory factors. The ACE molecule results from the duplication of an ancestral gene^{20,22}. The germinal ACE has a low molecular mass ranging from 90 to 100 kDa in humans. Its primary structure, deduced from the cDNA sequence, is completely identical to the C-terminal portion of the somatic enzyme^{21,23}.

ACE is anchored to the cell membrane through a 17-amino acids peptide located in its C-terminal region, which separates a short intracellular C-terminal tail from the large extracellular N-terminal domain²⁴. The enzyme is present in the lungs, heart, kidney, brain, and other tissues of higher animals²⁵. ACE has two distinct catalytic sites called N- and C-terminal domains²⁴, as reported above. These two ACE domains may have common or different characteristics. Both sites hydrolyze Ang I and BK with almost the same catalytic efficiency²². The N-domain spe-

Figure 1 - Pathways of interaction between the Kallikrein-Kinin and Renin-Angiotensin-Aldosterone Systems and mechanism of action of ACE inhibitors and angiotensin type 1 (AT1) receptor blockers (ARB). Kininogen, the precursor of the KKS is cleaved by kallikrein, releasing BK that acts mainly on the B2R receptor, promoting the effects described in the box. Then, BK is degraded by ACE or can be converted to DABK by CPM and CPN, DABK is an agonist of the B1R receptor, subsequently, ACE2 can inactivate DABK. In the RAAS, the precursor angiotensinogen is processed by renin, releasing Ang I, which can be cleaved by ACE to form Ang II which exerts its effects by binding to AT1 and AT2 receptors. Ang II is a substrate for ACE2 generating Ang 1-7, an active peptide that exerts protective effects binding to Mas receptor. ACEI acts by inhibiting ACE activity, consequently, ACEIs inhibit Ang II and Ang 1-7 formation, and BK degradation, these effects combined promote vasodilation. ARBs, blockers that act specifically on AT1R, inhibit Ang II binding to AT1R and its effects. Also, they possibly trigger intracellular acidification that can activate kallikrein and promote BK synthesis. B1R antagonists can block DABK-induced pro-inflammatory signaling. ACE: Angiotensin-Converting Enzyme; ACEI: Angiotensin-Converting Enzyme inhibitors; ACE2: Angiotensin-Converting Enzyme 2; Ang: angiotensin; ARB: Angiotensin II Receptor Blockers; B1R: kinin B1 receptor; BK: bradykinin; CPM: carboxypeptidase M; CPN: carboxypeptidase N; DABK: des-Arg9-bradykinin. Source: Oliveira¹⁴.



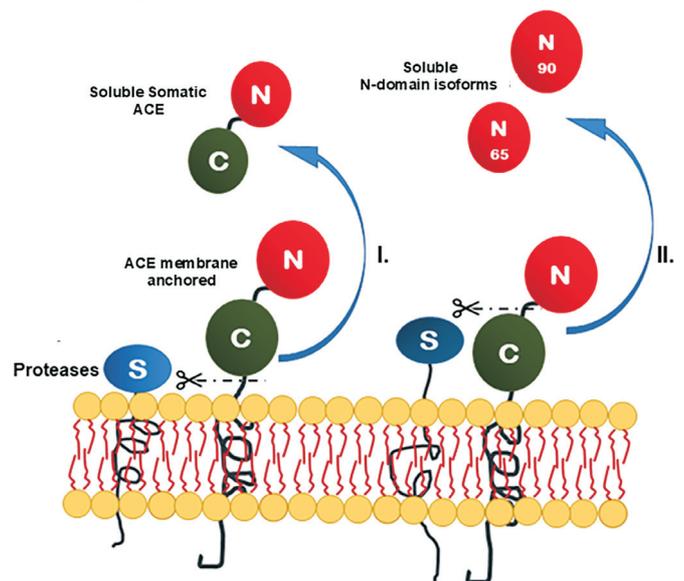
specially cleaves two physiological substrates, Ang 1-7^{26,27} and N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline, hemoregulatory peptides²⁸.

ACE is found in endothelial and epithelial cells and biological fluids, such as plasma, cerebrospinal fluid, amniotic fluid, urine, and semen. Due to the association of ACE with the plasma membrane of vascular endothelial cells, the enzyme has a wide distribution in tissues.

Renal ACE is located in the brush border of the proximal tubule²⁹ and in the collecting tubule³⁰, in mesangial cells³¹, as well as, in the microvilli of the small intestine³². It is also found in the choroid plexus, prostate, and epididymis¹⁷, in gastric epithelial cells, and in mononuclear cells such as monocytes, T-lymphocytes, and fibroblasts³³. ACE is present in the brain of several animal species and humans. In the literature, it is postulated that soluble ACE may be derived from the membrane-bound endothelial isoenzyme by translational modification (Hooper, 1991). There is likely a mechanism for solubilizing the membrane-bound enzyme “in vivo” and, therefore, many body fluids present the soluble form of the enzyme^{18,34}. This mechanism involves proteolytic cleavage by secretases^{35,36}.

ACEs were found in seminal fluid, plasma, cerebrospinal fluid²³, amniotic fluid, prostate homogenate¹⁷, ileal fluid²⁷, and urine³⁷⁻³⁹ are examples of soluble forms of the enzyme. In the

Figure 2 - Soluble Somatic ACE (sACE) and N-domain isoforms (nACE) with 65 kDa and 90 kDa, respectively. The shedding process of ACE involves the release of two soluble forms: sACE (I) and N-domain ACE(II). Adapted from Ehlers¹⁹.



urine of rats and humans was described somatic and N-domain soluble ACEs^{38,40,41}.

2. Cell and tissue ACEs

ACE gene expression in Wistar mesangial cells (MC) was described for the first time by Camargo de Andrade et al.³¹ that purified and characterized four ACEs from Wistar rat MC: two in the intracellular compartment, 130-kDa ACEInt1A (full-length somatic ACE) and 68-kDa ACEInt2A (N-domain ACE), and two as secreted forms, 130-kDa ACE1A and 60-kDa ACE2A³¹. To investigate the shedding mechanisms of the 90 and 65 kDa N-domain ACE isoforms, active soluble nACE isoforms were purified from cell lysates and culture media of primary MC derived from Wistar rats or spontaneously hypertensive rats (SHR). Notably, the 90 kDa isoform was exclusively expressed in SHR cells. Additionally, we explored the potential involvement of proteolytic enzymes in the hydrolysis of somatic ACE, leading to the generation of nACE isoforms in MC. The group described the presence of ACE sheddases in MC, identifying serine proteases capable of hydrolyzing somatic ACE *in vitro*. However, the underlying ACE shedding remains unclear. Specifically, the 65 and 90 kDa ACE are generated by cleavage in the middle of somatic ACE anchored in the membrane, and also the regulation of ACE sheddases in MC and their roles in the generation of N-domain ACEs related to genetically programmed hypertension remains to be fully understood³⁶.

Based on results from our group, showing an ACE profile in hypertensive patients and SHR (90 and 65 kDa) that is different from the ACE profile in healthy subjects and Wistar rats (190 and 65 kDa), the 90-kDa ACE, was described as a possible genetic marker of hypertension^{38,40,41}. Based on this, we decided to investigate ACE mRNA, protein expression, and the biochemical properties of the secreted and intracellular ACE forms from cultured SHR mesangial cells for comparison with the ACE isoforms from the same cells from Wistar rat. These results demonstrate the effective establishment of a model of MC culture convenient for the study of renal synthesis and release of N-domain ACE. In addition, we colocalized N-domain ACE with Ang II and Ang 1-7 in the MC nuclei³¹.

Marques et al.⁴¹ purified ACEs from the urine of WKY rats (190 and 65 kDa), SHR, stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHR-SP) and SHR enalapril-treated (80 and 65 kDa), 1 kidney/1clip (1K1C), deoxycorticosterone acetate (DOCA) salt rats and their respective controls (190 and 65 kDa) to distinguish between hemodynamic and genetic influences on the generation of the ACE profile in the urine⁴¹. The presence of 80 kDa ACE in the urine of SHR, SHRSP, and SHR enalapril-treated and its absence in the urine of experimental hypertensive rats (1K1C and DOCA salt) support the hypothesis that this enzyme could be a possible genetic marker for hypertension.

The differences in molecular weights described for ACE purified from human and rat urine, of 90 and 80 kDa, respectively, resulted from protein glycosylation. N-domain ACEs detected in the urine of WKY rats (65 kDa) and SHR (80 and 65 kDa) were not restricted to the kidney but were found in the adrenal, aorta, heart, liver, lung, and testicle tissue of Wistar (W) and SHR, thus having a major influence in the regulation of local physiology suggesting that these enzymes could influence

local angiotensin II production, contributing to organ-specific regulation⁴⁰.

The fact that the N-domain ACEs are detected in different tissues can lead us to speculate that they are locally involved in the inactivation of vasodilator peptide Ang 1-7, a specific substrate for these isoforms, in addition to the conversion of Ang I into Ang II. Campbell⁴² have already described that local RAAS could play a significant role independent of changes in circulating RAAS. Presently, it is known that circulating RAAS, especially the renin secretion from the kidney, promotes a fast and efficient homeostatic response, with changes in the blood pressure, fluid, and electrolyte exchanges. In contrast, tissue RAAS can generate a specific and prompt local influence, such as in the regulation of vascular tonus or the renal, cardiac, or adrenal function. In the current literature, the importance and significance of the pathogenesis of the local generation of Ang II is evident, which leads us to reconsider the previous concepts of the role of Ang II in hypertension.

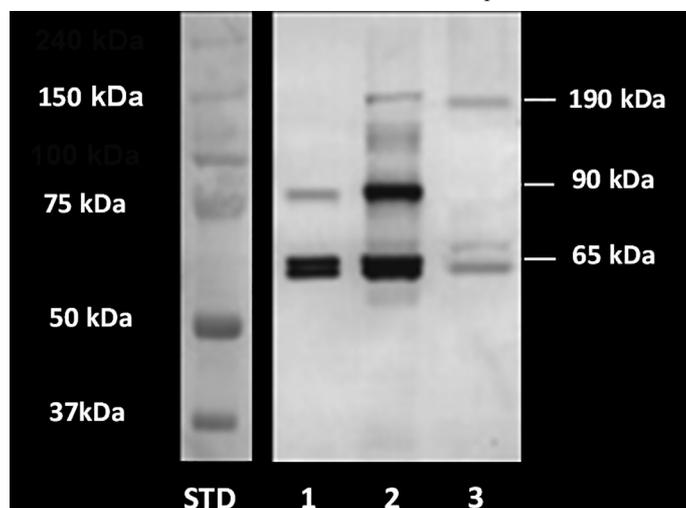
3. Urinary ACE

The results of urinary ACE studies remained conflicting for many years^{43,44}. Two forms of ACE from the urine of healthy individuals were purified by Casarini et al., one similar to the somatic form of high molecular mass (190 kDa) and the other of low molecular mass (65 kDa), a fragment of ACE N-domain³⁷⁻³⁹. The characterization of the two forms was obtained from studies with monoclonal antibodies specific for the N-domain fragment of human ACE and polyclonal antibodies. Both forms were inhibited by lisinopril, captopril, enalapril, andtrandoprilat. These isoforms of ACE were able to convert Ang I to Ang II, inactivate BK, and hydrolyze substance P, Leu-enkephalin, LHRH (Luteinizing Hormone-Releasing Hormone), and Ang 1-7. The N-domain of ACE hydrolyzes LHRH and Ang 1-7 more efficiently than the high-molecular-mass isoform of ACE. In the same study, untreated essential hypertensive patients presented two low-molecular-mass isoforms of ACE: the previously identified isoform with 65 kDa and one with a molecular mass of 90 kDa, both forms being N-terminal fragments of ACE. Casarini³⁷ described that the urine of hypertensive patients (treated or not) contains the 90 kDa enzyme, which is not found in the urine of healthy individuals. These results suggested that the urine of hypertensive patients, whether treated or not, did not contain the 190 kDa form.

A study published by Maluf-Meiken⁴⁵ investigated the presence of the urinary 90 kDa N-domain ACE as a possible genetic marker of hypertension in a cohort of the population from Vitoria, Brazil, to verify its association with essential hypertension. As described by the authors the studied groups were divided according to ACE isoforms in urine as follows: ACE 65/90/190, presence of three ACE isoforms ($n = 795$), ACE 90+ (65/90) ($n = 186$), and ACE 90- (65/190) ($n = 169$) based on the presence (+) or absence (-) of the 90 kDa ACE isoform (Figure 3).

The group with ACE 90+ presented the anthropometric parameters, lipid profile, serum levels of uric acid, glucose, and systolic and diastolic BP significantly greater than the ACE 90-

Figure 3 - Western Blotting Showing ACE Isoforms in Urine of Normotensive Subjects Whose Family Presents or Not a History of Hypertension. STD, Standard; 1- Group 65 and 90 kDa ACE isoforms; 2- Group 65, 90 and 190 kDa ACE isoforms and 3- Group 65 and 190 kDa ACE isoforms. Source: Casarini et al.³⁸, data not published.



and ACE 65/90/190 groups. The ACE 90+ group had 98% of individuals with hypertension, and the ACE 65/90/190 group had 38%, compared to only 1% of hypertensive individuals observed in the ACE 90- group. Considering the higher prevalence of hypertension among the individuals presenting the 90 kDa N-domain ACE isoform in this cohort, Maluf-Meiken⁴⁵ suggested the isoform as a potential biological marker of hypertension, these findings can contribute to the development of new efficient strategies to identify individuals at higher risk, to prevent and treat hypertension avoiding the development of cardiovascular disease.

As previously reported, healthy children of hypertensive parents presented the 190, 90, and 65 kDa ACE isoforms, presence of the 90 kDa isoform of ACE was associated with reduced flow-mediated dilation at the brachial artery⁴⁶. Additionally, Febba⁴⁷ found that nutritionally stunted children, known to be more prone to develop hypertension, presented higher urinary expression of 90 kDa N-domain of ACE and increased BP values. From the normotensive individuals who presented the three ACE isoforms, a significantly higher percentage became hypertensive after a few years when compared to individuals lacking the 90 kDa ACE isoform, reinforcing that this marker may be predictive of hypertension. Therefore, this population would be predisposed to developing the disease or having affected children.

Recently Cruz⁴⁸ evaluated ACE in children and adolescents analyzing their relationship with dyslipidemia and other cardiometabolic alterations. The authors observed a higher prevalence of obesity and overweight among dyslipidemic children, the more prevalent dyslipidemias were low HDL-C and hypertriglyceridemia. ACE activity had no direct association with BP values in this cohort, but ACE activity, especially N-domain activity, was upregulated in children with dyslipidemia who presented higher BP values. Upregulation of ACE in association with dyslipidemia can trigger mechanisms driving to early onset

of hypertension and cardiovascular disease, importantly children with hypertriglyceridemia presented augmented carotid-femoral pulse wave velocity, a marker of arterial stiffness.

Based on the studies conducted by our group and the literature discussed above regarding ACE, we can conclude that enhanced ACE activity and the presence of the 90 kDa N-domain ACE isoform are associated with a higher cardiometabolic risk, serving as a biological marker of hypertension, inflammation, and endothelial dysfunction. Therefore, evaluating these parameters in the population could help identify individuals at higher risk and allow for the implementation of protective measures, such as lifestyle modifications, including avoiding smoking and alcohol consumption, engaging in regular physical activity, and ensuring access to a healthy diet, ultimately preventing hypertension and its related comorbidities.

Acknowledgments

The projects referenced here by Casarini DE's group were funded by various FAPESP grants (current process number 2017/17027-0) and CNPq, as well as by CAPES through post-graduate scholarships.

References

- Oparil S, Zaman MA, Calhoun DA. Pathogenesis of hypertension. *Ann Intern Med.* 2003;139(9):761-76.
- Oparil S, Acelajado MC, Bakris GL, Berlowitz DR, Cífková R, Dominiczak AF, et al. Hypertension. *Nat Ver Dis Primers.* 2018;4:18014.
- Popa IP, Clim A, Pînzariu AC, Lazar CI, Popa Stefan, Tudorancea IM, et al. Arterial hypertension: novel pharmacological targets and future perspectives. *J Clin Med.* 2024;13(19):5927.
- Mancia G, Kreutz R, Brunström M, Burnier M, Grassi G, Januszewicz A, et al., 2023 ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension: endorsed by the International Society of Hypertension (ISH) and the European Renal Association (ERA). *J Hypertens.* 2023;41(12):1874-2071.
- Carey RM, Siragy HM. Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation. *Endocr Rev.* 2003;24(3):261-71.
- Zhuo JL. Augmented intratubular renin and prorenin expression in the medullary collecting ducts of the kidney as a novel mechanism of angiotensin II-induced hypertension. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2011;301(6):F1193-4.
- Skeggs LT, Dorer FE, Levine M, Lentz KE, Kahn JR. The biochemistry of the renin-angiotensin system. *Adv Exp Med Biol.* 1980;130:1-27.
- Tamura K, Umemura S, Fukamizu A, Ishii M, Murakami K. Recent advances in the study of renin and angiotensinogen genes: from molecules to the whole body. *Hypertens Res.* 1995;18(1):7-18.
- Leite AP de O, Li XC, Nwia SM, Hassan R, Zhuo JL. Angiotensin II and AT1a receptors in the proximal tubules of the kidney: new roles in blood pressure control and hypertension. *Int J Mol Sci.* 2022;23(5):2402.
- Singh KD, Karnik SS. Angiotensin receptors: structure, function, signaling and clinical applications. *J Cell Signal (Los Angel).* 2016;1(2):111.

11. Casas JP, Chua W, Loukogeorgakis S, Vallance P, Smeeth L, Hingorani AD, et al. Effect of inhibitors of the renin-angiotensin system and other antihypertensive drugs on renal outcomes: systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2005;366(9502):2026-33.
12. Santos RAS, Sampaio WO, Alzamora AC, Motta-Santos D, ALENINA N, Bader M, et al. The ACE2/Angiotensin-(1-7)/MAS axis of the renin-angiotensin system: focus on angiotensin-(1-7). *Physiol Rev*. 2018;98(1):505-3.
13. Vickers C, Hales P, Kaushik V, Dick L, Gavin J, Tang J, et al. Hydrolysis of biological peptides by human angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase. *J Biol Chem*. 2002;277(17):14838-43.
14. Oliveira LCG, Cruz NAN, Ricelli B, Tedesco-Silva H, Medina-Pestana JO, Casarini DE. Interactions amongst inflammation, renin-angiotensin-aldosterone, and kallikrein-kinin systems: suggestive approaches for COVID-19 therapy. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*. 2021;27:e20200181.
15. Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, et al. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ Res*. 2000;87(5):E1-9.
16. Danilczyk U, Eriksson U, Crackower MA, Penninger JM. A story of two ACEs. *J Mol Med (Berl)*. 2003;81(4):227-34.
17. Erdös EG. Angiotensin I converting enzyme and the changes in our concepts through the years. Lewis K. Dahl memorial lecture. *Hypertension*. 1990;16(4):363-70.
18. Ehlers MR, Chen YN, Riordan JF. Spontaneous solubilization of membrane-bound human testis angiotensin-converting enzyme expressed in Chinese hamster ovary cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88(3):1009-13.
19. Ehlers MRW, Gordon K, Schwager SLU, Sturrock ED. Shedding the load of hypertension: the proteolytic processing of angiotensin-converting enzyme. *S Afr Med J*. 2012;102(6):461-4.
20. Soubrier F, Alhenc-Gelas F, Hubert C, Allegrini J, John M, Tregear G, et al. Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1988;85(24):9386-90.
21. Lattion AL, Soubrier F, Allegrini J, Hubert C, Corvol P, Alhenc-Gelas F. The testicular transcript of the angiotensin I-converting enzyme encodes for the ancestral, non-duplicated form of the enzyme. *FEBS Lett*. 1989;252(1-2):99-104.
22. Jaspard E, Wei L, Alhenc-Gelas F. Differences in the properties and enzymatic specificities of the two active sites of angiotensin I-converting enzyme (kininase II). Studies with bradykinin and other natural peptides. *J Biol Chem*. 1993;268(13):9496-503.
23. Hooper NM. Angiotensin-converting enzyme: implications from molecular biology for its physiological functions. *Int J Biochem*. 1991;23(7-8):641-7.
24. Wei L, Alhenc-Gelas F, Soubrier F, Michaud A, Corvol P, Clauser E. Expression and characterization of recombinant human angiotensin I-converting enzyme. Evidence for a C-terminal transmembrane anchor and for proteolytic processing of the secreted recombinant and plasma enzymes. *J Biol Chem*. 1991;266(9):5540-6.
25. Corvol P, Michaud A, Soubrier F, Williams TA. Recent advances in knowledge of the structure and function of the angiotensin I converting enzyme. *J Hypertens Suppl*. 1995;13(3):S3-S10.
26. Deddish PA, Marcic B, Jackman HL, Wang HZ, Skidgel RA, Erdös EG. N-domain-specific substrate and C-domain inhibitors of angiotensin-converting enzyme: angiotensin-(1-7) and keto-ACE. *Hypertension*. 1998;31(4):912-7.
27. Deddish PA, Wang J, Michel B, Morris PW, Davidson NO, Skidgel RA, et al. Naturally occurring active N-domain of human angiotensin I-converting enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91(16):7807-11.
28. Rousseau A, Michaud A, Chauvet MT, Lenfant M, Corvol P. The hemoregulatory peptide N-acetyl-Ser-Asp-Lys-Pro is a natural and specific substrate of the N-terminal active site of the human angiotensin-converting enzyme. *J Biol Chem*. 1995;270(8):3656-61.
29. Ward PE, Gedney CD, Dowben RM, Erdös EG. Isolation of membrane-bound renal kallikrein and kininase. *Biochem J*. 1975;151(3):755-8.
30. Casarini DE, Boim MA, Stella RC, Krieger-Azzolini MH, Krieger JE, Schor N. Angiotensin I-converting enzyme activity in tubular fluid along the rat nephron. *Am J Physiol*. 1997;272(3 Pt 2):F405-9.
31. Camargo de Andrade MC, Di Marco GS, de Paulo Castro Teixeira V, Mortara RA, Sabatini RA, Pesquero JB, et al. Expression and localization of N-domain ANG I-converting enzymes in mesangial cells in culture from spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2006;290(2):F364-75.
32. Bruneval P, Hinglais N, Alhenc-Gelas F, Tricottet V, Corvol P, Menard J, et al. Angiotensin I converting enzyme in the human intestine and kidney. Ultrastructural immunohistochemical localization. *Histochemistry*. 1986;85(1):73-80.
33. Friedland J, Silverstein E. A sensitive fluorimetric assay for serum angiotensin-converting enzyme. *Am J Clin Pathol*. 1976;66(2):416-24.
34. Beldent V, Michaud A, Bonnefoy C, Chauvet MT, Corvol P. Cell surface localization of proteolysis of human endothelial angiotensin I-converting enzyme. Effect of the amino-terminal domain in the solubilization process. *J Biol Chem*. 1995;270(48):28962-9.
35. Oppong SY, Hooper NM. Characterization of a secretase activity which releases angiotensin-converting enzyme from the membrane. *Biochem J*. 1993;292:597-603.
36. Aragão DS, de Andrade MCC, Ebihara F, Watanabe IKM, Magalhães DCBP, Juliano MA, et al. Serine proteases as candidates for proteolytic processing of angiotensin-I converting enzyme. *Int J Biol Macromol*. 2015;72:673-9.
37. Casarini DE, Carmona AK, Plavnik FL, Zanella MT, Juliano L, Ribeiro AB. Calcium channel blockers as inhibitors of angiotensin I-converting enzyme. *Hypertension*. 1995;26(6):1145-8.
38. Casarini DE, Plavnik FL, Zanella MT, Marson O, Krieger JE, Hirata IY, et al. Angiotensin-converting enzymes from human urine of mild hypertensive untreated patients resemble the N-terminal fragment of human angiotensin I-converting enzyme. *Int J Biochem Cell Biol*. 2001;33(1):75-85.
39. Casarini DE, Alves KB, Araújo MS, Stella RC. Endopeptidase and carboxypeptidase activities in human urine which hydrolyze bradykinin. *Braz J Med Biol Res*. 1992;25(3):219-29.
40. Ronchi FA, Andrade MCC, Carmona AK, Krieger JE, Casarini DE. N-domain angiotensin-converting enzyme isoform expression in tissues of Wistar and spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens*. 2005;23(10):1869-78.
41. Marques GDM, Quinto BMR, Plavnik FL, Krieger JE, Marson O, Casarini DE. N-domain angiotensin I-converting enzyme with 80 kDa as a possible genetic marker of hypertension. *Hypertension*. 2003;42(4):693-701.
42. Campbell DJ. Extrarenal renin and blood pressure regulation. An alternative viewpoint. *Am J Hypertens*. 1989;2(4):266-75.

43. Ryan JW, Oza NB, Martin LC, Pena GA. Components of the kallikrein-kinin system in urine. *Adv Exp Med Biol.* 1979;120A:313-23.
44. Kokubu T, Kato I, Nishimura K, Hiwada K, Ueda E. Angiotensin I-converting enzyme in human urine. *Clin Chim Acta.* de 1978;89(3):375-9.
45. Maluf-Meiken LCV, Fernandes FB, Aragão DS, Ronchi FA, Andrade MCC, Franco MC, et al. N-domain isoform of Angiotensin I converting enzyme as a marker of hypertension: populational study. *Int J Hypertens.* 2012;2012:581780.
46. Fernandes FB, Plavnik FL, Teixeira AM, Christofalo DM, Ajzen SA, Higa EM, et al. Association of urinary N-domain Angiotensin I-converting enzyme with plasma inflammatory markers and endothelial function. *Mol Med.* 2008;14(7-8):429-35.
47. Febba A, Sesso R, Barreto GP, Liboni CS, Franco MCP, Casarini DE. Stunting growth: association of the blood pressure levels and ACE activity in early childhood. *Pediatr Nephrol.* 2009;24(2):379-86.
48. Cruz NAN, de Oliveira LCG, Fernandes FB, Zaniqueli DDA, Oliosia PR, Mill JG, et al. Pediatric dyslipidemia is associated with increased urinary ACE activity, blood pressure values, and carotid-femoral pulse wave velocity. *Hypertens Res.* 2023;46(6):1558-69.



Hipertensão. Sociedade Brasileira de Hipertensão- ISSN: 1809-4260 – under a license Creative Commons - Version 4.0