

# ANÁLISE DO POLIMORFISMO I/D DO GENE DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA I (ECA) EM UMA POPULAÇÃO IDOSA DE MAUÉS, AM, E SUA RELAÇÃO COM A LONGEVIDADE

Paola Carra Fortuna<sup>1</sup>  
Eduardo Ottobeli Chielle<sup>2</sup>

## RESUMO

O envelhecimento é um processo natural, inevitável e gradual, no qual a contribuição da genética é fundamental para a sua modulação, bem como para garantir a longevidade. Na busca por compreender o papel dos fatores que proporcionam esse fenótipo, o polimorfismo inserção/deleção do gene que codifica a Enzima Conversora de Angiotensina I (ECA) tem sido foco de pesquisas. Neste trabalho teve-se como objetivo analisar o polimorfismo I/D do gene ECA em uma população idosa no Município de Maués, AM. Avaliou-se a prevalência alélica desse polimorfismo na amostra, a fim de relacioná-lo com a predisposição para a longevidade. Tratou-se de um estudo transversal, envolvendo 605 indivíduos com idades entre 60 e 98 anos, de ambos os sexos, caracterizados de acordo com o gênero e a idade como “idoso jovem” ou “idoso longevo”. A técnica de PCR foi utilizada para obtenção dos genótipos a partir de amostras de sangue periférico. Os resultados obtidos mostraram que, na amostra total, o alelo I foi o mais frequente, com 50,8%. A idade e o gênero dos participantes do estudo não influenciaram nas variações das frequências alélicas e genotípicas desse gene, não sendo observada diferença estatisticamente significativa nas comparações entre os grupos ( $p < 0,05$ ). Portanto, não foi verificada nenhuma associação entre o polimorfismo I/D do gene ECA e longevidade na amostra avaliada. Porém, é válida a continuação de pesquisas com indivíduos centenários para o melhor entendimento do papel desse gene na longevidade, bem como na busca de biomarcadores de envelhecimento e demais variantes genéticas.

Palavras-chave: Envelhecimento. Longevidade. Genética. Gene ECA. Polimorfismo I/D.

## 1 INTRODUÇÃO

Vários aspectos que ultrapassam os limiares da mera cronologia são determinantes para a entrada na velhice. Com os avanços nos meios de estudo e profundas investigações, desvendou-se que o envelhecimento humano pode ser considerado como um produto da interação entre fatores genéticos, ambientais e estilo de vida (PETROPOULOU et al., 2000), e que a influência do componente genético na longevidade apresenta características de herdabilidade de 20 a 35% (NEWMAN; MURABITO, 2013).

O Brasil vem sofrendo uma transformação demográfica muito importante em razão da rapidez no aumento da população idosa, caracterizando uma modificação na sua pirâmide populacional (SOCIEDADE BRASILEIRA DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA, 1999). A expectativa de vida da população brasileira em 2000 era de 69 anos; em 2012, aumentou para 74,6 e a projeção para 2060 é de 81 anos (IBGE, 2012). Estima-se que, para o ano 2030, o País terá a 6ª população mundial em números absolutos de idosos (IBGE, 2008). Com isso, aliada à motivação humana instintiva de preservar a vida ao máximo quando se pode usufruí-la com qualidade, a população encontra-se em um cenário de envelhecimento populacional e aumento da expectativa de vida. Assim, fez-se necessário estudar os fatores que interferem ou que promovem a longevidade como, por exemplo, os aprimoramentos da medicina moderna, estilo de vida e, principalmente, os fatores genéticos (PATRÍCIO et al., 2008).

<sup>1</sup> Graduada em Biomedicina pela Universidade do Oeste de Santa Catarina de São Miguel d'Oeste; pa\_carra@hotmail.com

<sup>2</sup> Doutor e Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Santa Maria; Professor na Universidade do Oeste de Santa Catarina de São Miguel d'Oeste; eduardochielle@yahoo.com.br

A genética funciona como uma ferramenta importante para a descoberta dos principais acontecimentos moleculares envolvidos com as funções biológicas vitais, gerando teorias que vêm ganhando força para explicar os fenômenos do envelhecimento e longevidade (FONSECA; IZAR, 2004). Um gene que tem recebido atenção em razão do seu possível papel na longevidade é o gene que codifica a Enzima Conversora de Angiotensina I (ECA), localizado no cromossomo 17q23 e composto por 26 éxons e 25 íntrons (CRISAN; CARR, 2000). Essa enzima atua convertendo a Angiotensina I (inativa) em Angiotensina II (ativa), a qual participa do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA), importante sistema que regula o equilíbrio hidroeletrólítico do organismo, bem como o da pressão arterial (RIGAT et al., 1990).

Esse gene é caracterizado por um polimorfismo de inserção ou deleção (I/D) de uma sequência de 287 pb dentro do íntron 16, de que resultam três genótipos: DD, II e ID, dependendo da herança alélica de cada indivíduo (SAMANI et al., 1996). Pesquisas mostram que indivíduos homocigotos para o alelo D apresentam concentração plasmática de ECA cerca de 60% maior do que indivíduos homocigotos para o alelo I (MINUCCI, 2013), pois a deleção da sequência de pares de bases está associada ao aumento da transcrição do mRNA e, conseqüentemente, à maior expressão do gene (FONSECA; IZAR, 2004).

Existe um paradoxo sobre os impactos desse polimorfismo no organismo, uma vez que vários estudos suportam uma associação positiva do alelo D com a predisposição a doenças cardiovasculares, como o infarto agudo do miocárdio, relacionando-o com maior risco de incidência (MARTÍNEZ-QUINTANA et al., 2014), enquanto outros estudos relatam a prevalência desse mesmo alelo em grupos de centenários e nonagenários (FIUZA-LUCES et al., 2011).

A análise das frequências alélicas e genotípicas do gene ECA na população de Maués, AM, conhecida no Brasil como A Terra da Longevidade, foi motivada pelo fato de que ainda não há estudos na literatura que tenham analisado o polimorfismo do gene ECA relacionando-o à longevidade nessa população. Considerando que essa é uma região que possui alto índice de longevos, torna-se muito propícia para estudos sobre a longevidade (CRUZ et al., 2003). Esta cidade apresenta uma população de 52.236 mil habitantes, dos quais 1% apresenta 80 anos de idade ou mais, o dobro da média nacional de longevos, que é de 0,5% (MONTE, 2011; FIGUEIRA; CRUZ, 2011).

Assim, neste trabalho teve-se como objetivo analisar o polimorfismo I/D do gene ECA na população de Maués, AM, avaliando-se a prevalência alélica desse polimorfismo na amostra, a fim de relacioná-lo com a predisposição para maior expectativa de vida.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO**

Foram analisados 605 indivíduos de Maués, AM, aparentemente saudáveis, nas faixas etárias entre 60 e 98 anos. De acordo com a idade dos participantes e seguindo a classificação do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a amostra foi dividida em dois grupos: idoso jovem (60 a 79 anos) e idoso longevo ( $\geq 80$  anos). O protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), sob o n. 23081.014840/2010-82.

### **2.2 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS**

#### **2.2.1 Coleta, armazenamento e transporte das amostras**

Tratou-se de um estudo transversal. Uma amostra de sangue foi coletada dos indivíduos voluntários do estudo, por pessoas qualificadas para a função, e enviadas para a Universidade do Oeste de Santa Catarina (Unoesc), sob condições adequadas de transporte desse tipo de material. As amostras foram cedidas pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), por meio de uma parceria firmada entre o laboratório de Biologia Molecular da Unoesc e o laboratório de Biogenômica da UFSM. As amostras foram devidamente identificadas e armazenadas a  $-20$  °C para posteriores análises genéticas.

## 2.2.2 Amplificação do fragmento gênico

A técnica utilizada para as análises genéticas foi a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), com o uso do Kit *Phusion Blood Direct (PCR)*, que realiza a extração de DNA e a amplificação gênica a partir de uma pequena quantidade de sangue total armazenado a 4 °C ou congelado com EDTA, não sendo necessário realizar processo de extração previamente. A PCR a partir do kit foi desenvolvida no Laboratório de Biologia Molecular da Unoesc, e o ensaio para o polimorfismo do gene da Enzima Conversora de Angiotensina I (ECA) foi realizado em um volume final de 10µL para cada amostra, incluindo 0,2µL DNA polimerase, 3,4µL água esterilizada, 0,8µL DNA da amostra, 5µL de *buffer* e 0,3µL de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) específicos para o gene analisado, sendo eles ECA I/D Forward 5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3'/ ECA I/D Reverse 5'-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T-3' (JOUNG et al., 2006).

A amplificação da região de interesse incluiu 35 ciclos de temperaturas, sendo 98 °C por 5 segundos para a desnaturação do DNA, 58 °C por 40 segundos para anelamento dos *primers*, e 72 °C por 20 segundos para a extensão da nova fita de DNA. Além disso, as amostras foram submetidas, inicialmente, a um único passo de desnaturação de 98 °C por cinco minutos, para garantir que todo o DNA seja desnaturado antes de se iniciar os ciclos, e uma temperatura final de 72 °C por um minuto para garantir a extensão das novas fitas.

Os fragmentos obtidos a partir da hibridização dos *primers* na região do polimorfismo I/D no íntron 16 do gene ECA foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio, submetido a 140V por 15 minutos. Em seguida, a visualização de bandas de DNA foi possível expondo o gel de agarose à luz UV, no transluminador. Os tamanhos dos produtos de amplificação foram comparados com padrões específicos estabelecidos na literatura para o polimorfismo I/D do gene ECA, resultando em duas bandas: 490 e 190 pb, no caso do alelo I e D, respectivamente (MINUCCI, 2013).

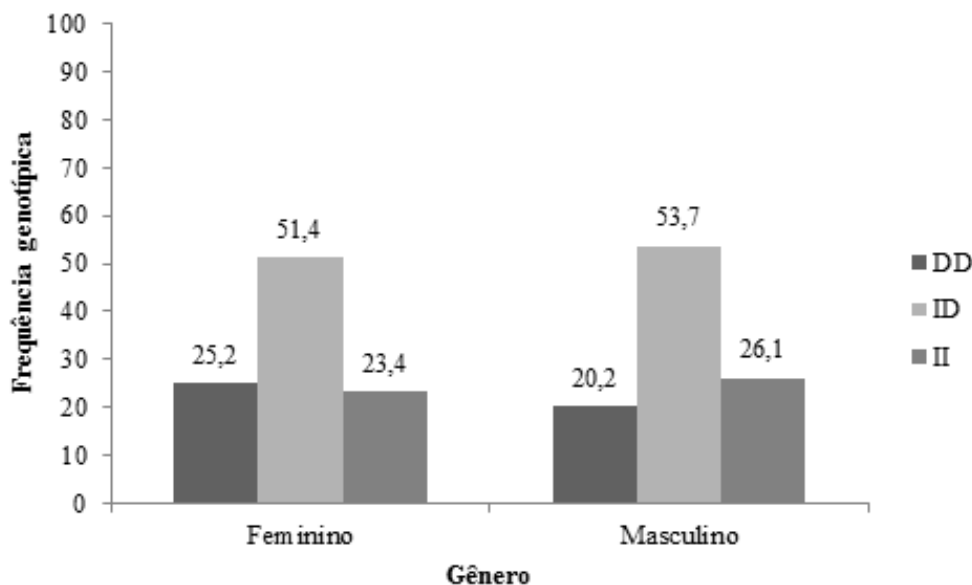
## 2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As frequências alélicas e genotípicas da população foram calculadas e expressas em porcentagem. Os dados foram analisados por meio do Teste  $\chi^2$  (Chi-square) e do Teste de Fischer, utilizando o programa SPSS 13.0, considerando-se significativos os valores de  $p < 0,05$ . A amostra foi avaliada para saber se as frequências estão em Equilíbrio de *Hardy-Weinberg*.

## 3 RESULTADOS

As frequências genotípicas do polimorfismo I/D do gene ECA na amostra analisada foram apresentadas nos Gráficos 1 e 2. Como mostra o Gráfico 1, tanto no sexo feminino quanto no sexo masculino ocorreu maior prevalência do genótipo ID. O mesmo foi observado em relação à idade, como mostra o Gráfico 2. O genótipo DD no grupo de idosos longevos foi maior do que no grupo de idosos jovens, com 28,6% e 21,7% respectivamente, e o oposto ocorreu com o genótipo II, com 20,5% e 25,5%, respectivamente. Porém, por meio das análises estatísticas, observou-se que não houve diferença significativa entre a distribuição genotípica do gene ECA quando comparado ao gênero ( $p = 0,49$ ) e à idade ( $p = 0,24$ ).

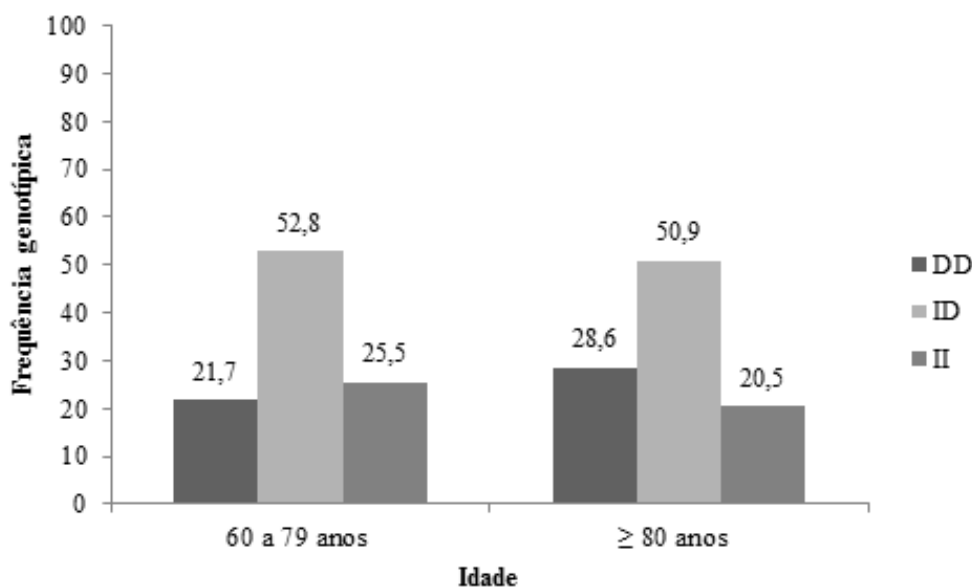
Gráfico 1 – Frequência genotípica do polimorfismo I/D do gene ECA na população de estudo, classificada por gênero



Fonte: os autores.

Nota: Os dados foram expressos em porcentagem. Valor -p = 0,49.

Gráfico 2 – Frequência genotípica do polimorfismo I/D do gene ECA na população de estudo, classificada por idade



Fonte: os autores.

Nota: Os dados foram expressos em porcentagem. Valor -p = 0,24.

As frequências alélicas do polimorfismo I/D do gene ECA estão apresentadas na Tabela 1. Na amostra total, observa-se a prevalência do alelo I, com 50,8%. Na análise estatística não foram observadas diferenças significativas entre a distribuição alélica quando comparado ao gênero ( $p = 0,29$ ) e à idade ( $p = 0,12$ ). As distribuições genotípicas e alélicas observadas nessa população encontram-se em equilíbrio de *Hardy-Weinberg* ( $p = 0,23$ ).

Tabela 1 – Frequências alélicas do polimorfismo I/D do gene ECA na população de estudo, classificadas por gênero e idade, e a amostra total

Grupos	N.	Alelos (%)		Valor-p
		D	I	
Feminino	333	50,9	49,1	0,29
Masculino	272	47,1	52,9	0,29
60 a 79 anos	493	48,1	51,9	0,12
≥ 80 anos	112	54	46	0,12
Total	605	49,2	50,8	

Fonte: os autores.

Nota: Os dados foram expressos em número de indivíduos e porcentagem.

## 4 DISCUSSÃO

O envelhecimento é um processo natural e contínuo, que começa no nascimento e se prolonga por todas as fases da vida, apresentando padrões diferentes, os quais são resultados de experiências vividas; também conta com a contribuição da genética, que é fundamental para a sua modulação, bem como para garantir a longevidade (FARINATTI, 2002). Perls e Terry (2003) observaram que os filhos dos centenários tinham riscos reduzidos para as doenças associadas com a idade, como o infarto, a hipertensão e a diabetes. Além disso, perceberam que eles apresentavam um processo de envelhecimento mais lento, e que as doenças, quando se manifestavam, ocorriam em idade bem avançada. Esses fatos reforçam o papel da genética e da contribuição da hereditariedade como fatores que contribuem para a longevidade.

O gene ECA é um dos candidatos biologicamente plausíveis para a longevidade. Em 1994, Schächter et al. (1994) realizaram a primeira tentativa de se entender a relação desse gene com a longevidade. Investigaram o polimorfismo I/D em 338 centenários e relataram um significativo aumento do genótipo DD nesses indivíduos em comparação com o grupo controle. Em outro estudo, realizado na China em um grupo de Uighur, apontou-se uma associação positiva entre o polimorfismo I/D do gene ECA e a longevidade (RAHMUTULA et al., 2002). Porém, no presente estudo, não foi possível a associação com a longevidade, bem como também o gênero não apresentou influência, pois não foi encontrada diferença estatística significativa nas frequências genotípicas ou alélicas entre os grupos de idade e gênero. Blanché et al. (2001) realizaram um estudo com centenários franceses e também não puderam afirmar uma relação entre o polimorfismo do gene ECA e a longevidade.

Na amostra total deste estudo, observou-se a prevalência do alelo I, com 50,8%, a qual se tratava inteiramente de idosos. Segundo Montgomery et al. (1999), estudos apontam maior sustentação de energia induzida pelo genótipo II do gene ECA, promovendo no organismo uma eficiência metabólica otimizada na função contrátil do músculo esquelético pela maximização do uso dos AG livres, sendo essa uma particularidade positiva desse alelo.

Cruz et al. (2003) analisaram o polimorfismo do gene ECA em duas populações étnicas, ambas viventes no Estado do Rio Grande do Sul, uma, proveniente de diferentes países europeus, e outra, originária do Japão. As frequências genotípicas e alélicas diferiram entre as duas populações, com o alelo D sendo o mais frequente na população gaúcha do que na originária do Japão. Além disso, houve associação entre o alelo D e a longevidade apenas na população gaúcha. Já Kolovou et al. (2014) relataram o alelo I como o mais frequente nos centenários caucasianos ao comparar-se aos nonagenários e ao grupo controle do seu estudo. Esses fatos apontam que há uma influência nas diferenças étnicas e a região geográfica, que pode modificar as expressões do polimorfismo I/D, em razão de que as frequências dos alelos do gene ECA em cada população analisada apresentaram divergências.

Em britânicos com idades igual ou superior a 84 anos, identificou-se que a associação do polimorfismo I/D do gene ECA e a longevidade só existia nos homens. Esse estudo sugere uma influência do gênero sobre a associação entre o polimorfismo do gene ECA e a longevidade (GALINSKY et al., 1997), porém, no presente estudo, não foi detectada influência do gênero nas frequências dos genótipos do gene ECA.

Petranovic et al. (2011) relataram que o alelo D do gene ECA não apresentou associação com hipertensão em uma população idosa da Croácia, independentemente do conceito conhecido de que esse gene participa da regulação

da pressão arterial e, com isso, gera impacto no desenvolvimento de doenças cardiovasculares. De acordo com essas circunstâncias, o fato de o alelo D desse gene já ter sido relacionado ao aumento do risco de doenças cardiovasculares (MARTÍNEZ-QUINTANA et al., 2014) não descarta a sua possível participação na longevidade ou o torna incapaz para proporcionar tal fenótipo. Na realidade, evidências mostram que o genótipo DD beneficia funções neuroendócrinas e imunomodulatórias, efeitos como reparação de tecidos lesionados, resistência a neoplasias e infecções que podem conferir uma certa vantagem na longevidade (GARATACHEA; MARÍN; LUCIA, 2013).

Enquanto alguns estudos conseguem reportar uma associação positiva entre o polimorfismo I/D do gene ECA e a longevidade, outros parecem não achar relação. O fato é que, considerando toda a complexidade da rede genética do ECA e de outros genes que operam no SRAA, o papel desse polimorfismo e o desenvolvimento de suas consequências podem ser mascarados por interações gene-gene ou gene-ambiente, além de já estar esclarecido que suas frequências alélicas e genotípicas, bem como a sua relação ou não com a longevidade, podem variar entre as diferentes etnias, os fatores ambientais, o gênero e a região geográfica (YANG et al., 2009).

Consoante os estudos de Fridenberg (2002), acredita-se que será possível para as gerações futuras uma expectativa de vida de 90 anos e que 5 a 10% da população conseguirão alcançar essa marca. Portanto, é válido buscar prolongar o tempo de vida, mas que ele seja saudável e ativo, ou seja, não somente acrescentar dias à vida, mas acrescentar vida aos dias. A partir disso, conforme a longevidade vem sendo alcançada pelas pessoas, um novo desafio é lançado, não somente para os indivíduos em si, mas também para a sociedade, envolvendo tanto fatores políticos, econômicos e científicos, a fim de descobrir nesses indivíduos novos potenciais e competências (LEHR, 1999).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que o genótipo com a maior frequência em idosos jovens e longevos de uma população de Maués, AM, foi o ID com 52,8% e 50,9%, respectivamente. A idade e o gênero dos participantes do estudo não influenciaram nas variações das frequências alélicas e genotípicas desse gene, não se observando diferença estatística significativa nas comparações entre os grupos. Dessa forma, não foi verificada nenhuma associação entre o polimorfismo I/D do gene ECA e a longevidade na amostra avaliada.

As diferenças nos resultados dos polimorfismos do gene ECA e sua possível relação com a longevidade podem variar em razão das diferentes regiões geográficas, das diferenças étnicas, dos fatores ambientais e do gênero, como muitos estudos vêm demonstrando. Por isso, faz-se importante a manutenção de futuras pesquisas em centenários para se confirmar a não relação do polimorfismo do gene ECA com a longevidade, bem como na busca de biomarcadores de envelhecimento e variantes genéticas que podem afetar a mortalidade e a longevidade extrema da população humana.

### ***Analysis of angiotensin i converting enzyme (ace) gene i/d polymorphism in an elderly population of Maués, AM, and its relation to longevity***

#### ***Abstract***

*Aging is a natural, inevitable and gradual process, in wich the contribution of genetics is fundamental in its modulation, as well as longevity. In search for understanding the role of factors that provide such phenotype, the Insertion/Deletion polymorphism of the Angiotensin Converting Enzyme (ACE) gene has been the focus of researches. This study aimed to analyze the I/D polymorphism of the ACE gene in an elderly population of Maués, AM. The allelic prevalence of this polymorphism in this sample was evaluated, in order to relate it to the predisposition to longevity. This was a cross-sectional study, involving 605 subjects aged 60-98 years, of both sexes, who were characterized according to gender and age in "young old" and "oldest old". The PCR technique was used to obtain the genotypes from peripheral blood samples. The results showed that in the total sample, the I allele was the most common, with 50,8%. The age and gender of the study participants did not influence the changes in allelic and genotypic frequencies of this gene, so there was no difference statistically obtained in the comparisons between groups ( $p < 0,05$ ). So it was not observed any association between I/D polymorphism of the ACE gene and longevity in the sample investigated. However, the continuation of research in centenarian individuals is valid to better understand the role of this gene in longevity as well as the search for aging biomarkers and other genetic variants.*

*Keywords: Aging. Longevity. Genetics. ACE gene. I/D polymorphism.*

## REFERÊNCIAS

- BLANCHÉ, H. et al. A study of French centenarians: are ACE and APOE associated with longevity? **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, v. 2, i. 324, p. 129-135, 2001.
- CRISAN, D.; CARR, J. Angiotensin I-Converting Enzyme Genotype and Disease Associations. **Journal of Molecular Diagnostics**, v. 2, i. 3, p. 105-115, 2000.
- CRUZ, I. B. et al. Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism in two ethnic groups living in Brazil's southern region: association with age. **Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 9, i. 58, p. 851-856, 2003.
- FARINATTI, P. T. V. Teorias biológicas do envelhecimento: do genético ao estocástico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v. 8, n. 4, 2002.
- FIGUEIRA, G. C.; CRUZ, I. B. M. **Indicadores de saúde em idosos ribeirinhos inseridos na Estratégia de Saúde da Família do Município de Maués-AM**. Universidade Federal de Santa Maria, 2011. Disponível em: <[http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/47317/Poster\\_10150.pdf?sequence=2](http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/47317/Poster_10150.pdf?sequence=2)>. Acesso em: 20 fev. 2016.
- FIUZA-LUCES, C. et al. Is the ACE I/D polymorphism associated with extreme longevity? A study on a Spanish cohort. **Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System**, v. 3, i. 12, p. 202-207, 2011.
- FONSECA, F. A. H.; IZAR, M. C. O. Polimorfismos em genes relacionados ao sistema renina-angiotensina-aldosterona: associação com a doença arterial coronariana e suas características anatômicas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 83, n. 5, p. 371-372, 2004.
- FRIDENBERG, R. Longevity. **Radiology**, v. 223, i. 3, p. 597-601, 2002.
- GALINSKY, D. et al. Analysis of the apo E/apo C-I, angiotensin converting enzyme and methyle-netetrahydrofolate reductase genes as candidates affecting human longevity. **Atherosclerosis**, v. 2, i. 129, p. 177-183, 1997.
- GARATACHEA, N.; MARÍN, P. J.; LUCIA, A. The ACE DD genotype and D-allele are associated with exceptional longevity: a meta-analysis. **Ageing Research Reviews**, v. 12, i. 4, p. 1079-1087, 2013.
- IBGE. **Projeção da População do Brasil população brasileira envelhece em ritmo acelerado**. 2008. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia\\_impressao.php?id\\_noticia=1272](http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_impressao.php?id_noticia=1272)>. Acesso em: 03 fev. 2016.
- IBGE. **Tábuas completas de Mortalidade 2012**. 2012. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/tabuadevida/2012/>>. Acesso em: 20 mar. 2016.
- JOUNG, C. et al. Angiotensin-Converting Enzyme Gene Insertion/Deletion Polymorphism in Korean Patients with Systemic Sclerosis. **Journal of Korean Medical Science**, v. 21, i. 2, p. 329-332, 2006.
- KOLOVOU, G. et al. The Frequency of 4 Common Gene Polymorphisms in Nonagenarians, Centenarians, and Average Life Span Individuals. **Angiology**, v. 65, i. 3, p. 210-215, 2014.
- LEHR, U. A revolução na longevidade: impacto na sociedade, na família e no indivíduo. **Revista de Estudos Interdisciplinares sobre o Envelhecimento**, Porto Alegre, v. 1, p. 7-36, 1999.
- MARTÍNEZ-QUINTANA, E. et al. Prognostic value of ACE I/D, AT1R A1166C, PAI-I 4G/5G and GPIIIa a1/a2 polymorphisms in myocardial infarction. **Cardiology Journal**, v. 21, i. 3, p. 229-237, 2014.
- MINUCCI, A. et al. DNA from buccal swab is suitable for rapid genotyping of angiotensin-converting enzyme insertion/deletion (I/D) polymorphism. **International Journal of Clinical Chemistry**, v. 431, p. 125-130, 2013.
- MONTE, A. P. Maués, terra da longevidade. **Revista Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, 07 fev. 2011. Disponível em: <<http://cienciahoje.uol.com.br/revista-ch/2010/277/maues-terra-da-longevidade>>. Acesso em: 10 mar. 2016.

MONTGOMERY, H. et al. Angiotensin-converting-enzyme gene insertion/deletion polymorphism and response to physical training. **Lancet**, v. 353, i. 9152, p. 541-545, 1999.

NEWMAN, A. B.; MURABITO, J. M. The epidemiology of longevity and exceptional survival. **Epidemiologic Reviews**, v. 35, p. 181-197, 2013.

PATRÍCIO, K. P. et al. O segredo da longevidade segundo as percepções dos próprios longevos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, n. 4, p. 1189-1198, 2008.

PERLS, T.; TERRY, D. Understanding the determinants of exceptional longevity. **Annals of Internal Medicine**, v. 139, i. 5 (Pt 2), p. 445-449, 2003.

PETRANOVIC, Z. et al. Angiotensin-converting enzyme deletion allele is beneficial for the longevity of Europeans. **Age (Dordrecht, Netherlands)**, v. 3, i. 34, p. 583-595, 2011.

PETROPOULOU, C. et al. Aging and longevity: a paradigm of complementation between homeostatic mechanisms and genetic control? **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 3, i. 908, p. 133-142, 2000.

RAHMUTULA, D. et al. Angiotensin-converting enzyme gene and longevity in the Xin Jiang Uighur autonomous region of China: an association study. **The Journals of Gerontology**, v. 1, i. 57, p. 57-60, 2002.

RIGAT, B. et al. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 86, p. 1343-1346, 1990.

SAMANI, N. J. et al. A meta-analysis of the association as the deletion allele of the angiotensin-converting enzyme gene with myocardial infarction. **American Heart Association-Circulation**, v. 94, p. 708-712, 1996.

SCHÄCHTER F. et al. Genetic associations with human longevity at the APOE and ACE loci. **Nature Genetics**, v. 6, i. 1, p. 29-32, 1994.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA. Posicionamento Oficial da Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte e da Sociedade Brasileira de Geriatria e Gerontologia: Atividade Física e Saúde no Idoso. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 5, 1999.

YANG, J. K. et al. Lack of genetic association between the angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and longevity in a Han Chinese population. **Journal of Renin-Angiotensin-Aldosterone System**, v. 10, i. 2, p. 115-118, 2009.