



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN
FACULTAD DE MEDICINA
SOCIEDAD DE BENEFICENCIA ESPAÑOLA, I.A.P.
HOSPITAL ESPAÑOL DE MÉXICO**

**POLIMORFISMOS DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE
ANGIOTENSINA EN RELACION CON LA HIPERTESION EN
LA POBLACION MEXICANA**

TESIS DE POSTGRADO

**QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD EN:
CARDIOLOGIA**

PRESENTA:

DR. LUIS ALBERTO PEREDA LOPEZ

ASESOR:

DR. JOSE BENITO ALVAREZ MOSQUEA
JEFE DEL SERVICIO DE ELECTROFISIOLOGIA
HOSPITAL ESPAÑOL DE MÉXICO



HOSPITAL ESPAÑOL

MÉXICO, D. F.

2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DR. ALFREDO SIERRA UNZUETA
JEFE DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
HOSPITAL ESPAÑOL DE MÉXICO

DR. JOSÉ MANUEL PORTOS SILVA
JEFE DEL SERVICIO DE CARDIOLOGÍA
HOSPITAL ESPAÑOL DE MÉXICO

DR. JOSÉ BENITO ÁLVAREZ MOSQUERA
ASESOR DE TESIS
ADSCRITO AL SERVICIO DE CARDIOLOGÍA
HOSPITAL ESPAÑOL DE MÉXICO

DR. FELIPE MASSO ROJAS
ASESOR DE TESIS
JEFE DEL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA DR. IGNACIO CHÁVEZ

AGRADECIMIENTOS

A Dios y la Virgen María por ser el principio y el fin que motivan e inspiran todo mi quehacer en esta vida.

A mis padres, por ser el cimiento de mis sueños y anhelos. Porque con sus desvelos cuidaron de mis noches, y con su ejemplo y paciencia le dieron norte a mi extravío.

A Mariano y María del Mar, por ser ejemplo y guía de mis decisiones, confidentes y cómplices de todo lo vivido y lo callado.

Deseo agradecer además a todos los médicos del Hospital Español, en especial a todos los médicos del servicio de Cardiología, por sus enseñanzas y sus consejos. Han sido un elemento indispensable en mi formación como persona y como médico.

ÍNDICE

RESUMEN	1
MARCO TEÓRICO	4
MATERIALES Y MÉTODOS	17
MÉTODOS DE LABORATORIO	18
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	20
RESULTADOS	21
CONCLUSIONES	25
BIBLIOGRAFÍA	26

RESUMEN

POLIMORFISMOS DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA EN RELACION CON LA HIPERTESION EN LA POBLACION MEXICANA

INTRODUCCION:

La hipertensión esencial es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad cardiovascular.

Esta enfermedad, es más bien un síndrome. Resultado de la interacción de factores genéticos y varios factores ambientales, entre ellos la dieta, la actividad física, y el stress. Cuando nos acercamos a intentar comprender el contexto genético y su papel en el incremento de la presión arterial es poco lo que se encuentra firmemente demostrado.

El sistema Renina - Angiotensina (SRA) juega un papel central en la homeostasis del sodio y el agua, manteniendo el tono vascular, y la estructura de los vasos regulando la presión sanguínea. (3-13)

El gen de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) localizado en el brazo largo del cromosoma 17 (17q23) presenta varios genotipos, relacionados con la presencia o ausencia de una secuencia de 287 pares de bases en el intrón 16. (38).

Se ha observado que el genotipo DD se encuentra relacionado con un incremento en la actividad y la concentración de la ECA (1).

Se ha descrito una mayor incidencia de algunas patologías como infarto agudo del miocardio, enfermedad coronaria, hipertrofia ventricular derecha, nefropatía diabética, crisis hipertensivas, cardiopatía alcohólica en los individuos con el genotipo DD. Aunque existen resultados controvertidos (35-38).

MATERIALES Y METODOS:

La población de estudio consistió en 153 pacientes hipertensos de acuerdo a los criterios de la Organización Mundial de la Salud, que ingresaron a la Unidad de Urgencias y Unidad Coronaria del Instituto Nacional de Cardiología Dr. Ignacio Chávez.

El interrogatorio incluyó los siguientes datos:

1. Nombre 2. Edad 3. Género 4. Diabetes Mellitus 5. Hábito Tabáquico 6. Consumo de alcohol 7. Uso de anticonceptivos orales 8. Semiología detallada de la hipertensión.

La hipertensión arterial se definió como cifras iguales o superiores a 140/90 mm Hg de acuerdo con el JNC VII

METODOS DE LABORATORIO:

Después de haber obtenido el consentimiento informado se obtuvieron 5ml de sangre venosa la cual se colocó en tubos con 0.05 % de heparina. El ADN genómico se obtuvo a partir de leucocitos de sangre periférica mediante un "kit" comercial, el genotipo se determinó mediante una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando los oligonucleótidos descritos por Marre (40-50).

El genotipo DD se corroboró posteriormente con una segunda ronda de PCR con oligonucleótidos que reconocen específicamente la secuencia de inserción (35).

Esta reacción produce 335 pares de bases solo en la presencia del alelo I y no en los homocigotos DD, este procedimiento correctamente identifica el 4 al 5 % de las muestras que fueron mal clasificadas como ID polimorfismo con la inserción.

CONCLUSIONES:

- La distribución de los genotipos II, ID y DD entre un grupo de hipertensos mexicanos es semejante a la de los estudios australiano, chileno y francés.
- El análisis de los diferentes factores de riesgo y su correlación con el genotipo de la ECA no mostró significancia estadística en el grupo de pacientes estudiados, sin embargo, se observó una tendencia en el grupo DD a presentar un mayor número de años de hipertensión y una mayor presión diastólica.

MARCO TEÓRICO

GENÉTICA DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

Estudios epidemiológicos han puesto de manifiesto que alrededor de un 30% de la variación interindividual de la Tensión Arterial (TA) en la población viene determinada genéticamente (67).

Esta influencia importante de la herencia en los niveles de presión arterial viene apoyada por la mayor concordancia de cifras de TA entre gemelos monocigotos que entre los dicigotos (1).

Además, se ha demostrado una agregación familiar de la enfermedad muy significativa y que no es atribuible exclusivamente a factores ambientales compartidos, ya que la concordancia de TA es mayor en los hijos biológicos que en los adoptados (4).

Debido a esta contribución importante de la herencia en los niveles de tensión arterial, un enfoque genético se perfila como el más apropiado para identificar factores primarios de la HTA esencial.

La TA es un rasgo multifactorial, ya que no se segrega en familias con un patrón de tipo mendeliano y además, otros factores, incluidos los ambientales, pueden determinarla de forma significativa (edad, sexo, masa corporal, ingesta de sal, etc.) (3).

La distribución continua, unimodal de la TA apoya la hipótesis de la participación de varios genes en la fisiopatología de la HTA. Cada uno de los genes tendría efectos relativamente pequeños e independientes, aunque aditivos (trastorno poligénico).

En la actualidad no disponemos de la información completa sobre qué genes se encuentran involucrados y la importancia relativa de cada uno en cuanto a sus efectos sobre la TA. Afortunadamente, el conocimiento de la fisiología y de la fisiopatología de los factores que regulan la TA, nos sirve para delimitar algunos loci genéticos candidatos que pueden utilizarse en estudios de ligamiento o de asociación utilizando modelos específicos (33).

Los enfoques para identificar determinantes genéticos de HTA consisten básicamente en estudios de ligamiento en familias o en pares de hermanos afectados y en estudios de asociación. Los estudios de ligamiento en familias han servido para identificar los genes causales de diferentes formas monogénicas de hipertensión.

En los últimos años, se han realizado análisis de ligamiento de algunos genes candidatos en familias con HTA utilizando marcadores informativos y uno de los métodos más utilizados es el estudio de hermanos afectados (38).

En estos análisis se compara la concordancia de alelos entre hermanos afectados por la enfermedad con aquella esperada en caso de segregación independiente entre marcador y fenotipo. Los estudios de asociación asumen que si un alelo en un locus concreto es responsable de una enfermedad, los individuos con la enfermedad deberían poseer dicho alelo con una frecuencia superior a la de los controles. Con este tipo de estudios se han determinado algunos genes del sistema renina angiotensina como candidatos de HTA esencial (64).

La intensa investigación fisiológica realizada en los últimos años ha permitido constatar que el sistema-renina-angiotensina aldosterona juega un papel fundamental en el control de la TA a través de sus efectos en la homeostasis del volumen extracelular y del sodio así como de su capacidad de regular el tono vasomotor. La angiotensina II, además de ser un

vasoconstrictor potente, actúa como moduladora, directa o indirectamente, del crecimiento de la fibra muscular lisa vascular, pudiendo contribuir además a las complicaciones vasculares de la HTA. Por ello, los diferentes componentes de este sistema, como son el angiotensinógeno, la renina, la enzima de conversión de la angiotensina (ECA) y los receptores AT1 de angiotensina II, constituyen genes candidatos de HTA esencial (67).

Gracias al avance de la biología molecular, se han podido clonar y secuenciar los genes de este sistema, así como conocer su estructura y con ello detectar polimorfismos (70).

GEN DE LA ECA COMO CANDIDATO DE HTA

La asociación entre el gen que codifica la ECA y la HTA se demostró por primera vez en ratas espontáneamente hipertensas. El procedimiento se basó en un rastreo aleatorio del genoma de la segunda generación de un cruce controlado entre ratas espontáneamente hipertensas y ratas normotensas Wistar-Kyoto (20).

El rastreo del genoma trata de disecar rasgos cuantitativos, en este caso TA, en loci genéticos discretos, denominados QTL que puedan ser responsables de estos rasgos. Así en el cromosoma 10 existe un gen denominado BP1 que se encuentra en una región que engloba el gen de la ECA y que explica un 20% de la varianza genética de la PA. Posteriormente se demostró que el locus de la ECA cosegregaba con la PA después de una sobrecarga oral de sal (14).

Asimismo, estudios en ratones en los que se inactiva (“knock-outs”) el gen de la ECA demostraron que esta maniobra resulta en una menor TA. No obstante, estudios posteriores han puesto en duda la participación del gen de la ECA en modelos experimentales de HTA. Así, a pesar de que los

niveles plasmáticos de ECA son menores en todos los ratones con el gen de la ECA inactivado, únicamente los machos y no las hembras presentaban una menor PA, lo que sugería una disociación entre niveles de ECA y TA. Esta disociación se ve apoyada por estudios que muestran que los niveles de ECA circulante son mayores en ratas normotensas que en las hipertensas y de que no hay diferencias en los niveles tisulares de ECA entre las diferentes cepas (31).

Además, estudios de la secuencia de ADN complementario del gen de la ECA así como estudios bioquímicos de la cinética enzimática han demostrado que no existen diferencias a este respecto entre ratas hipertensas y ratas normotensas. Mediante cruzamientos más selectivos entre ratas híper y normotensas se pudo demostrar que si bien la actividad plasmática de la ECA se podía explicar enteramente por los efectos del locus de la ECA, ni los niveles plasmáticos de ECA ni el locus de la ECA cosegregaban con la TA antes o después de sobrecarga oral de Cloruro de sodio (32).

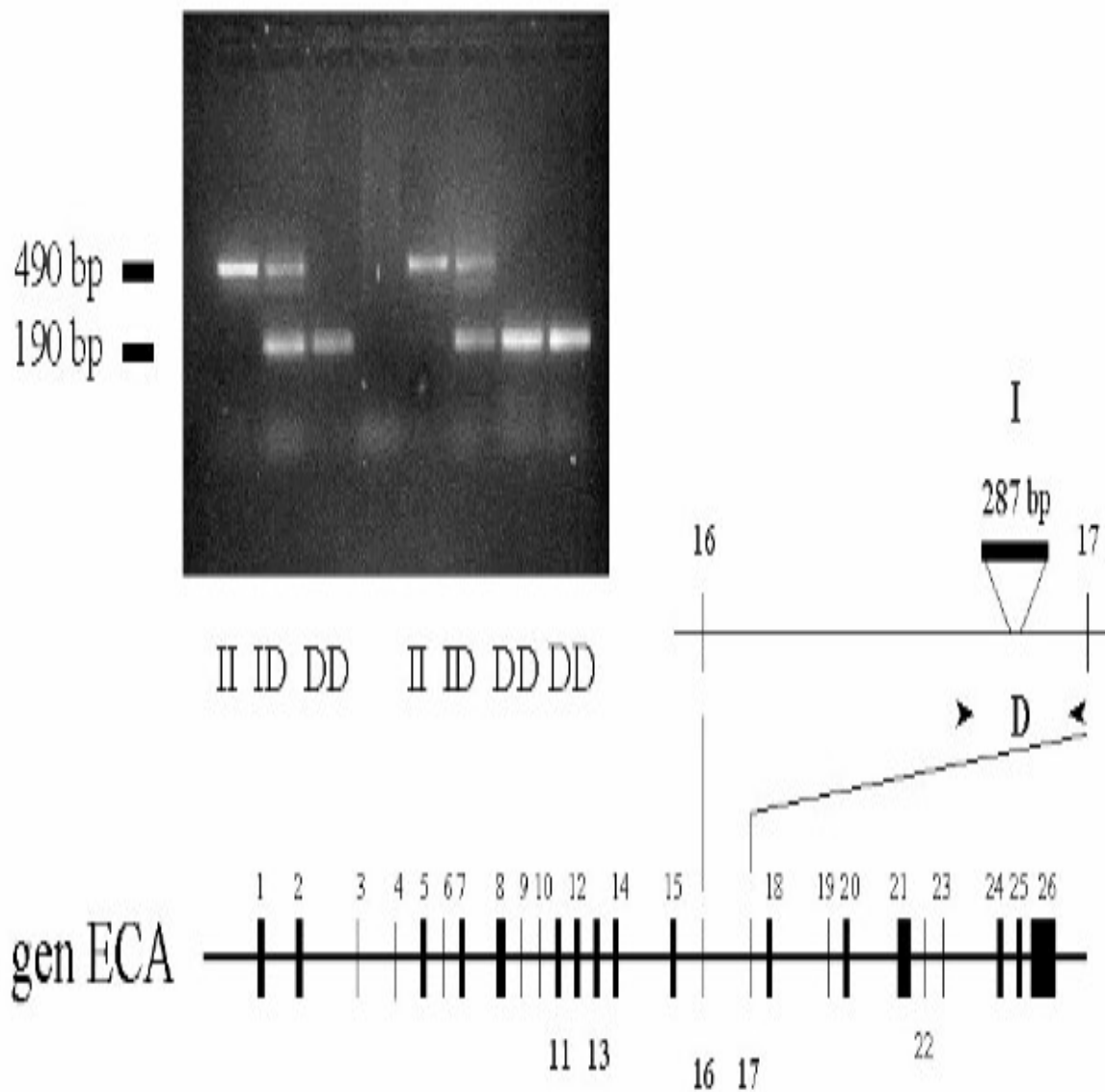
POLIMORFISMO I/D DEL GEN DE LA ECA EN LA HIPERTENSIÓN

El gen de la ECA humano se encuentra localizado en el cromosoma 17q23. En 1990, Rigat y colaboradores describieron un polimorfismo en dicho gen que consistía en la presencia (inserción, I) o ausencia (delección, D) de un fragmento de 287 pares de bases en el intrón 16 del gen de la ECA, con la particularidad de que dicho polimorfismo explicaba un 47% de la variabilidad fenotípica de ECA plasmática (50).

Concretamente, se observó que el alelo D se asociaba a unos niveles plasmáticos de ECA aumentados. Posteriormente se describió un método sencillo de detección del polimorfismo mediante amplificación de ADN genómico por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con cebadores específicos.

Estudios en familias han demostrado que el polimorfismo I/D es en realidad un marcador genético que se encuentra fuertemente ligado a una variante funcional (ECA S/s) cuya identidad molecular se desconoce (1).

Los niveles plasmáticos de ECA tienen una variabilidad intraindividual muy baja que contrasta con una interindividual elevada. Además, se ha demostrado que presentan una concordancia intra familiar importante y que están determinados genéticamente (3).



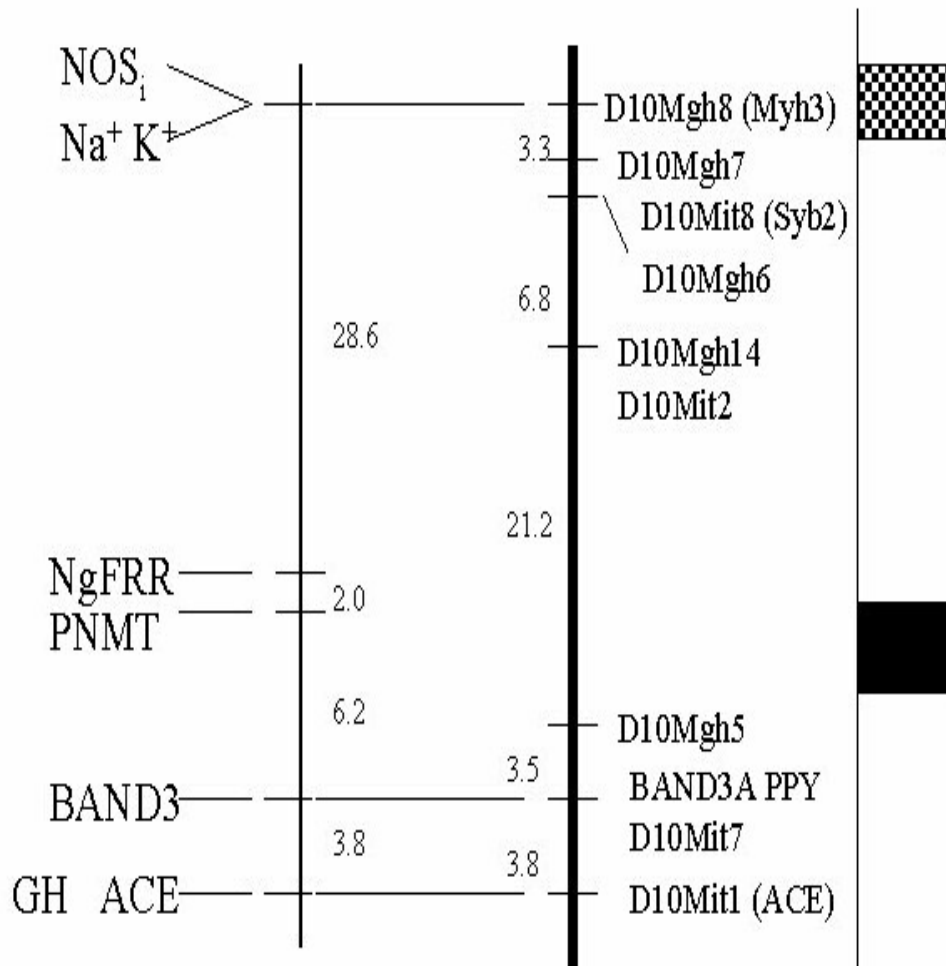


Figura 1. Esquema de la estructura del gen ECA y determinación del polimorfismo I/D.

En la parte superior se representa la estructura del gen de la ECA. Los 26 exones están representados por barras verticales. La parte central de la figura es una ampliación del intrón 16, donde se encuentra localizado el polimorfismo, con la inserción del fragmento Alu de 287 pares de bases (bp). Las puntas de flecha indican la posición aproximada del par de cebadores para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En la parte inferior de la figura se representa un gel de agarosa en el que se resuelven los productos de la PCR, con los diferentes genotipos en la parte superior del gel y el tamaño molecular indicado en la parte izquierda del gel.

A pesar de la relación entre polimorfismo I/D y niveles plasmáticos de ECA en humanos, no existe ligamiento entre el gen de la ECA e HTA en hermanos afectados por esta enfermedad procedentes EEUU. Entre los estudios de asociación caso-control, un estudio inicial realizado en Australia en 80 pacientes demostró asociación entre el alelo I e HTA.

No obstante, la mayoría de estudios realizados con posterioridad han resultado negativos, aunque se trata de estudios de asociación caso-control realizados con muestras relativamente pequeñas (52).

Además, la negatividad de estos estudios no descarta que el gen de la ECA pueda tener efectos muy pequeños sobre la TA que no hayan sido detectados debido a falta de potencia de las pruebas estadísticas utilizadas (24).

Hay que tener en cuenta que la clasificación entre hipertensos y normotensos, es decir, considerando la presión arterial como variable dicotómica, puede ser arbitraria. Una evidencia más concluyente proviene de un estudio poblacional realizado en Finlandia con más de 500 sujetos, que demuestra ausencia de asociación entre el polimorfismo I/D de la ECA y TA, tomada ésta como variable continua (48).

Por el contrario, en estudios poblacionales más recientes, realizados con más de 1000 sujetos se ha demostrado asociación y ligamiento del gen de la ECA con HTA esencial únicamente en la población masculina. Así, en un estudio sobre más de 3000 participantes del estudio de Framingham, en Estados Unidos, se demuestra que el genotipo DD se asocia a hipertensión arterial sólo en hombres, con un riesgo relativo de 1,59 después de ajustar por índice de masa corporal, diabetes, tabaquismo, ingesta de etanol y la presencia de cardiopatía isquémica (43).

Esta relación era significativa sobre todo siguiendo un modelo de herencia recesivo o aditivo. Tomando la TA como variable continua, la TA diastólica fue significativamente más elevada en los sujetos varones DD (81,6 mmHg) que en los DI (80,9 mmHg) o los II (79,6 mmHg).

Además, utilizando el modelo de hermanos afectados se demostró ligamiento entre la TA diastólica y el polimorfismo I/D de la ECA en varones y no en mujeres o en la muestra considerada globalmente. Esto viene a reforzar hallazgos previos de asociación entre actividad plasmática de la ECA y presión arterial en varones pero no en mujeres y con los modelos experimentales citados más arriba (3-10).

Además, estos resultados han sido corroborados en otro estudio poblacional realizado en otra región de Estados Unidos, con 1488 pares de hermanos que demuestra que algunos microsatélites en ligamiento completo con el gen de la ECA explican un 29,1% de la variación interindividual de la TA diastólica y un 32,7% de la variación de TA media cuando se consideraban sujetos con antecedentes familiares de HTA, situación que fortalece el posible efecto del gen del ECA sobre la TA (58).

Cuando se consideraron únicamente a los sujetos varones, algunas variantes cercanas al gen de la ECA explicaron un 37,5% de la varianza de la TA sistólica, un 38,4% de la TA diastólica y 53,5% de la TA media.

Se ha considerado que la reproducibilidad de estas asociaciones en poblaciones de etnias diferentes es importante para poder sacar conclusiones, aunque también hay que tener en cuenta que diferentes resultados en diferentes etnias pueden deberse a diferencias en la distribución de genotipos en las poblaciones control. Así, aunque estudios en poblaciones de origen asiático han resultado negativos, se ha hallado una asociación entre el alelo D e HTA en una muestra de origen afro-caribeña (1).

Por otra parte, los estudios de asociación son muy sensibles al tamaño de la muestra y a la elección de un grupo control adecuado. Así, la frecuencia del genotipo DD en controles en los diferentes estudios publicados varía del 17% al 39%, indicando que la selección de los controles no ha sido óptima en todos los estudios. Otro problema que se presenta es el metodológico, ya que si la técnica no se realiza apropiadamente o si no se realiza una amplificación específica para la zona de inserción, pueden existir errores importantes en la genotipificación (25).

Se debe tener en cuenta que es muy probable que el polimorfismo I/D de la ECA, localizado en un intrón del gen, no sea causante de enfermedad en sí misma. Por el contrario, puede existir en desequilibrio de ligamiento bien con una mutación dentro del gen de la ECA que sea patogénicamente relevante, bien con otro gen candidato de HTA que se encuentre cercano. En este caso, el polimorfismo I/D actuaría como mero marcador genético (18).

En individuos no relacionados, este desequilibrio se mantiene sólo si el marcador y la mutación causal están próximos en el cromosoma y depende también de la frecuencia relativa de los alelos. La mezcla de diferentes poblaciones hace que el desequilibrio de ligamiento entre marcadores genéticos y genes causales desaparezca y esto limita la utilidad del marcador genético. Por este motivo, algunos autores estudian poblaciones aisladas en las que es más probable que se mantengan ligados marcador genético y mutación causal.

La posibilidad de que el polimorfismo I/D de la ECA se encuentre ligado a otros genes candidatos es un aspecto importante. El gen de la GH está muy próximo al de la ECA, siendo poco probable la posibilidad de recombinación. En este aspecto, se ha demostrado ligamiento entre variantes del gen de la GH, al igual que en el caso del polimorfismo I/D de la ECA y TA diastólica únicamente en varones de una muestra poblacional amplia (21).

Polimorfismo I/D de la ECA y fenotipos intermedios asociados a hipertensión.

Asociaciones relevantes del gen de la ECA
Hipertensión arterial esencial (sólo en varones)
Fenotipos asociados a HTA: sensibilidad a la sal, signos de lesión endotelial, resistencia a la insulina
Complicaciones de la HTA: HVI, microalbuminuria, nefroangioesclerosis
Cardiopatía isquémica, historia familiar de IAM, reestenosis coronaria, miocardiopatía hipertrófica
Accidente vascular cerebral, estenosis arterias extracraneales
Nefropatía diabética
Progresión de la insuficiencia renal crónica

Tabla 1 muestran algunas asociaciones descritas entre el polimorfismo I/D de la ECA y fenotipos relevantes en patología cardiovascular.

El estudio de la participación de genes candidatos en la génesis de la HTA se ha dificultado, en gran parte, por la heterogeneidad de la población hipertensa. La búsqueda de fenotipos intermedios, con una agregación familiar demostrada, como son el intercambio sodio-litio, la hiperinsulinemia, el índice de masa corporal, la excreción urinaria de kalikreína y la sensibilidad a la sal, y que identifiquen subgrupos específicos de hipertensos tiene como objetivo aumentar el grado de homogeneidad de los grupos a estudiar (5-14-20).

Así por ejemplo el intercambio Na-Li tiene una agregación marcada familiar y parece que está determinado por un solo gen. En cuanto a la sensibilidad a la sal se ha hallado una asociación entre el genotipo II y una mayor respuesta de la TA a la sobrecarga oral de sal. Por otro lado, se ha descrito asociación entre el genotipo DD y resistencia a la insulina (5).

POLIMORFISMO I/D DEL GEN DE LA ECA Y NEFROPATÍA

Un aspecto que ha llamado mucho la atención es el papel del polimorfismo I/D en el desarrollo y progresión de enfermedad renal(17-41).

Para demostrar esta asociación se han utilizado principalmente dos modelos: la nefropatía diabética y la nefropatía por IgA. Un primer estudio de casos y controles demostró asociación entre el genotipo DD y la presencia de retinopatía y nefropatía en pacientes diabéticos (60-69).

No obstante, esta asociación no se ha podido demostrar en la mayoría de estudios posteriores, tanto en diabetes tipo I como en diabetes tipo II a pesar de algunos estudios con resultados positivos en población japonesa(7-44-69).

Como se ha mencionado anteriormente, problemas inherentes a los estudios de asociación (muestra, definición de la enfermedad), pueden ser el motivo de las discrepancias(12).

Estudios de ligamiento en hermanos afectados no encontraron asociación del polimorfismo I/D con diabetes. No obstante, en un reciente meta análisis que incluye 4773 pacientes de 18 estudios se concluye que el alelo D se encuentra significativamente asociado a nefropatía diabética, con un riesgo relativo de 1,32, tanto en la diabetes tipo I como en la tipo II (41).

Por otro lado, estudios recientes han mostrado evidencias de que el alelo D se asocia a la presencia de lesión renal en pacientes hipertensos, tanto en relación con micro-macroalbuminuria, como en el caso de nefroangioesclerosis demostrada histológicamente(60-68).

En cuanto a la progresión de la enfermedad renal en pacientes diabéticos, se ha propuesto el genotipo DD como marcador de riesgo de progresión en algunos pero no todos los estudios (45).

En pacientes con nefropatía por IgA, se ha demostrado que pacientes con el genotipo DD tienen un ritmo de progresión de la insuficiencia renal más rápida que los pacientes con los otros genotipos, este efecto se ha observado en estudios que incluyen diversas patologías renales(39-69).

En pacientes con insuficiencia renal tratados de forma aleatorizada con inhibidor de la ECA o con atenolol, a pesar de que la reducción de la TA con el tratamiento fue similar en los tres genotipos, los pacientes DD presentaron un deterioro más rápido de la función renal independientemente del tratamiento recibido. Los inhibidores de la ECA disminuyen la proteinuria en pacientes con diversas patologías renales (8-37).

En este sentido, dos estudios demuestran que pacientes con el genotipo DD presentan una menor respuesta antiproteinurica a los inhibidores de la ECA que los pacientes con genotipo ID o II (figura 3). Estos resultados se han confirmado en pacientes portadores de injerto renal. Así, se observó que en pacientes trasplantados con alto riesgo de progresión (aclaramiento de creatinina de menos de 50 ml/min o proteinuria \geq 0,5 g/día), el genotipo DD se asociaba a pérdida más precoz del injerto renal (2).

No obstante, sea cual sea el papel del polimorfismo I/D de la ECA en la progresión de la insuficiencia renal, al parecer no es un factor de riesgo per se de padecer insuficiencia renal terminal ya que la distribución de genotipos en pacientes en diálisis no es diferente de la de la población normal, aunque si el genotipo DD ciertamente conlleva un mayor riesgo cardiovascular, podría encontrarse subrepresentado en la población que requiere diálisis (8).

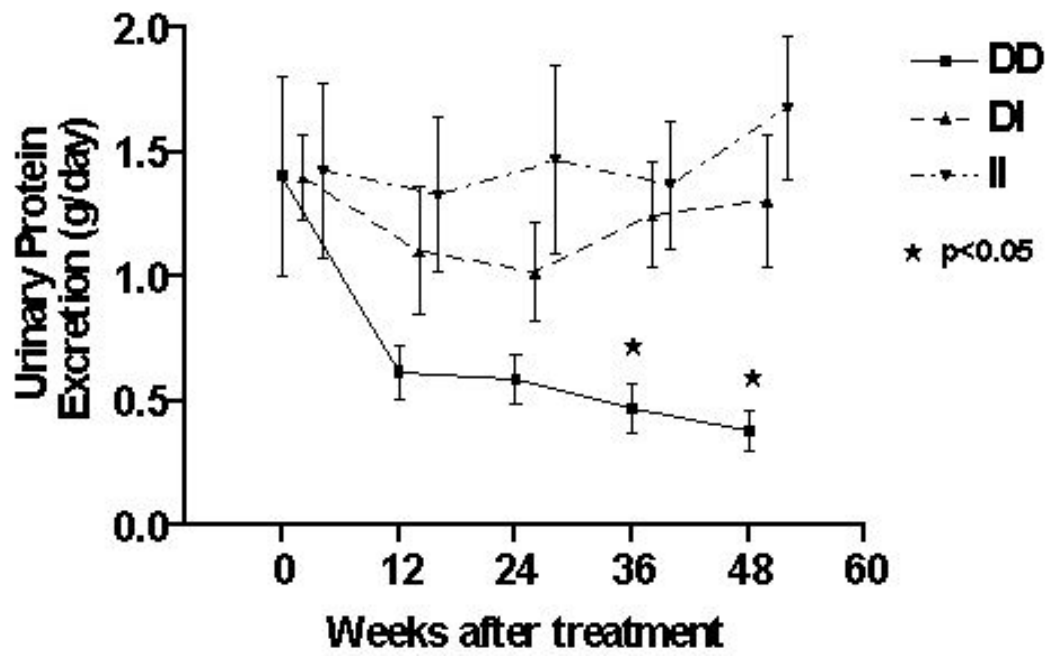


Figura 3. Respuesta antiproteinúrica a los IECA en función del genotipo del polimorfismo I/D de la ECA.

MATERIALES Y MÉTODOS

La población de estudio consistió en 160 pacientes hipertensos los cuales fueron diagnosticados de acuerdo a los criterios de la Organización Mundial de la Salud y Atendidos y Hospitalizados en la Unidad de Urgencias y Unidad Coronaria del Instituto Nacional de Cardiología " Dr. Ignacio Chávez".

La historia familiar positiva fue definida como presencia de hipertensión en 2 generaciones.

En todos los sujetos se realizó un cuestionario recogido por un médico entrenado que incluía:

CRITERIOS DE INCLUSION:

1. Nombre.
2. Edad.
3. Género.
4. Historia familiar de hipertensión
5. Hipertensión.
6. Diabetes mellitus. Hábito tabáquico.
7. Consumo de alcohol.
8. Uso de anticonceptivos orales.
9. Terapia sustitutiva en mujeres.

Se tomaron medidas de la presión arterial con un monitor semiautomático (Omron Hem 705 CP) homologado y validado por la Sociedad Británica de hipertensión Arterial (47).

Se definió la hipertensión Arterial Sistémica como cifras iguales o superiores a 140/90 mm Hg.

El índice de masa corporal (IMC) se calculo como peso /altura al cuadrado, estimándose la obesidad como un índice superior a 26.

Se considero fumador a cualquiera que hubiera consumido tabaco en el último año.

MÉTODOS DE LABORATORIO

Después de obtenido el consentimiento informado se obtuvieron 5ml de sangre venosa la cual se colocó en tubos con heparina.

El ADN geonómico se obtuvo a partir de leucocitos de sangre periférica mediante un procedimiento estándar, empleando reactivos comerciales (DNA Lizard, Promega) el genotipo es analizado a través de una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando los oligonucleótidos descritos por Marre (37).

GIIS (5`CTC-AAG-CAC-GCC-CCT-CAC-AGG-ACT-G-3`).

GAS (5`GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT- 3`).

El protocolo de la PCR fue el siguiente 5 min. a 95° C seguido de 15 ciclos de 95° C durante 1 min.

Para separar la doble cadena de ADN, 1 minuto a 62° C en la fase de anillamiento y 1 min. a 72° C en la fase de extensión, en 50 ul de volumen total empleando una concentración de los oligonucleótidos en cuestión a una concentración de 400 PM, después de 15 ciclos se detiene el programa y se agrega un nuevo oligonucleótido denominado FYM (5`-ATC ACG AGG TCA GGA GAT CGA GAC – 3`) para amplificar las secuencias de inserción junto con el oligonucleótido GIIS y se amplifican otros 15 ciclos siguiendo el mismo protocolo (28-38).

El genotipo DD se corroboró posteriormente con una segunda ronda de PCR con cebadores que reconocen específicamente la secuencia de inserción.

(hace5a, 5´ TGGGACCACAGCGCCCGCCACTAC3´ hace5c, 5´ TCGCCAGCCCTCCCATGCCCATAA 3´) con idénticas condiciones para la PCR con excepto en la temperatura de anillamiento 67oC.

Esta reacción produce un oligonucleótido de 335 pares de bases solo en la presencia del alelo I y no en los homocigotos DD, este procedimiento identifica correctamente el 4 al 5 % de las muestras que fueron mal clasificadas como polimorfismo DD cuando en realidad eran ID, esto es debido a una amplificación preferencial del alelo D en algunos sujetos (3).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 8.0 para Windows para el análisis de los datos.

Se consideraron diferencias estadísticas significativas si la p era menor a 0.05.

Todas las variables continuas se expresan como media +/- desviación estándar.

Se aplicó la prueba de la T de Student para muestras independientes en la comparación de medias entre 2 grupos.

El análisis de la χ^2 para contrastar diferencias en la distribución de genotipos y otros factores de riesgo coronario, incluyendo sexo, Hipertensión Arterial, Diabetes Mellitus, Tabaquismo y consumo de alcohol, así como hábitat y sedentarismo entre los pacientes y el grupo control.

RESULTADOS

Fig 1. Distribucion de los genotipos de la ECA en diversos paises

Región (N)	DD (%)	GENOTIPO		Autor y Referencia
		ID (%)	II (%)	
Japón (76)	18.3	48.9	32.8	Mizuiru et al
Sur de Asia * (442)	18.3	41.8	39.8	Sagnella et al
Chile (117)	18.5	49	32.5	Jalil et al
Australia (51)	22	53	25	Smith et al
México (153)	22.87	51.63	25.49	Pereda et al
Francia (157)	30.6	44	25.4	Marre et al
EE.UU (2340)	30.9	49.2	19.9	Lindpaintner et al
Alemania (234)	33	50	17	Schmidt et al
España (315)	43.5	41.9	14.6	Hernandez et al

* *El Estudio de Sagnella et al incluye diferentes grupos étnicos*

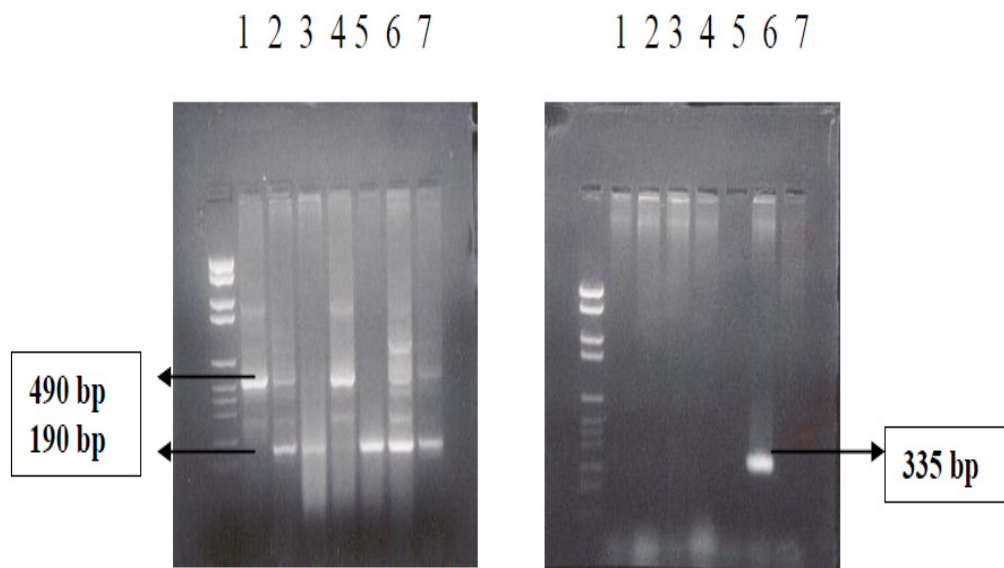
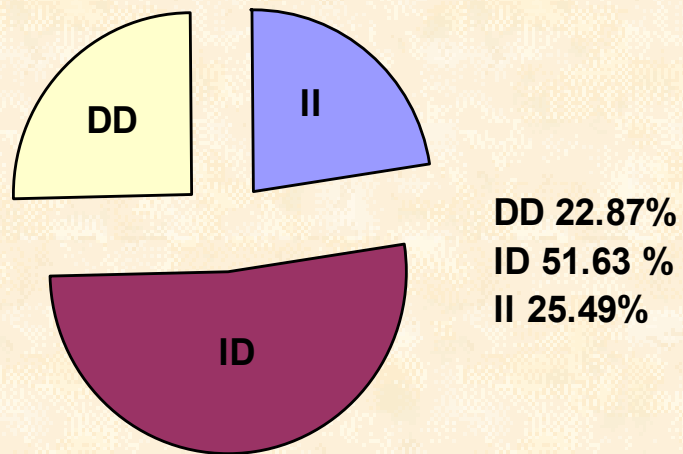
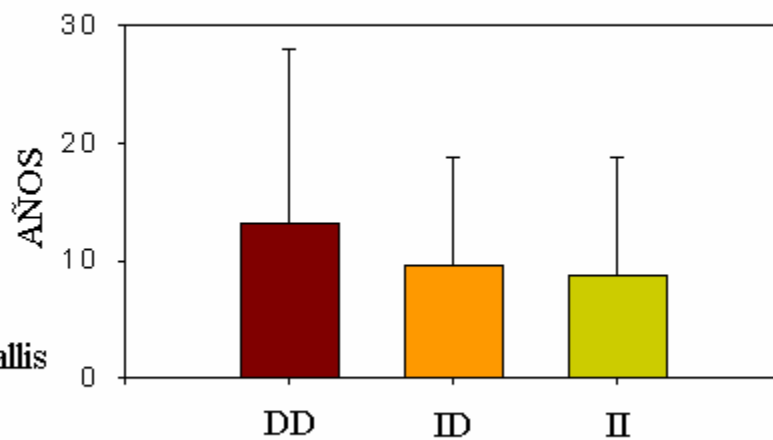


Fig. 2. Visualización de los productos de PCR según el genotipo de los polimorfismos ECA mediante tinción con bromuro de etilio. Los falsos Homocigotos DD se identificaron utilizando cebadores específicos para la inserción (Segundo panel): las muestras ID se encuentran en los carriles 2-6-7, las muestras II se encuentran en los carriles 1-4, dos muestras DD según se determino en la primera ronda de PCR(carriles 3-5), se sometieron a una segunda vuelta de amplificación.

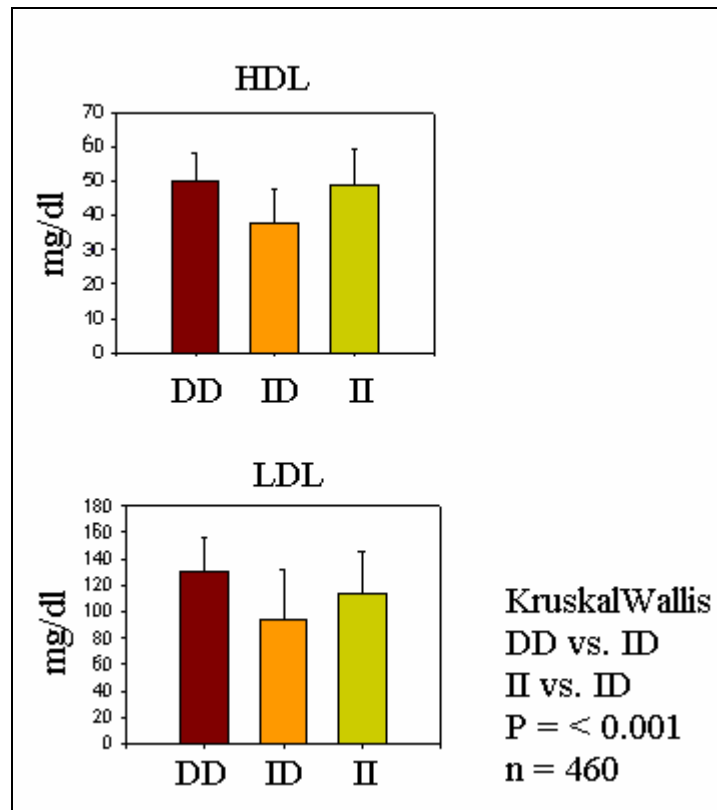
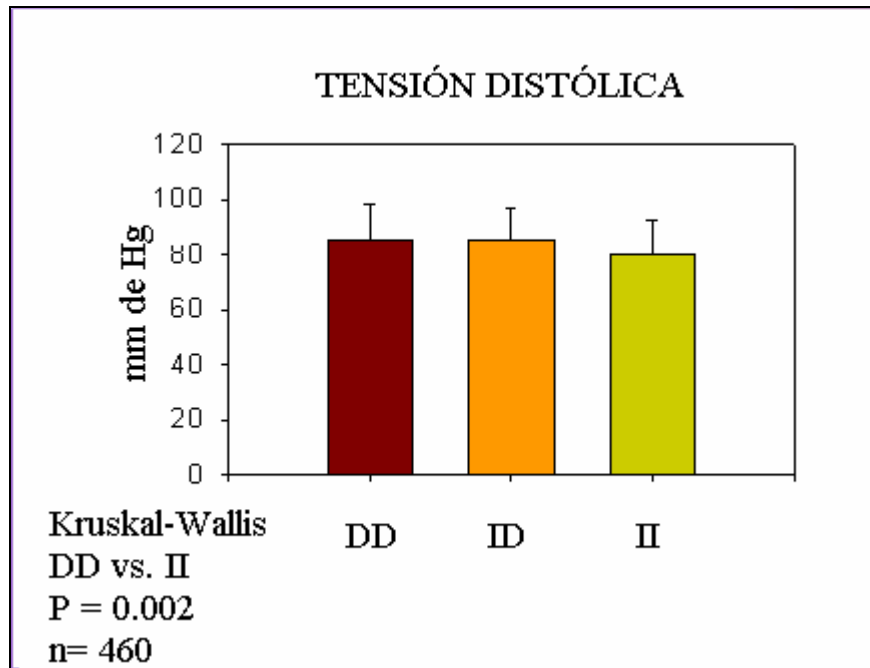
DISTRIBUCION DE LAS ISOFORMAS DE LA ECA EN MEXICO



AÑOS DE HIPERTENSIÓN



Kruskal-Wallis
DD vs. II
P= 0.030
n= 460



CONCLUSIONES

- **La distribución de los genotipos II, ID y DD entre un grupo de hipertensos mexicanos es semejante a la de los estudios australiano, chileno y francés.**
- **El análisis de los diferentes factores de riesgo y su correlación con el genotipo de la ECA no mostró significancia estadística en el grupo de pacientes estudiados, sin embargo, se observó una tendencia en el grupo DD a presentar un mayor número de años de hipertensión y una mayor presión diastólica comparados con los individuos con el haplotipo II.**
- **Cuando se proyectaron estas variables a un número mayor de pacientes, conservando la misma tendencia, los resultados alcanzan valores estadísticos significativos.**
- **De la misma manera los individuos con genotipo ID mostraron medias menores para los valores de HDL y LDL que no alcanzaron valor estadístico significativo hasta que se proyectó aun número de pacientes mayor.**

BIBLIOGRAFÍA

1. **Barley J, Blackwood A, Miller M, et al. Angiotensin converting enzyme gene I/D polymorphism, blood pressure and the renin-angiotensin system in Caucasian and Afro-Caribbean peoples. J Hypertens 1996; 10:31.**
2. **Broekroelofs J, Stegeman CA, Navis G, Tegzess AM, De Zeeuw D, De Jong PE. Risk factors for long-term renal survival after renal transplantation: a role for angiotensin-converting enzyme (insertion/deletion) polymorphism?. J Am Soc Nephrol 1998; 9:2075.**
3. **Busjahn A, Knoblauch H, Knoblauch M, Bohlender J, Menz M, Faulhaber HD et al. Angiotensin- converting enzyme and angiotensinogen gene polymorphisms, plasma levels, cardiac dimensions. A twin study. Hypertension 1997; 29:165-170.**
4. **Cambien F, Ahlenc-Gelas F, Herbeth B, et al. Familial resemblance of plasma angiotensin-converting enzyme level: the Nancy study. Am J Hum Genet 1988; 43:774.**
5. **Deng Y, Rapp JP. Cosegregation of blood pressure with angiotensin converting enzyme and atrial natriuretic peptide receptor genes using Dahl salt-sensitive rats. Nature Genet 1992; 1:267.**
6. **Doi Y, Yoshizumi M, Iino K, et al. Association between a polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene and microvascular complications in Japanese patients with NIDDM. Diabetologia 1996; 39:97.**

7. Doria A, Warram J, Krolewski A et al : Genetic Predisposition to diabetic nephropathy. Evidence for a role of the angiotension 1-converting enzyme gene. *Diabetes*, 1994; 43:690-695.
8. Fernández-Llama P, Poch E, Oriola J, Botey A, Coll E, Darnell A, Rivera F, Revert L. Angiotensin converting enzyme gene I/D polymorphism in essential hypertension and nephroangiosclerosis. *Kidney Int* 1998; 53:1743.
9. Fernández-Llama P, Poch E, Oriola J, Botey A, de la Sierra A, Revert L, Rivera F, Darnell A. Polimorfismos genéticos del sistema renina angiotensina e hipertensión arterial esencial. *Med Clin (Barc)* 1999; 112:561.
10. Fornage M, Amos CI, Kardia S, et al. Variation in the region of the angiotensin-converting enzyme gene influences interindividual differences in blood pressure levels in young white males. *Circulation* 1998; 97:1773.
11. Fujisawa T, Ikegami H, Kawaguchi Y, et al. Meta-analysis of association of insertion/deletion polymorphism of angiotensin I-converting enzyme gene with diabetic nephropathy and retinopathy. *Diabetologia* 1998; 41: 47.
12. Fujisawa T, Ikegami H, Shen G-O, et al. Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism is associated with miocardial infarction, but not with retinopathy or nephropathy, in NIDDM. *Diabetes Care* 1995; 18:983.

13. Fuster V, Lewis A. Conner Memorial Lecture. Mechanisms Leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. *Circulation* 1994;90:2126-2146.
14. Giner V, Poch E, Bragulat E, Oriola J, González D, Coca A, de la Sierra A. Renin-angiotensin system gene polymorphisms and salt sensitivity in essential hypertension. *Hypertension* 2000; 35:512.
15. Hagemann J, Moyer j, Bachnab E et al: Angiotension-converting enzyme and male fertility. *Proc Nat Acad Sci*, 1998; 95: 2552-2557.
16. Harden PN, Geddes C, Rowe PA, et al. Polymorphism in angiotensin-converting enzyme gene and progression of IgA nephropathy. *Lancet* 1995; 345:1540.
17. Henley TE, Julian BA, Phillips JA, et al. Angiotensin converting enzyme gene polymorphisms: Potential silent motif and impact of progression in IgA nephropathy. *Kidney Int.* 1996; 49:571.
18. Hernandez Ortega, Medina Fernandez, J. Rodriguez, Relevancia de los polimorfismos genicos del sistema renina angiotensina en la enfermedad coronaria, *Rev. Esp Cardiol* 2002;55(2): 92-9.
19. Higashimori K, Zhao Y, Higaki J, et al. Association analysis of a polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene with essential hypertension in the Japanese population. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 191:399.
20. Hilbert P, Lindpaintner K, Beckmann JS, et al. Chromosomal mapping of two genetic loci associated with blood pressure regulation in hereditary hypertensive rats. *Nature* 1991; 353:521.

21. Itoh H, Mukoyama M, Pratt RE, Gibbons GH, Dzau VJ. Multiple autocrine growth factors modulate vascular smooth muscle cell growth response to angiotensin II. *J Clin Invest* 1993;91:2268.
22. Iwai N, Ohmichi N, Nakamura Y et al: DD genotype of the angiotensin-converting enzyme is a risk factor for left ventricular Hypertrophy. *Circulation*, 1994;90: 2622-2628
23. Jacob HJ, Lindpaintner K, Lincoln SE, et al. Genetic mapping of a gene causing hypertension in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Cell* 1991; 67:1213,
24. Jalil JE, Piddo AM, Cordova S, Chamorro C, Braun S, Jalil R et al. Prevalence of the angiotensin I converting enzyme insertion-deletion polymorphism, plasma angiotensin converting enzyme activity, and left ventricular mass in a normotensive Chilean population. *Am J Hypertension* 199;12:697-704.
25. Jeunemaitre X, Lifton RP, Hunt SC, Williams RR, Lalouel JM. Absence of linkage between the angiotensin converting enzyme locus and human essential hypertension. *Nature Genet* 1992;1:72.
26. Johnson AG, Simons LA, Friedlander Y, Simons J, Davis DR, Macallum J. I/D polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene does not predict isolated systolic or systolic diastolic hypertension in the elderly. *J Hum Hypertens* 1996;10:171.
27. Kario K, Kanai N, Nishiuma S, et al. Hypertensive nephropathy and the gene for angiotensin-converting enzyme. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17:252.

28. Kiema T-R, Kauma H, Rantala AO, et al. Variation at the angiotensin-converting enzyme gene and angiotensinogen gene loci in relation to blood pressure. *Hypertension* 1996; 28:1070.
29. Koike G, Krieger JE, Jacob HJ, Mukoyama C, Pratt RE, Dzau VJ. Angiotensin converting enzyme and genetic hypertension: cloning of rat cDNAs and characterization of the enzyme. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 198:380,
30. Krege JH, John SWM, Langenbach LL, et al. Male-female differences in fertility and blood pressure in ACE-deficient mice. *Nature* 1995; 375:146.
31. Kreutz R, Hübner N, Ganten D, Lindpaintner K. Genetic linkage of the ACE gene to plasma angiotensin-converting enzyme activity but not to blood pressure. A quantitative trait locus confers identical complex phenotypes in human and rat hypertension. *Circulation*. 1995; 92:2381.
32. Kreutz R, Hubner N, James MR, et al. Dissection of a quantitative trait locus for genetic hypertension on rat chromosome 10. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:8778.
33. Lander ES, Schork NJ. Genetic dissection of complex traits. *Science* 1994; 265:2037.
34. Lifton RP. Genetic determinants of human hypertension. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:8545.
35. Lindpaintner K, Pfeffer MA, Kreut R, Stampfer MJ, Grodstein F, LaMotte F et al. A prospective evaluation of an angiotensin converting-enzyme gene polymorphism an the risk of ischemic heart disease. *N Engl J Med* 1995; 332:706-711.

36. Lonn EM, Yusuf S, Jha P, Montague TJ, Teo KK, Benedict CR et al. Emerging role of angiotensin-converting enzyme inhibitors in cardiac and vascular protection. *Circulation* 1994; 90: 2056-2069.
37. Marre M, Bernadet P, Gallois Y, et al. Relationship between angiotensin I converting enzyme gene polymorphism, plasma levels, and diabetic retinal and renal complications. *Diabetes* 1994; 43:384.
38. Mattei M, Hubert C, Alhenc-Gelas F et al: Angiotensin-converting enzyme gene is on chromosome 17. *Cytogenetic. Cell Genet*, 1989;51:11041.
39. McLaughlin KJ, Harden PN, Ueda S, Boulton-Jones JM, Connell JMC, Jardine AG. The role of genetic polymorphisms of angiotensin-converting enzyme in the progression of renal diseases. *Hypertension* 1996; 28:912.
40. Michel Marre, Xavier Jeunemaitre, Yves Gallois, Michel Rodier. Contribution of Genetic Polymorphism in the Renin-Angiotensin System to the Development of Renal Complications in Insulin-dependent Diabetes. *J. Clin Invest.* 1997 Vol 99 Num 7 1585-1595.
41. Mizuiri S, Hemmi H, Inoue A, Yoshikawa H, Tanegashima M, Fushimi T et al. Angiotensin-converting enzyme polymorphism and development of diabetic nephropathy in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Nephron* 1995; 70:455-459.
42. Moriyama T, Kitamura H, Ochi S, et al. Association of Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism with susceptibility to antiproteinuric effect of angiotensin I-

converting enzyme inhibitors in patients with proteinuria. *J Am Soc Nephrol.* 1995; 6:1674

43. O'Donnell CJ, Lindpaintner K, Larson MG, et al. Evidence for association and genetic linkage of the angiotensin-converting enzyme locus with hypertension and blood pressure in men but not women in the Framingham heart study. *Circulation* 1998; 97:1766.
44. Ohno T, Kawazu S, Tomono S. Association analyses of the polymorphisms of angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen genes with diabetic nephropathy in Japanese non-insulin-dependent diabetics. *Metabolism* 1996; 45:218.
45. Parving H-H, Jacobsen P, Tarnow L, et al. Effect of deletion polymorphism of angiotensin converting enzyme gene on progression of diabetic nephropathy during inhibition of angiotensin converting enzyme: observational follow up study. *Br Med J* 1996; 313:591.
46. Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA, Basta L, Brown EJ Jr, Cuddy TE et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE investigators. *N. Engl J Med* 1992; 327: 669-677.
47. Poch E. Cómo diagnosticar las formas genéticas de hipertensión, en *Decisiones clínicas y terapéuticas en el paciente hipertenso*, Segunda Edición, editado por A Coca and A de la Sierra. Ed. JIMS, Barcelona, 1998:167.
48. Pontremoli R, Sofia A, Tirota A, et al. The deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is

associated with target organ damage in essential hypertension. *J Am Soc Nephrol* 1996; 12:2550.

49. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990; 86:1343,
50. Rigat B, Hubert C, Corvol P, Soubrier F: PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxipeptidase 1). *Nucleic Acids Res.* 1992; 20:1433.
51. Rutledge DR, Kubilis P, Browe CS, Ross EA. Polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene in essential hypertensive patients. *Biochem Mol Biol Int* 1995; 35:661.
52. Sagnella GA, Rothwell MJ, Onipinla AK, Wicks PD, Cook DG, Capuccio FP. A population study of the ethnic variations in the angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism: relationships with gender, hypertension and impaired glucose metabolism. *J Hypertens* 1999; 17:657-664.
53. Samani N, Thompson J, O'toole L et al: A meta analysis of the association of the deletion allele of the angiotensin-converting enzyme gene with myocardial infarction. *Circulation*, 1996; 94: 708-712.
54. Schmidt S, Schöne N, Ritz E, and the Diabetic Nephropathy Study Group. Association of ACE gene polymorphism and diabetic nephropathy? *Kidney Int* 1995; 47:1176.

55. Schmidt S, Van Hoof I, Grobbee D, Ganten D, Eberhard R. Polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is apparently not related to high blood pressure: Dutch Hypertension and Offspring Study. *J Hypertens.* 1993; 11:345.
56. Schmidt S, Stier E, Hartung R, Stein G, Bahnisch J, Woodroffe AJ et al. No association of converting enzyme insertion/deletion polymorphism with immunoglobulin A Glomerulo Nephritis. *Am J Kidney Dis* 1995; 26: 727-731.
57. Schunker H, Hense H, Holmer S et al: Association Between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting gene and left ventricular hypertrophy. *New Engl J Med*, 1994; 30:1634-1638.
58. Schunkert H, Hense H-W, Muscholl M, Luchner A, Riegger GAJ. Association of angiotensin converting enzyme activity and arterial blood pressure in a population-based sample. *J Hypertens* 1996; 14:571.
59. Shanmugam V, Sell KW, Saha BK. Mistyping ACE heterozygotes. *PCR Meth Appl.* 1993; 3:120.
60. Smith T, Panagiotopoulos S, Aldred P, Baker L, Jacklin C, Jerums G. Angiotensin converting enzyme (ACE) gene polymorphism in NIDDM with elevated albuminuria (Resumen). *J. Am Soc. Nephrol* 1995; 6:456.
61. Solini A, Sfriso A, Trevisan M, et al. Analysis of ACE polymorphism in sib-pairs concordant for NIDDM and microalbuminuria. *Diabetologia* 1996; 39 (suppl):A74.

62. Tarnow L, Cambien F, Rossing P, et al. Lack of relationship between an insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene and diabetic nephropathy and proliferative retinopathy in IDDM patients. *Diabetes* 1995; 44:489.
63. Tarnow L, Rossing P, Jacobsen P, et al. Progression of diabetic nephropathy and the insertion/deletion polymorphism (ACE I/D) of the angiotensin-converting enzyme gene (Abstract) *J Am Soc Nephrol* 1996; 6:441.
64. Tiret L, Rigat B, Visvikis S, et al. Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE. *Am J Hum Genet* 1992; 51:197.
65. Van Essen GG, Rensma PI, de Zeeuw D, Sluiter WJ, Scheffer H, Apperloo AJ. Association between angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and failure of renoprotective therapy. *Lancet* 1996; 347:94.
66. Villar-Alvarez F, Banegas-Banegas JR, Rodriguez-Artalejo F, Del Rey-Calero J. Cardiovascular mortality in Spain and its autonomous communities (1975-1992). *Med Clin (Barc)* 1998;110: 321-327.
67. Ward R. Familial aggregation and genetic epidemiology of blood pressure. En: Laragh JH, Brenner BM, editores. *Hypertension: Pathophysiology, diagnosis and management*. Raven Press Ltd, New York, 1994: 67.
68. Yoshida H, Kuriyama S, Atsumi Y, et al. Angiotensin I converting enzyme gene polymorphism in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Kidney Int.*1996; 50:657

69. Yoshida H, Mitarai T, Kawamura T, et al. Role of the deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene in the progression and therapeutic responsiveness of IgA nephropathy. *J Clin Invest* 1995; 96:2162.
70. Zee RYL, Lou Y, Griffiths LR, Morris BJ: Association of a polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene with essential hypertension. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992; 184:9.