



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN
CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

FRECUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS INSERCIÓN/DELECIÓN EN EL GEN DE
LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA Y EL POLIMORFISMO M235T
EN EL GEN DEL ANGIOTENSINÓGENO EN PACIENTES CON INFARTO AGUDO
DEL MIOCARDIO ≤ 45 AÑOS

TESIS
QUE PARA OPTAR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA:
LUIS ALBERTO GUIZAR GARCÍA

TUTOR:
Dra. en C. IRMA ISORDIA SALAS

Unidad de Investigación Médica en Trombosis, Hemostasia y Aterogénesis.
Hospital General Regional Carlos Mac Gregor Sánchez, IMSS.

CIUDAD DE MEXICO

AGOSTO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

El trabajo experimental de esta tesis se llevó a cabo en el Laboratorio de la Unidad de Investigación en Trombosis, Hemostasia y Aterogénesis del Hospital General Regional No.1 “Dr. Carlos Mac Gregor Sánchez Navarro” del Instituto Mexicano del Seguro Social bajo la dirección de la Dr. en C. Irma Isordia Salas.

ÍNDICE GENERAL

Abreviaturas	4
Índice de tablas	5
Resumen	6
I. Introducción.....	7
a. Antecedentes.....	8
b. Justificación.....	16
c. Planteamiento del problema.....	18
d. Hipótesis.....	18
e. Objetivos.....	19
II. Sujetos, material y métodos.....	20
a. Lugar donde se realizó el estudio.....	20
b. Diseño de la investigación.....	20
c. Diseño de la muestra.....	20
d. Descripción de variables.....	22
e. Aspectos éticos.....	27
f. Análisis estadístico.....	28
III. Resultados.....	29
IV. Discusión.....	32
V. Conclusiones.....	37
VI. Referencias.....	38
VII. Anexos.....	50

i. ABREVIATURAS

AHF	Antecedentes heredofamiliares
AGT	Angiotensinógeno
DM	Diabetes mellitus
EAC	Enfermedad arterial coronaria
ECA	Enzima convertidora de angiotensina
EVC	Enfermedad Vascular Cerebral
ECV	Enfermedad Cardiovascular
HAS	Hipertensión arterial sistémica
IAM	Infarto agudo del miocardio
IAMCEST	Infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST
INEGI	Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática
OR	Razón de momios (del inglés, “ <i>odds ratio</i> ”)
PAI-1	Inhibidor del activador tisular del plasminógeno tipo 1 (del inglés, “plasminogen activator inhibitor type 1”)
PCR-RFLP	Reacción en cadena de la polimerasa de polimorfismos en los fragmentos de restricción
SICA	Síndrome isquémico coronario agudo
UIMTHA	Unidad de Investigación Médica en Trombosis, Hemostasia y Aterogénesis

ii. ÍNDICE DE TABLAS

- **Tabla 1.** Características demográficas y clínicas en pacientes con IAM y sus respectivos controles.
- **Tabla 2.** I/D Frecuencia de genotipos y alelos en pacientes con IAM y controles.
- **Tabla 3.** Frecuencia de alelo y genotipo M235T en pacientes con IAM y controles
- **Tabla 4.** Genotipo M235T

iii. RESUMEN

Antecedentes: El sistema renina- angiotensina juega un papel muy importante en la regulación de la presión sanguínea y el desarrollo de la enfermedad arterial coronaria (EAC). Varios polimorfismos del sistema renina angiotensina-aldosterona se han asociado con un incremento en el riesgo para EAC en diferentes poblaciones en todo el mundo, pero los resultados siguen siendo controversiales. El objetivo de este estudio fue examinar la asociación del polimorfismo I/D en el gen de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) y del polimorfismo M235T en el gen del angiotensinógeno (AGT) con el infarto agudo al miocardio (IAM) en población joven mexicana.

Métodos: Se realizó un estudio de casos-controles de 242 pacientes no relacionados con IAM con una edad de ≤ 45 años, quienes fueron admitidos en la unidad de cuidados intensivos coronarios y 242 sujetos sin IAM pareados por edad y género quienes fueron reclutados de enero del 2006 a junio 2013. Los polimorfismos I/D de la (ECA) y el M235T del AGT fueron determinados en todos los participantes mediante reacción en cadena de la polimerasa- de polimorfismos en los fragmentos de restricción (PCR-RFLP).

Resultados: Hubo una diferencia significativa en la distribución del genotipo I/D entre los dos grupos ($P=0.03$). Además, hubo un mayor porcentaje del alelo T polimorfismo M235T en el grupo de pacientes con IAM ($P=0.02$). Los factores de riesgo independientes para IAM fueron: la presencia del polimorfismo I/D de la ECA y el polimorfismo M235T del AGT, el tabaquismo, la hipertensión, la historia familiar de enfermedad cardiovascular y la dislipidemia.

Conclusión: Nuestro estudio identificó que el polimorfismo D del I/D de la ECA y el polimorfismo M235T del AGT representan un factor de riesgo independiente para IAM en edad temprana en población mexicana y puede contribuir en la progresión de la aterosclerosis.

I. INTRODUCCION

La enfermedad arterial coronaria (EAC), es la principal causa de muerte en el mundo. En estados Unidos de Norteamérica, afecta más de 13 millones de personas y un adulto muere cada minuto en ese país por esta causa (1). En el 2008, el Instituto de Información Estadística Geografía e Informática (INEGI) reportó como primera causa de muerte a la EAC, representando el 16.9% del total de las defunciones en ese año (2). La EAC es el resultado de la interacción entre factores genéticos y ambientales (3). La manifestación clínica más importante de la EAC es el Infarto Agudo al Miocardio (IAM) y se produce por la ruptura de una placa aterosclerosa denominada "vulnerable" constituida por un gran núcleo lipídico, íntima delgada y remodelación positiva precipitando la aparición del IAM (4). Existen tres condiciones que favorecen su desarrollo: 1) alteraciones reológicas (turbulencia, bifurcaciones y estenosis); 2) alteraciones en los componentes sanguíneos (plaquetas, proteínas de la coagulación y enzimas fibrinolíticas) y 3) alteraciones vasculares (ruptura de la placa aterosclerótica y disfunción endotelial). El infarto se produce por la formación de la placa ateromatosa, que culmina en una lesión arterial obstructiva que produce daño tisular (necrosis). El desarrollo del IAM es favorecido por la presencia de factores ambientales como el tabaquismo, hábitos dietéticos, sobrepeso y sedentarismo, así como de otras condiciones patológicas como la hipertensión arterial sistémica (HAS), diabetes mellitus (DM) e hipercolesterolemia. Sin embargo, hasta en aproximadamente un 50% de los pacientes, los eventos trombóticos arteriales ocurren sin asociación a factores de riesgo conocidos.

Además, existen otros factores, entre ellos algunas variantes genéticas (polimorfismos) presentes en las proteínas de la coagulación, sistema fibrinolítico, receptores plaquetarios, enzima relajante del endotelio y el metabolismo de la homocisteína, los cuales se han identificado como factor de riesgo para EAC en otras poblaciones (5). La contribución de los factores genéticos (polimorfismos) en el desarrollo de IAM se estima aproximadamente de un 20% a un 60% (6). Diversos estudios realizados apoyan las bases genéticas de la enfermedad arterial coronaria (7) y actualmente, el antecedente familiar de IAM se considera un factor de riesgo

independiente (8). Dicho riesgo se incrementa cuando el IAM se presenta en familiares jóvenes (9).

a. ANTECEDENTES

En la actualidad, se reconocen diversas variantes genéticas en los factores que constituyen el sistema hemostático y al endotelio, denominado polimorfismos, que pueden contribuir al desarrollo de IAM. Un polimorfismo genético es un segmento de ADN para el que se pueden encontrar dos o más formas alternativas en una población. Los tipos comunes de polimorfismos incluyen variantes de un solo nucleótido (cambios de un solo par de bases, también llamados polimorfismos de un solo nucleótido [SNP]), indels (polimorfismos de inserción / deleción) o cambios estructurales más grandes como variantes del número de copias (10). La importancia de su detección es modificar los factores de riesgo adyacentes en los sujetos portadores de dichos polimorfismos para evitar el desarrollo de la enfermedad.

Los primeros datos acerca de la participación de un componente genético en el desarrollo de un IAM, provienen de estudios realizados en familiares de los pacientes que lo han presentado, en quienes el riesgo de padecer IAM fue cuatro veces mayor que en los familiares en primer grado de sujetos sanos. (11-13). Actualmente, el antecedente familiar de IAM es un factor de riesgo independiente (14), y dicho factor genético es mayor cuando el IAM se presenta en pacientes jóvenes (15). Los estudios para evaluar la influencia hereditaria de algún genotipo específico, son particularmente relevantes cuando se llevan a cabo en gemelos univitelinos (16). En un estudio realizado en Dinamarca, se incluyó a 1,003 niños adoptados, el riesgo de presentar IAM fue significativamente más alto en gemelos en comparación con sus padres adoptivos, sin embargo, también se observó una importante influencia del medio ambiente familiar, ya que cuando los padres adoptivos fallecieron antes de los 50 años de edad se modificó la sobrevivencia para los niños, con un incremento en todas las causas de muerte, en específico las

relacionadas con causas cardiovasculares; Sorensen (17) y Berg obtuvieron (18) resultados similares. Cabe hacer mención que cuando el riesgo fue estimado de acuerdo al sexo, este fue mayor en el femenino (18-21). Se han realizado múltiples estudios en búsqueda de una asociación entre la carga genética y el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, un ejemplo es el Peyvandi (22), en cuyo ensayo se evaluó la presencia de 7 polimorfismos en el FVII, de 98 mujeres italianas, menores de 45 años de edad, que presentaron IAM y tuvieron que permanecer en la unidad de cuidados coronarios, sin embargo, los resultados no encontraron la asociación esperada.

Aunque ya se conoce la participación genética en el IAM, la mayor parte de los estudios se han enfocado al desarrollo de los factores de riesgo clásicos para el desarrollo de aterosclerosis como lo son tabaquismo, hipercolesterolemia, hiperfibrinogenemia, diabetes, entre otros (23-25). Sin embargo, las variantes genéticas que ocurren en los sistemas de la coagulación y fibrinólisis que favorecen el desarrollo de trombosis arterial continúan en investigación pues no se han estudiado de forma exhaustiva.

En nuestro país se consideran como los principales factores de riesgo para el desarrollo de IAM, a la presencia de factores ambientales o algunas enfermedades como la hipertensión arterial sistémica (HAS), la diabetes mellitus (DM), el tabaquismo, el sedentarismo, las dislipidemias, la obesidad y la hiperfibrinogenemia. Los polimorfismos están presentes en los genes de algunas proteínas del sistema hemostático, a nivel endotelial o en el metabolismo de lípidos y, lamentablemente, ninguna de las variables genéticas han sido estudiadas en nuestra población siendo los factores hereditarios más importantes en sujetos jóvenes (26,27); incluso sabemos que hasta el 9% de todos los eventos coronarios se presentan en menores de 45 años y de estos el componente genético se estima en un 20 a 60% (28).

Se han demostrado algunas variantes genéticas que representan factores de riesgo para el desarrollo de infarto agudo al miocardio (IAM) con elevación del segmento ST en sujetos jóvenes (menores de 45 años de edad) en nuestra población; por

ejemplo: la inserción/delección 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1), como se demostró en un estudio de casos y controles que incluyó a 127 pacientes por grupo, en éste se concluye que la presencia del alelo G4 es un factor de riesgo independiente para el desarrollo de IAM con elevación del segmento ST en sujetos jóvenes (29). En otro estudio de casos y controles, en población mexicana, se demostró una diferencia significativa en la distribución de los genotipos ($P=0.001$), la presencia del alelo Asp se encontró más frecuentemente en el grupo de pacientes ($p=0.001$), los factores de riesgo independientes para el grupo con IAM con elevación del segmento ST fueron: la presencia del alelo Asp (OR 2.2, 95% CI 1.1-3.5, $P=0.03$), tabaquismo (OR 5.0, 95% CI 3.1-8.2, $P<0.001$), hipertensión (OR 2.0, 95% CI 1.0-3.5, $P=0.03$), historia familiar de enfermedad cardiovascular, (OR 3.7, 95% CI 2.0-4.6, $P=0.02$) y dislipidemia (OR 3.4, 95% CI 2.0-6.3, $P=0.02$). En forma contraria, se ha visto que los polimorfismos en el C677T en el gen de la enzima 5,10 metilen tetrahidrofolato reductasa (31) y el R353Q en el gen del factor VII de la coagulación pueden representar un factor protector para el desarrollo de IAMCEST en la población Mexicana (32).

Por otra parte, existen otros polimorfismos presentes en genes reguladores de la homeostasis sanguínea como son los localizados en el sistema renina-angiotensina-aldosterona, los cuales han demostrado ser un factor de riesgo para el desarrollo de IAM en diversas poblaciones a nivel mundial. La enzima convertidora de angiotensina (ECA) forma parte importante del sistema renina-angiotensina, que se expresa en los pulmones, riñones, cardiomiocitos y otros tejidos, además tiene una participación primordial en la regulación de la homeostasis de la presión sanguínea. La ECA convierte angiotensina I en angiotensina II, un potente vasoconstrictor (33) y también inactiva a la bradicinina la cual es un potente vasodilatador (34). Un incremento crónico de los niveles de angiotensina II y una disminución en la concentración de bradicinina quizá resulten en un estado crónico de incremento en la resistencia vascular y en forma consecuente con un incremento en la presión arterial. Además, la angiotensina II promueve la proliferación de las células musculares lisas, la migración, activación y

adhesión de los macrófagos a la pared vascular permitiendo el desarrollo de la placa de aterosclerosis (35,36). El gen del ECA se localiza en el cromosoma 17q23 y está constituido por 26 exones y 25 intrones (37,38). Aunque existen diversas regiones polimórficas en el gen del ECA que pueden ser analizadas en diversas poblaciones en todo el mundo, una de las más estudiadas ha sido la inserción/delección presente en el intrón 16, en el gen de la ECA (39), la cual se correlaciona con un variante en la concentración de la enzima y ha demostrado ser un factor de riesgo para IAM (40), aunque otros estudios no han podido demostrar una asociación entre el polimorfismo y el desarrollo de IAM (41,42).

Rigat y cols., (43) fueron los primeros en describir el polimorfismo consistente en una inserción/delección en el intrón 16 del gen de la enzima convertidora de angiotensina I. Los portadores del genotipo Delección/Delección (D/D) mostraron un incremento en las concentraciones de la enzima comparado con los portadores de los genotipos Inserción/Inserción (I/I) o Inserción/Delección (I/D). El polimorfismo I/D contribuye aproximadamente en un 50% en las variaciones de la enzima en plasma. Además, el genotipo DD es asociado con elevación de la actividad del ACE en plasma (43-44) y el tejido cardíaco (45), lo que, clínicamente, se puede traducir en efectos cardiovasculares negativos, entre ellos principalmente la hipertensión. También se ha demostrado una asociación entre el genotipo DD de la enzima convertidora de angiotensina y el incremento en el riesgo para enfermedad arterial coronaria (EAC) (45,46), infarto agudo de miocardio (47,48) e hipertrofia ventricular izquierda (49,50). La asociación entre el genotipo DD de la ECA se ha encontrado aún en individuos con bajo riesgo cardiovascular que presentan eventos cardiovasculares, como se demuestra en un estudio realizado con habitantes de la región de Caerphilly, Inglaterra (n=1226), en quienes la presencia de este genotipo confiere el riesgo de desarrollar enfermedad arterial coronaria en sujetos que previamente no eran identificados con los factores de riesgo clásicos (46). En el estudio de Cambien, que incluyó a 1343 sujetos de Francia y el norte de Irlanda, se corroboró que la presencia del genotipo DD se asocia a un incremento en los niveles de enzima convertidora de angiotensina, en comparación con los genotipos II e ID, éste fue uno de los primeros estudios en demostrar también un incremento en la presencia de infarto al

miocardio respecto a los controles ($p=0.007$), especialmente en sujetos con bajo índice de masa corporal y niveles bajos de Apo B ($p<0.0001$) e incluso se menciona que el genotipo ID incrementa el riesgo de padecer enfermedad arterial coronaria en sujetos sin factores clásicos de riesgo conocidos (47). Pero también existen estudios con resultados contradictorios, como el obtenido en el estudio de casos y controles realizado por Lindpaintner y colaboradores, que incluyó a una población de 1250 médicos estadounidenses quienes presentaron enfermedad coronaria y 2340 controles, en éste no se encontró asociación entre el alelo D y la presencia de infarto al miocardio y o cardiopatía isquémica con un RR 1.07 (IC 95%, 0.96 a 1.19, $p=0.24$), aunque esto no ha sido confirmado por otros investigadores (51). El mismo autor realizó otro estudio en el que se incluyó a 2439 sujetos de la cohorte de Framingham, en el cual no se encontró asociación en el crecimiento ventricular izquierdo y la presencia del alelo D. (52).

El gen del angiotensinógeno (AGT) se localiza en el cromosoma 1. Estudios de Inoue y colaboradores, fueron los primeros en demostrar la presencia de un componente genético para el desarrollo de hipertensión (53); aunque existen diversos polimorfismos en el gen (54) el más extensamente estudiado es el M235T, el cual ha sido asociado con el desarrollo de enfermedad cardiovascular, pues ya desde 1995 Katsuya y colaboradores, mediante un estudio de casos y controles (422 y 406, respectivamente) en población caucásica, demostró esta asociación, con un incremento de hasta dos veces con respecto a los controles con la presencia del polimorfismo M235T ($p= 0.009$), sin embargo, no encontró asociación con la presencia del alelo DD del angiotensinógeno (55). Estudios más recientes en población latinoamericana, han demostrado que la presencia de este polimorfismo se relaciona incluso con una mayor severidad de la enfermedad cardiovascular (56); ejemplo de ello es el estudio publicado en 2005, por Lanz y colaboradores, que incluyó a 871 pacientes que ingresaron por sospecha de enfermedad arterial coronaria y fueron sometidos a cateterismo, demostrando una un incremento de 1.8 en el riesgo de padecer enfermedad multivazo, en relación a los controles (95% CI: 1.174–2.947, $p <0.05$) (57). Sin embargo, aún existen resultados contradictorios, como es el caso del estudio de Sethi, en Dinamarca, que incluyó a una población de

estudio de 10 690 participantes, concluyó que la presencia de los polimorfismos 174TT, o 235TT, se asociaron a un incremento en la concentración plasmática de angiotensinógeno (> 80 ng/mL) con una $p=0.01$ para mujeres y $p= 0.05$ para los hombres, con un aumento en la frecuencia de hipertensión sólo en mujeres posmenopáusicas, sin embargo, no se pudo establecer una asociación con el desarrollo de enfermedad cardiovascular o enfermedad vascular cerebral (58); otro estudio de casos y controles, en población alemana, en el que se comparó la presencia de los polimorfismos del alelo I/D de la enzima convertidora de angiotensina y el polimorfismo M235T del angiotensinógeno en 638 pacientes hipertensos contra 720 sujetos sin hipertensión se concluyó que los polimorfismos I/D no guardan relación con la presencia ni la intensidad de la hipertensión y que la presencia de la variante TT del polimorfismo M235T se comportó como un factor de protección al disminuir la presencia de hipertensión en 48% (OR: 0.52; 95% CI, 0.28 a 0.96) (59) lo cual resulta contrario, incluso a lo propuesto en varios estudios y metaanálisis (60).

Estudios previos han demostrado una interacción multigénica entre la I/D en el gen de la ECA y el M235T en el gen del AGT y el desarrollo de enfermedad arterial coronaria en población Taiwanesa (61) y similar interacción fue obtenida para IAM en población española, demostrando un incremento de riesgo en los sujetos homocigotos para la inserción (alelo D) y el alelo T del polimorfismo M235T (62).

Mehri y cols, demostraron una asociación entre el polimorfismo para IAM (63,64), mientras que otros han identificado una asociación entre el alelo T y la extensión de la aterosclerosis coronaria (65,66), o cardiomiopatía hipertrófica (67).

Además, se ha postulado la presencia de una interacción entre los genotipos del sistema renina-angiotensina y el desarrollo de IAM en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2, tal y como lo demuestra un estudio de casos y controles en población de Túnez, que incluyó a 114 pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y 175 controles sanos (68), en éste se trató de predecir el riesgo de padecer diabetes de acuerdo a la presencia de la variantes en tres polimorfismo: M235T del angiotensinógeno, la delección/inserción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA I/D) y del

receptor tipo 1 de angiotensina (ATR1 A11666C); de acuerdo a los resultados, el riesgo de padecer diabetes se incrementaba en relación con el número de polimorfismos presentes, de tal manera que los individuos con un genotipo de riesgo tuvieron 1.9 (95%CI: 1.1–3.0, $p= 0.017$) veces más riesgo en comparación con los individuos sin genotipos de riesgo, cuando se presentaban 2 genotipos de riesgo los individuos tuvieron 4.0 (95%CI 1.7–9.4, $p= 0.001$) veces más de riesgo que los individuos sin genotipos de riesgo; finalmente, de manera muy interesante, aquellos participantes que tenían los 3 genotipos de riesgo presentaron una probabilidad de padecer diabetes de 26.2 (95%CI: 5.8–117.9, $p<0.001$) veces más en comparación con los individuos sin dichos genotipos. También hay algunas investigaciones en relación a la presencia de estos polimorfismos y un incremento en el riesgo de padecer síndrome metabólico (69,70).

En el estudio ECTIM, que incluyó a 630 pacientes con antecedente de infarto al miocardio (casos) y 741 controles se demostró una asociación entre la presencia del alelo TT del polimorfismo M235T y el desarrollo de hipertensión en sujetos sin sobrepeso, sin encontrarse diferencias para la presencia de infarto no fatal (71). También se ha demostrado un incremento entre los niveles de plasminógeno y el desarrollo de enfermedad cardiovascular (72).

Además, se ha demostrado un interacción entre el polimorfismo M235T del gen del angiotensinógeno y el polismorfismo Glu298Asp del gen de la óxido nítrico sintetasa endotelial para el desarrollo de enfermedad arterial coronaria en población Egipcia (73).

Finalmente, en un estudio en población europea en el que se mantuvo en seguimiento una cohorte de 4097 durante 22 años se ha identificó un incremento en el riesgo IAM asociado con la presencia del polimorfismo M235T (OR 4.00; 95% CI: 1.32-12.11), no así para el desarrollo de enfermedad vascular cerebral entre sujetos hipertensos homocigotos para el alelo TT del angiotensinógeno (OR 1.83; 95% CI: 0.95-3.54) (74). Sin embargo, existen varios estudios multicéntricos en los cuales no se ha podido demostrar una asociación clara entre la presencia de estos polimorfismos y el desarrollo de IAM o EVC, muestra de ello es la publicación de

seis estudios de casos y controles en población de Dinamarca con una población estudiada de 11 719 participantes, en dicha publicación se concluyó que la presencia de los polimorfismos M235T y T174M del angiotensinógeno fueron inconsistentes para demostrar una asociación con la presencia de cardiopatía isquémica, infarto al miocardio o evento vascular cerebral (75).

En la actualidad, continúan generándose hipótesis acerca de la participación de los polimorfismos inserción/delección en el gen de la enzima convertidora de angiotensina y el M235T en el gen del angiotensinógeno, sobre todo en población joven; en México este fue el primer estudio que se realizó en búsqueda de su asociación con infarto al miocardio.

b. JUSTIFICACIÓN

El infarto agudo al miocardio (IAM) representa la primera causa de muerte a nivel mundial y un importante problema de salud pública en nuestro país. Desde hace ya más de una década, en México es la primera causa de muerte a la EAC, representando hasta el 16.9% del total de las defunciones (2). El costo por la atención del evento agudo es de aproximadamente 300,000 pesos. El IAM es producto de la interacción entre factores genéticos y ambientales. En nuestro país se consideran como los principales factores de riesgo para IAM la diabetes, la obesidad, la dislipidemia, el género masculino, así como el antecedente familiar de cardiopatía isquémica y el tabaquismo; sin embargo, existe un espectro importante de la población (alrededor del 10%) no cuenta con los factores de riesgo tradicionales y desarrollan un IAM a edades tempranas (menores de 45 años); entre las muchas hipótesis que se han planteado, es innegable un componente genético que podría explicar desde un 20% hasta un 60% de los casos, de tal manera que es de suma importancia el investigar dichas alteraciones genéticas en México. Dentro de las principales alteraciones a estudiar se encuentran diversas variantes genéticas denominadas polimorfismos, que cuando están presentes, condicionan un desequilibrio hemostático y disfunción endotelial dando origen al desarrollo de aterosclerosis temprana y, posteriormente, con un proceso aterotrombótico obstructivo causando origen al evento agudo coronario.

Previamente, se han demostrado algunas variantes genéticas que representan factor de riesgo para el desarrollo de IAMCEST en sujetos jóvenes menores de 45 años como lo son: la inserción/delección 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1), el polimorfismo Glu298Asp en el gen de la enzima endotelial de óxido nítrico, el PIA1/A2 en el gen del receptor de membrana plaquetaria IIIa, mientras que los polimorfismos C677T en el gen de la enzima 5,10 MTHFR y el R353Q en el gen del factor VII de la coagulación representan factor protector el desarrollo de IAM. Existen polimorfismos en el sistema renina-angiotensina-aldosterona como son la inserción/delección en el gen de la enzima convertidora de angiotensina y el M235T en el gen del angiotensinógeno, los

cuales han demostrado asociación con el desarrollo de aterosclerosis temprana en diferentes tipos de poblaciones alrededor del mundo, con unos cuantos estudios contradictorios.

Debido a lo anterior, consideramos importante explorar estas variantes en este subgrupo de pacientes en los cuales el factor genético cobra mayor importancia, motivo por el cual consideramos, de vital importancia, que la identificación de dichos polimorfismos nos ayudará a entender aún mejor las bases moleculares de la trombosis en los pacientes jóvenes de nuestra población y con ello, prevenir el posible desarrollo de dicha enfermedad en los familiares de los pacientes, es decir creando un foco de atención en los genotipos de riesgo ya que, en ocasiones, el presentar dos o más de ellos llega a representar un riesgo mucho mayor, incluso, que los factores de riesgo tradicionales.

En México y, particularmente, en el Instituto Mexicano de Seguro Social es factible el desarrollo de este tipo de investigaciones, pues se cuenta con la infraestructura necesaria para la realización de investigación de vanguardia además de la experiencia de investigadores expertos en el tema de coagulopatía.

Con base en los resultados de esta investigación se podrán sentar las bases para la búsqueda de factores de riesgo genéticos en familias con antecedentes de IAM en sujetos jóvenes, a fin de implementar estrategias tempranas en estilo de vida que permitan mejorar la morbilidad y mortalidad.

c. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Infarto agudo al miocardio es la principal causa de muerte en nuestro país y que se presenta hasta un 10% en los sujetos jóvenes, en los cuales solo se documenta en un 50% factores etiológicos. Es la combinación de factores genéticos y ambientales, que en nuestro país aún no se han identificado factores genéticos que pudieran estar asociados al desarrollo del evento agudo trombótico. En la mayoría de los pacientes no se alcanza una rehabilitación total por lo que queda con discapacidad permanente y expuesto a un segundo evento trombótico el cual le puede originar la muerte. Debido a lo anteriormente comentado, se desarrolló esta tesis con la finalidad de analizar la frecuencia y la posible asociación de los polimorfismos I/D en el gen de la ECA y el M235T en el gen del AGT con la presentación del IAM en pacientes jóvenes mexicanos. De ser positivos los resultados y demostrar esta asociación, podremos identificar a población con riesgo genético de presentar IAM misma en la que se deberán tomar medidas enérgicas para el control de los factores de riesgo conocidos e incluso tratamiento farmacológico, de ser necesario.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la asociación que existe entre los polimorfismos inserción/delección en el gen de la enzima convertidora de angiotensina y el polimorfismo M235T en el gen del angiotensinógeno para el desarrollo de infarto agudo al miocardio en sujetos ≤ 45 años?

d. HIPÓTESIS

Hi: Los polimorfismos inserción/delección en el gen de la enzima convertidora de angiotensina y el M235T del gen del angiotensinógeno se asocian con al menos un OR de 1.8 con el desarrollo de infarto agudo al miocardio en sujetos ≤ 45 años.

Ho: Los polimorfismos inserción/delección en el gen de la enzima convertidora de angiotensina y el M235T del gen del angiotensinógeno no se asocia con el desarrollo de infarto agudo al miocardio en sujetos ≤ 45 años.

e. OBJETIVO GENERAL

Determinar si existe asociación entre los polimorfismos inserción/delección en el gen de la enzima convertidora de angiotensina y el M235T en el gen del angiotensinógeno y el desarrollo de Infarto agudo al miocardio ≤ 45 años.

II. SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS

a. LUGAR DONDE SE REALIZÓ EL ESTUDIO.

El estudio se llevó a cabo en la Unidad de Investigación en Trombosis, Hemostasia del Hospital General Regional No. 1 Carlos Mac Gregor Sánchez Navarro.

b. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Estudio de casos y controles.

De acuerdo a la manipulación de la variable de interés: observacional

De acuerdo a la medición del desenlace: transversal

De acuerdo a temporalidad: retrospectivo

c. DISEÑO DE LA MUESTRA

1. UNIVERSO DE TRABAJO

Pacientes con diagnóstico de Infarto agudo al miocardio ≤ 45 años en el grupo de casos y sujetos ≤ 45 años sin la enfermedad que conformaron el grupo control.

2. POBLACIÓN ACCESIBLE: GRUPOS DE ESTUDIO.

a) Casos: Pacientes con diagnóstico clínico, electrocardiográfico y por laboratorio de infarto agudo al miocardio mayores de 18 años y hasta 45 años de edad que

ingresen a la unidad de cuidados coronarios del Hospital General Regional número 2 de Instituto Mexicano del Seguro Social.

b) Controles: Sujetos sin diagnóstico de IAM mayores de 18 y ≤ 45 años, que acudan como donadores al Banco Central de Sangre del Hospital General Regional número 2 de Instituto Mexicano del Seguro Social, pareados por edad y género con los casos.

3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

1. Pacientes de cualquier género.
2. Mayores de 18 años y menores de ≤ 45 años.
3. Con diagnóstico clínico, electrocardiográfico y por laboratorio de IAM:

Dolor torácico ≥ 20 minutos, Elevación del segmento ST en dos o más derivaciones contiguas de 2 mm en V_{1-3} y 1 mm en el resto de las derivaciones y/o Elevación de CPK-MB o troponina-I \geq percentil 99.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Pacientes que decidieron no ingresar al protocolo.
- Con antecedentes de cardiomiopatía congénita o adquirida.
- Con antecedentes de valvulopatía cardíaca.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se incluyeron 242 pacientes no relacionados con Infarto agudo al miocardio con una edad de ≤ 45 años, quienes fueron admitidos en la unidad de cuidados intensivos coronarios y 242 sujetos sin IAMCEST pareados por edad y género quienes fueron reclutados de enero del 2006 a junio 2013.

Estudios anteriores en población mexicana con tamaño de muestra similar han encontrado diferencias estadísticamente significativas, incluso este estudio se deriva de una cohorte de pacientes con IAM jóvenes mexicanos.

d. DESCRIPCION DE LAS VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE:

1. Presencia del polimorfismo inserción/delección en el gen de la enzima convertidora de angiotensina.

a) Definición Conceptual: Variación en la secuencia de ADN en el gen de la enzima convertidora de angiotensina, el cual consiste en una inserción (I) o delección (D) de 287 pares de bases en el intrón 16.

b) Definición Operacional: es la presencia de la variación en la secuencia del ADN, el cual ocurre en más del 1% de la población caracterizado por una inserción (I) o delección (D) de 287 pares de bases en el intrón 16.

c) Tipo de Variable: cualitativa

d) Escala de Medición: nominal, dicotómica

e) Unidades de Medición: si/no

2. Presencia del polimorfismo M235T en el gen del angiotensinógeno.

a) Definición Conceptual: Variación en la secuencia de ADN en el gen del Angiotensinógeno, el cual consiste en una sustitución de una Metionina por una Treonina en la posición 235 de la secuencia de la proteína.

b) Definición Operacional: es la presencia de la variación en la secuencia del ADN, el cual ocurre en más del 1% de la población caracterizado por la sustitución de una Metionina por una Treonina en la posición 235 de la secuencia de la proteína.

c) Tipo de Variable: cualitativa

d) Escala de Medición: nominal, dicotómica

e) Unidades de Medición: si/no

VARIABLE DEPENDIENTE:

1. Pacientes con Infarto Agudo al Miocardio

Definición Conceptual: Muerte celular de las miofibrillas causada por falta de aporte sanguíneo a una zona del corazón.

Definición operacional: Presencia de al menos 2 de los siguientes criterios: 1) Dolor torácico sugestivo de isquemia, 2) Cambios electrocardiográficos característicos (ver criterios de inclusión), 3) Incremento en los biomarcadores de necrosis miocárdica (ver criterios de inclusión).

Categoría: Cualitativa

Escala de medición: Nominal

Unidad de Medición. Dicotómica. Si/No

VARIABLES DE INTERVENCIÓN:

1. Hipertensión arterial sistémica

a) Definición Conceptual: elevación de la tensión arterial sistólica >de 140 mmHg o de la tensión arterial diastólica >90 mmHg en mediciones repetidas, o bien cifras de tensión, arterial normal, pero bajo tratamiento antihipertensivo.

b) Definición Operacional: es la presencia de diagnóstico previo o durante la revisión de cifras de tensión sistólica igual o mayor a 140 mmHg o diastólica igual o mayor a 90 mmHg en mediciones repetidas o bien cifras de tensión arterial normales pero bajo efecto de tratamiento antihipertensivo.

c) Tipo de Variable: cualitativa

d) Escala de Medición: nominal, dicotómica

e) Unidades de Medición: si/no

2. Diabetes Mellitus

a) Definición Conceptual: elevación de la glucosa sérica igual o mayor de 126 mg/dL en ayuno de al menos 6 horas, o bien 200 mg/dL o más a cualquier hora del día con presencia de síntomas.

b) Definición Operacional: es la presencia del diagnóstico previo o durante la revisión de cifras de glicemia igual o mayor de 126 mg/dL en ayuno de al menos 6 horas, o bien 200 mg/dL o más a cualquier hora del día con presencia de síntomas, o bien cifras normales de glucemia bajo tratamiento hipoglucemiante.

c) Tipo de Variable: cualitativa

d) Escala de Medición: nominal, dicotómica

e) Unidades de Medición: si/no

3. Dislipidemia

a) Definición Conceptual: estado de desequilibrio entre el aporte y la demanda de oxígeno en tejido miocárdico que condiciona isquemia tisular con presencia de lesiones aterotrombóticas obstructivas.

b) Definición Operacional:

Colesterol igual ó mayor a 220 mg/dl y triglicéridos igual ó mayores a 180 mg/dl

c) Tipo de Variable: cualitativa

d) Escala de Medición: nominal, dicotómica

e) Unidades de Medición: si/no

4. Tabaquismo

a) Definición Conceptual: consumo de tabaco en cualquier época de la vida de por lo menos un cigarrillo por día durante un año, o bien la exposición pasiva al humo de tabaco diariamente al menos un año.

b) Definición Operacional: es la presencia del antecedente de haber consumido tabaco en cualquier época de la vida de por lo menos un cigarrillo por día durante un año, o bien la exposición pasiva al humo de tabaco diariamente al menor un año.

c) Tipo de Variable: cualitativa

d) Escala de Medición: nominal, dicotómica

e) Unidades de Medición: si/no

5. Obesidad

a) Definición Conceptual: Peso corporal secundario al acumulo de tejido adiposo que confiere un índice de masa corporal $>30\text{m}^2$ superficie corporal.

b) Definición Operacional: sujetos con índice de masa corporal $>30\text{m}^2$ superficie corporal.

1) Tipo de Variable: cualitativa

d) Escala de Medición: nominal, dicotómica

e) Unidades de Medición: si/no

f. ASPECTOS ÉTICOS

Con relación a los aspectos éticos, a todos los pacientes se les proporcionó el formato de consentimiento informado de acuerdo a la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, sobre los Principios Éticos para la Investigación Médica que involucra sujetos humanos, adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki Finlandia 1964, modificada en Tokio, Japón 1975. Los datos personales y los resultados de los participantes son estrictamente confidenciales. Solo serán conocidos por el investigador. No se hará divulgación de los mismos o intercambio de datos. Se hizo la invitación a participar en el protocolo a cada uno de los sujetos para poder ser integrados al mismo. Se explicó a cada uno de ellos, en forma detallada, en lo que consistía el procedimiento haciendo especial énfasis en que la participación o no en el estudio de ninguna manera afectaría o modificaría su tratamiento. A todos los participantes se les proporcionó la carta de consentimiento informado, así mismo, se resolvieron las dudas respecto a la misma y, una vez que se tuvo total claridad y certeza del contenido, se procedió a recabar la de la misma por los participantes.

f. DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO

A) Se realizó la toma de muestras sanguíneas, separación del plasma y contenido celular para la extracción de ADN, seguida de la amplificación de las secuencias de interés mediante la detección de reacción en cadena de la polimerasa de polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (PCR-RFLP) y establecer la presencia o no de polimorfismo en el total de las muestras a estudiar, (Ver anexo 1).

Una vez obtenidos los resultados se procedió a la etapa de análisis, así como la valoración de su asociación con los factores de riesgo conocidos.

g. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos continuos fueron expresados como media \pm desviación estándar; los datos categóricos fueron expresados como porcentajes. El significado de las diferencias entre variables continuas fue determinado por la prueba de t de Student. La diferencia entre variables categóricas, fue determinada con prueba de chi cuadrado. El ajuste del OR fue calculado por regresión logística multivariable para los polimorfismos I/D y M235T y factores de riesgo cardiovasculares tradicionales; se consideró en valor de $P < 0.05$ como estadísticamente significativo. Para determinar el equilibrio de Hardy-Weinberg se utilizó la prueba de chi cuadrado. Será considerado con significancia estadística un valor de $p < 0.05$ (una cola). Todos los análisis estadísticos fueron hechos usando SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) (version 18: SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

III. RESULTADOS

Las características clínicas basales de los pacientes y los controles se muestran en la tabla 1. El origen étnico de todos los pacientes y controles fue México – mestizo. La población estudiada estuvo compuesta por 242 pacientes, todos <45 años, con diagnóstico de IAM y 242 controles pareados por edad y género. El índice de masa corporal fue similar entre ambos grupos (NS). La prevalencia de factores de riesgo fue más alta en el grupo de pacientes, las causas asociadas con IAM fueron, diabetes mellitus (33.5% vs 21.5%, OR 1.84; 95% IC 1.20 – 2.82, $p < 0.003$), hipertensión (40.5% vs 15.2%, OR 2.68; 95% IC 1.75 - 4.10, $p < 0.001$), tabaquismo (74.0% vs 31%, OR 6.33; 95% CI 4.18- 9.59, $p < 0.0001$), finalmente historia familiar de CAD (36.0% vs 19.4%, OR 2.29; 95% IC 1.48- 3.53, $p < 0.001$).

Tabla 1 Características clínicas y demográficas de los pacientes con IAM y sus controles

Variable	Pacientes (n 242)	Controles (n 242)	OR	Valor de P
Edad, años	41.0±5.3	39.7±5.0		NS
Género, masculino (%)	191 (78.9)	192 (79.3)		NS
Índice de masa corporal (kg/m ²)	29.5 ± 3.2	28.7 ± 4.2		NS
Diabetes mellitus <i>n</i> (%)	81 (33.5)	52 (21.5)	1.84	0.003
Hipertensión <i>n</i> (%)	98 (40.5)	42 (15.2)	2.68	0.001
Tabaquismo <i>n</i> (%)	179 (74.0)	75 (31.0)	6.33	0.001
Dislipidemia <i>n</i> (%)	128 (52.9)	65 (26.9)	3.15	0.001
Historia familiar de CAD	85 (36.0)	47 (19.4)	2.99	0.001

Tabla 2, muestra el genotipo y la distribución de alelos de I/D para pacientes y controles. Estos tuvieron una diferencia significativa en la distribución del genotipo entre ambos grupos (P 0.03). La distribución del genotipo en el grupo de pacientes fue: 75 individuos (31%) homocigoto para el alelo I, 124 (51.2%) heterocigotos I/D y 43 (17.8%) homocigotos para el alelo D. Hubo una diferencia significativa en la frecuencia del alelo ($p=0.03$). Para pacientes y controles, la frecuencia del alelo D fue de 43.4% y 36.8%, respectivamente. En el análisis univariable se encontró una

diferencia en la distribución del genotipo entre los pacientes con IAM y los controles (I/I y I/D portadores), comparado con el alelo D/D (OR 1.52, 95% IC 1.02 -2.24, p=0.03).

Tabla 2. I/D frecuencia de genotipos y alelos en pacientes con IAMCEST y controles

Genotipo I/D	Pacientes (n=242)	Controles (n=242)	OR	Valor de P
I/I n (%)	75 (31.0)	98 (40.2)		0.03*
I/D n (%)	124 (51.2)	112 (46.0)		
D/D n (%)	43 (17.8)	32 (13.8)		
I/I vs I/D + D/D	167 vs 75	144 vs 98	1.52	0.03*
ALELO				0.03*
I, n (%)	274 (56.6)	308 (63.2)		
D, n (%)	210 (43.4)	176 (36.8)		

Tabla 3, muestra la distribución de genotipos y alelos del polimorfismo M235T para los pacientes y controles. Hubo una diferencia significativa en la distribución del genotipo entre ambos grupos (p=0.02). La distribución del genotipo en el grupo control fue de 138 individuos (57.0%) homocigotos para el alelo M, 98 (40.5%) heterocigotos M/T, y 6 (2.5%) homocigotos para el alelo T. Hubo una diferencia significativa en la frecuencia del alelo (p=0.02). Para los pacientes y controles, la frecuencia para el alelo T fue de 26.5% y 18.3%, respectivamente. El análisis univariado identificó como factor de riesgo para IAM aquellos que portan el alelo T (es decir, aquellos con los genotipos M / T y T / T) en comparación con aquellos con el genotipo M/M OR 1.78 (95%CI 1.20-2.64, P=0.02).

Tabla 3. Frecuencia de alelo y genotipo M235T en pacientes con IAM y controles.

	Pacientes (n=242)	Controles (n=242)	OR	p Valor
Genotipo				0.02*
M/M, n (%)	138 (57.0%)	170 (70.2%)		
M/T n (%)	98 (40.5%)	62 (25.7%)		
T/T, n (%)	6 (2.5%)	10 (4.1%)		
T/T +M/T vs. M/M	104 vs.138	72 vs.170	1.78	0.02*
Alelo				
M, n (%)	374 (74.5%)	402 (81.7%)		0.02*
T, n (%)	110 (26.5%)	82 (18.3%)		

IV. DISCUSIÓN

Este es el primer estudio en población mexicana que demuestra la asociación existente en pacientes con infarto agudo al miocardio menores de 45 años con la presencia de las variantes genéticas: el polimorfismo M235T en el gen del angiotensinógeno y el polimorfismo Inserción/Delección en el gen de la enzima convertidora de angiotensina. Esta investigación abre la posibilidad del desarrollo de estrategias preventivas en este tipo de pacientes en nuestra población.

La enfermedad cardiovascular (ECV) es una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial, es el resultado de factores de riesgo genético y ambiental. La incidencia de infarto agudo al miocardio es de 10% en pacientes menores de 45 años o menos (76). La contribución genética para el desarrollo de ECV se estima en un rango del 20% al 60%, los factores genéticos son los más relevantes en aquellos que desarrollan ECV a una edad más temprana (77).

Estudios previos han demostrado que el polimorfismo I/D en la ECV, está asociado con un mayor el incremento enzimático de la ECA (43). La ECA es responsable de la conversión de angiotensina I al péptido precursor angiotensina II, la cual es un potente vasopresor y se ha implicado en la patogénesis de la aterosclerosis mediante la inducción de la hiperplasia e hipertrofia de las células de músculo liso. Varios estudios han demostrado la correlación positiva entre la presencia del polimorfismo I/D y el desarrollo de enfermedad cardiovascular en diferentes poblaciones (78,79). Sin embargo, solo pocos estudios han incluido individuos jóvenes, en quienes el componente genético ha demostrado ser más relevante (78). De acuerdo a nuestro conocimiento, este es el primer estudio que analiza la posible asociación entre el polimorfismo I/D en el gen de la ECA y la presencia de IAM en adultos jóvenes en México. Identificamos al alelo D como un factor de riesgo para IAM prematuro en pacientes mexicanos mestizos de ≤ 45 años de edad, y lo más importante el alelo D se mantuvo como factor de riesgo independiente para IAM después del ajuste con otros factores de riesgo como diabetes, hipertensión, tabaquismo, historia familiar de enfermedad coronaria y

dislipidemia. Nuestros resultados son acordes con estudios previos con individuos jóvenes, donde el genotipo D demostró su asociación con ECV (78-81).

Encontramos una alta prevalencia de homocigotos para el alelo D con un riesgo incrementado del 1.52 para infarto agudo al miocardio en este subgrupo de pacientes jóvenes. Previamente, Vaisi-Raygani et al, (82) demostraron que el alelo D/D incrementa el riesgo de ECV en individuos jóvenes menores de 55 años en 1.35 veces, también Guney et al, encontraron un incremento de 1.44 veces en el riesgo en pacientes del mismo grupo de edad, menor de 55 años (83). Además, en el estudio de Franco et al, (84) demostró en 201 pacientes y 201 controles, pareados por edad y género que el genotipo DD se asoció con un incremento en el riesgo de infarto agudo al miocardio. Sin embargo, no se encontró asociación alguna con el polimorfismo I/D y la progresión de la enfermedad. Encontraron un mayor porcentaje del genotipo I/D y DD en el grupo de pacientes II (42%), I/D (44%) y DD (14%), comprado con nuestro grupo II (31.0) I/D (51.2) y D/D (17.8) (80). (Tabla 4)

Nuestros resultados son también consistentes con otros estudios hechos en España por Álvarez et al, (85) y Japón por Hoshida et al, (86) quienes demostraron que el alelo D/D incrementa el riesgo para ECV prematura (pacientes menores de 55 años).

Cambien et al, (87) fue el primero en demostrar el posible papel del genotipo DD como factor de riesgo cardiovascular. Sin embargo, otros estudios no han demostrado asociación significativa del polimorfismo I/D y la severidad de la EAC, sólo al inicio del síndrome coronario agudo, por lo tanto, estos datos sugieren un posible papel en el mecanismo implicado en la inestabilidad de la placa, ulceración y trombosis (88).

Estudios previos han demostrado que el receptor de ECA /Ang II / AT1 se expresa en sitios estratégicos en las placas de ateroma en humanos, sugiriendo que Ang II es producida principalmente por ECA en las placas coronarias (85, 86). Además, el alelo ECA D/D se ha correlacionado con un incremento de ECA que es responsable

de la conversión de angiotensina I al péptido precursor angiotensina II que induce la producción de aldosterona (89, 90). Los niveles elevados de aldosterona influyen en la hipertensión arterial, fibrosis cardíaca, disfunción diastólica y se ha implicado en la patogénesis de la aterosclerosis.

Reportes clínicos de Kaur et al, demostraron que los pacientes que fumaban y eran portadores del genotipo ECA ID+DD tenían 2.4 el riesgo incrementado de IAM en comparación con quienes no fumaban y no eran portadores. Encontraron una distribución similar del genotipo en el grupo de pacientes comparado con el presente estudio. Demostraron que el polimorfismo AT1R 1166A/C se asocia con IAM en pacientes Indios del norte, particularmente tenían el polimorfismo ECA I/D y fumaban (91). En el presente estudio, nosotros encontramos que los individuos con alelo D y hábito tabáquico tuvieron un riesgo incrementado para IAMCEST de 2.1.

Reportes previos han demostrado que el alelo D y el tabaquismo están asociados con un incremento en los niveles de angiotensina II, se ha demostrado el incremento en la formación de aniones superóxido y la degradación de óxido nítrico, causando disfunción endotelial. El desarrollo prematuro de aterosclerosis podría estar provocado por la presencia del alelo D y el tabaquismo. Por lo tanto, la detección del alelo D podría ser útil para la prevención de IAM prematura, en individuos con historia familiar de ECV y hábito tabáquico.

En contraste, se ha encontrado una asociación negativa entre el polimorfismo I/D y ECV en población caucásica de Nueva Zelandia (55).

Se ha sugerido que estas inconsistencias pueden deberse a la diferencia de antecedentes en la población. La heterogenicidad en la asociación del polimorfismo ECA I/D con la enfermedad arterial coronaria y el IAM puede deberse a la diversidad étnica y a diversos factores genéticos y ambientales implicados en la regulación de la ECV.

Una limitante de este estudio fue que no se evaluaron los niveles de actividad de ECA. Sin embargo, estudios previos han determinado que el polimorfismo I/D podría

estar implicado en el cambio conformacional en la proteína de ECA con la consecuente modificación de los niveles de ECA (43).

El M235T y T174M son los polimorfismos de AGT más ampliamente estudiados que se han asociado con cambios en la concentración plasmática de AGT, la cual es la responsable de los niveles de angiotensina II en el plasma y en los tejidos (92).

En este estudio el genotipo MT o TT del polimorfismo M235T en el gen del angiotensinogeno representa un incremento en el riesgo para el desarrollo de IAM. Nuestros resultados son similares a los publicados por Li X et al, quienes demostraron que M235T se asocia con infarto del miocardio en población China. (93). Realizaron un meta-análisis y los resultados mostraron que M235T representa un factor de riesgo genético para población asiática. También, Rodríguez- Pérez y su grupo encontraron que el genotipo AGT-235T representa un incremento de dos veces el riesgo para EAC en población española. Sin embargo, sus resultados son diferentes a los nuestros porque no demostraron asociación entre el genotipo ECA (I/D) y pacientes con EAC en el mismo grupo de pacientes. (92).

En contraste, los datos obtenidos por Tiret et al, mostraron que el polimorfismo en el angiotensinógeno puede estar involucrado en la predisposición a hipertensión, pero no tiene impacto en el riesgo de infarto al miocardio no fatal (71). Además, el estudio previo de Singh et al, demostró que la variante M235T del AGT se asocia de manera significativa con hipertensión en mujeres y el genotipo ECA DD podría ser un factor de riesgo para hipertensión arterial en el sur de la India (94).

Nuestros resultados son similares a los encontrados por Saidi et al, que encontraron que AGT M235T, pero no AGT T174M se asociaba a un incremento en el riesgo en los Tunisinos (95).

Además, Wang et al, publicaron un meta análisis con 8,147 casos de enfermedad arterial coronaria y 5,344 controles, en el que el polimorfismo AGT T174M se asoció como factor discrepancia entre los estudios puede ser resultado de las diferencias étnicas, edad, tamaño de la muestra y criterios de ECV de los pacientes o, diferente interacción de los factores genéticos con los ambientales. Varios estudios, han

demostrado múltiples interacciones de diferentes polimorfismos que pueden contribuir al desarrollo de enfermedad aterotrombótica a edad temprana confiriendo una combinación específica en cada individuo (96-98).

Hemos demostrado previamente que la presencia del polimorfismo 4G/5G en el inhibidor del activador de plasmionógeno tipo 1 (PAI-1) representa un incremento en el riesgo en algunos grupos de pacientes, y el aumento en los niveles plasmáticos de PAI-1 estuvo presente en los portadores del alelo 4G comparado con los individuos con el alelo 5G (29). Además, el Glu298Asp en el gen del óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS) (30), y el polimorfismo en la IIIA PIA2, se asociaron con IAM (99).

En contraste el N700S del gen TSP (31), el R353Q en el gen del factor FVII de la coagulación (100), y el C677T en el gen de la 5,10 Metilendetrahidrofolato reductasa (31), no se asociaron con la enfermedad en el grupo de individuos jóvenes con enfermedad arterial coronaria.

Por lo tanto, en este trabajo se propone que los pacientes jóvenes con IAM, tienen un estado hipofibrinolítico, incremento en la agregación plaquetaria y la presencia de disfunción endotelial, lo que puede contribuir al proceso aterotrombótico y la formación prematura de placas aterotrombóticas inestables con el ulterior desarrollo de la enfermedad isquémica coronaria.

En este estudio los factores de riesgo modificables como tabaquismo, dislipidemia, historia familiar de ECV y la hipertensión representaron factores de riesgo independientes para el desarrollo de Infarto agudo al miocardio en combinación con los factores de riesgo tradicionales en cada individuo.

Aunque, la prevalencia de cada polimorfismo entre los diferentes grupos étnicos, subgrupos étnicos pueden, a su vez, mostrar diferentes tasas de portadores o susceptibilidad ambiental para polimorfismos específicos de la enfermedad, que pueden en parte explicar las diferencias étnicas y regionales en el riesgo de IAM. Basándose en el hecho de que la enfermedad cardiovascular es un proceso multifactorial, debe de esperarse que un polimorfismo común pueda tener cierto

impacto en la enfermedad cardiaca coronaria junto con otros factores de riesgo como se ha demostrado no sólo en este estudio pero también para otros polimorfismos en el mismo grupo de pacientes.

V. CONCLUSIONES

Nuestros resultados identificaron que el alelo Delección (D) del polimorfismo Inserción/Delección (I/D) de ECA y M235T del gen AGT representa un factor de riesgo independiente para IAM a edad temprana en población Mexicana y podría contribuir en la progresión de aterosclerosis y en el desarrollo de enfermedad coronaria aguda. Además, factores de riesgo modificables como tabaquismo, hipertensión, historia familiar de ECV y dislipidemia fueron factores independientemente asociados con IAM en este estudio. Se necesita un trabajo adicional para determinar el papel pronóstico de los factores genéticos asociados con un incremento en el riesgo de enfermedad arterial coronaria en individuos jóvenes, especialmente en aquellos con control exitoso de los factores de riesgo modificables.

VI. REFERENCIAS

1. American Heart Association. Web site. Disponible en www.americanheart.org
2. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Disponible en www.inegi.org.mx
3. Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease. 2005 *Circulation*; 111: 3481-3488.
4. Aikawa M, Libby P. The vulnerable atherosclerotic plaque: pathogenesis and therapeutic approach. *Cardiovascular Pathol.*2004;13:125-38.
5. Yamada Y, Ichihara S, Nishida T. Molecular genetics of myocardial infarction. *Genomic Med.* 2008;2;7-22.
6. Voetsch B, Loscalzo J. Genetic determinants of arterial thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:216-229.
7. Rissanen AM, Nikkila EA. Coronary artery disease and its risk factors in families of young men with angina pectoris and in controls. *Br Heart J* 1997;39:875-883.
8. Jorde LB, Williams RR. Relation between family history of coronary artery disease and coronary risk variables. *Am J Cardiol* 1988; 62:708-713.
9. Sorensen TI, Nielsen GG, Andersen PK, Teasdale TW. Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. *N Engl J Med* 1988; 318: 727-732.
10. Brenner's Encyclopedia of Genetics, 2nd ed, Maloy S, Hughes K (Eds), Elsevier, 2013.
11. Thordarson O, Fridriksson S. Aggregation of deaths from ischemic heart disease among first-and second-degree relatives of 108 males and 42 females with myocardial infarction. *Acta Med Scand* 1977; 205: 493-500.
12. Rose G. Familial patterns in ischemic hearts disease. *Br J Prev Soc Med.* 1964; 19: 75-80.
13. Slack J, Evans KA. The increased risk of death from ischemic heart disease in first-degree relatives of 121 men and 96 women with ischemic heart disease. *J Med Genet* 1966; 3: 329-357.
14. Jorde LB, Williams RR. Relation between family history of coronary artery disease and coronary risk variables, *Am J Cardiol* 1988; 62: 708-713.

15. Rissanen AM. Familial occurrence of coronary heart disease: Effect of age at diagnosis. *Am J Cardiol* 1979; 44: 60-66.
16. Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, Floderus B, de Faire U. Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. *N Engl J Med* 1999; 340: 1555-1564.
17. Sorensen TI, Nielsen G, Andersen OK, Teasdale TW. Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptee. *N ENGL J Med*. 1988; 318: 727-732.
18. Berg K. The genetics of the hyperlipidemias and coronary artery disease. *Prog Clin Biol Res* 1982; 103: 111-125.
19. Harvald B, Hauge. Coronary occlusion in twins. *Acta Genet Med Gemellol* 1970; 19: 248-250.
20. Pastinen T, Perola M, Niini P, Terwilliger J, Salomaa V, Vartiainen E, Peltonen L, Syvanen A. Array-based multiplex analysis of candidate genes reveals two independent and additive genetic risk factors for myocardial infarction in the Finnish population. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 1453-1462.
21. Meilahn E, Ferrell R, Kiss J, Temple A, Green FR, Humphries SE, Kuller I. Genetic determination of coagulation factor VIIc levels among healthy middle-age women. *Thromb Haemost* 1995; 73: 623-625.
22. Peyvandi F, Bernardinelli L, Martini C.H., Mannucci M. Factor VII gene polymorphisms are not associated with myocardial infarction in young women. *Journal Thromb Haemost* 2005, 3: 803-804.
23. Davies MJ. The contribution of thrombosis to the clinical expression of coronary atherosclerosis. *Thromb Res*. 1996; 82: 1-32.
24. Sherman CT, Litvack F, Grundfest W, Lee M, Hickey A, Chaux A, Kass R, Blanche C, Matloff J, Morgenstern L. Coronary angiography in patients with unstable angina pectoris. *N Engl J Med*. 1986; 315: 913-919.
25. Meade TW, Mellows S, Brozovic M, Miller GJ, Chakraborti RR, North WR, Haines AP, Stirling Y, Imeson JD., Thompson SG. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet*. 1986 Sep 6;2(8506):533-7.

26. Isordia-Salas I, Mendoza-Valdez AL, Almeida-Gutiérrez E, Borrayo-Sánchez G. Genetic factors of the hemostatic system in young patients with myocardial infarction. *Cir Cir.* 2010 Jan-Feb;78(1):93-97.
27. Yamada Y, Ichihara S, Nishida T. Molecular genetics of myocardial infarction. *Genomic Med.* 2008;2:7-22.
28. Kraus WE. Genetic approaches for the investigation of genes associated with coronary heart disease. *Am Heart J.* 2000;140:S27-35
29. Isordia-Salas I, Leños-Miranda A, Sainz IM, Reyes-Maldonado E, Borrayo-Sánchez G. Association of the plasminogen activator inhibitor-1 gene 4G/5G polymorphism with ST elevation acute myocardial infarction in young patients. *Rev Esp Cardiol.* 2009;62:365-372.
30. Isordia-Salas I, Leños-Miranda A, Borrayo-Sánchez G. The Glu298ASP polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with premature ST elevation myocardial infarction in Mexican population. *Clin Chim Acta.* 2010; 411:553-557.
31. Isordia-Salas I, Trejo-Aguilar A, Valadés-Mejía MG, Santiago-Germán D, Leños-Miranda A, Mendoza-Valdéz L, Jáuregui-Aguilar R, Borrayo-Sánchez G, Majluf-Cruz A. C677T polymorphism of the 5,10 MTHFR gene in young Mexican subjects with ST-elevation myocardial infarction. *Arch Med Res.* 2010;41:246-250.
32. Valades-Mejía MG, Domínguez-López ML, Aceves-Chimal JL, Miranda AL, Majluf-Cruz A, Isordia-Salas I. [Study of the polymorphism R353Q in the coagulation factor VII gene and the N700S in the thrombospondin-1 gene in young patients with acute myocardial infarction]. *Cir Cir.* 2014 Nov-Dec;82(6):595-606.
33. Soubrier F, Alhenc-Gelas F, Hubert C, Allegrini J, John M, Tregear G, Corvol P. Proc Natl Acad Sci U S A. Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. 1988;85:9386-9390.
34. Cicoira M, Zanolla L, Rossi A, Golia G, Franceschini L, Cabrini G, Bonizzato A, Graziani M, Anker SD, Coats AJ, Zardini P. Failure of aldosterone suppression despite angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor administration in chronic

- heart failure is associated with ACE DD genotype. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37:1808-12.
35. Murphey LJ, Gainer JV, Vaughan DE, Brown NJ. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism modulates the human in vivo metabolism of bradykinin. *Circulation.* 2000;102:829-832.
 36. Dzau VJ, Gibbons GH, Pratt RE. Molecular mechanisms of vascular renin-angiotensin system in myointimal hyperplasia. *Hypertension.* 1991;18:1100-105.
 37. Pratt RE. Regulation of vascular smooth-muscle cell growth by angiotensin II. *Blood Press Suppl.* 1996;2:6-9.
 38. Hubert C, Houot AM, Corvol P, Soubrier F. Structure of the angiotensin I-converting enzyme gene. Two alternate promoters correspond to evolutionary steps of a duplicated gene. *J Biol Chem.* 1991;266:15377-15383.
 39. Alhenc-Gelas F, Soubrier F, Hubert C, Allegrini J, Lattion AL, Corvol P. The angiotensin I-converting enzyme (kininase II): progress in molecular and genetic structure. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1990;15 Suppl 6:S25-29.
 40. Rieder MJ, Taylor SL, Clark AG, Nickerson DA. Sequence variation in the human angiotensin converting enzyme. *Nat Genet.* 1999;22:59-62.
 41. Howard TE, Shai SY, Langford KG, Martin BM, Bernstein KE. Transcription of testicular angiotensin-converting enzyme (ACE) is initiated within the 12th intron of the somatic ACE gene. *Mol Cell Biol.* 1990;10:4294-4302.
 42. Leatham E, Barley J, Redwood S, Hussein W, Carter N, Jeffery S, Bath PM, Camm A. Angiotensin-1 converting enzyme (ACE) polymorphism in patients presenting with myocardial infarction or unstable angina. *J Hum Hypertens.* 1994;8:635-638.
 43. 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;86:1343-1346.

44. Gardemann A, Weiss T, Schwartz O, Eberbach A, Katz N, Hehrlein FW, Tillmanns H, Waas W, Haberbosch W. Gene polymorphism but not catalytic activity of angiotensin I-converting enzyme is associated with coronary artery disease and myocardial infarction in low-risk patients. *Circulation*. 1995;92:2796-2799.
45. Danser AH, Schalekamp MA, Bax WA, van den Brink AM, Saxena PR, Riegger GA, Schunkert H. Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism. *Circulation*. 1995;92:1387-1388.
46. Mattu RK, Needham EW, Galton DJ, Frangos E, Clark AJ, Caulfield M. A DNA variant at the angiotensin-converting enzyme gene locus associates with coronary artery disease in the Caerphilly Heart Study. *Circulation*. 1995;91:270-274.
47. Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D, Luc G, Bard JM, Bara L, Ricard S, et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature*. 1992;359:641-644.
48. Arbustini E, Grasso M, Fasani R, Klersy C, Diegoli M, Porcu E, Banchieri N, Fortina P, Danesino C, Specchia G. Angiotensin converting enzyme gene deletion allele is independently and strongly associated with coronary atherosclerosis and myocardial infarction. *Br Heart J*. 1995;74:584-591.
49. Schunkert H, Hense HW, Holmer SR, Stender M, Perz S, Keil U, Lorell BH, Riegger GA. Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med*. 1994;330:1634-1638.
50. Perticone F, Ceravolo R, Cosco C, Trapasso M, Zingone A, Malatesta P, Perrotti N, Tramontano D, Mattioli PL. Deletion polymorphism of angiotensin-converting enzyme gene and left ventricular hypertrophy in southern Italian patients. *J Am Coll Cardiol*. 1997;29:365-29369.
51. Lindpaintner K, Pfeffer MA, Kreutz R, Stampfer MJ, Grodstein F, LaMotte F, Buring J, Hennekens CH. A prospective evaluation of an angiotensin-converting-

- enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. *N Engl J Med.* 1995;332:706-711.
52. Lindpaintner K, Lee M, Larson MG, Rao VS, Pfeffer MA, Ordovas JM, Schaefer EJ, Wilson AF, Wilson PW, Vasan RS, Myers RH, Levy D. Absence of association or genetic linkage between the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular mass. *N Engl J Med.* 1996;334:1023-1028.
53. Inoue I, Nakajima T, Williams CS, Quackenbush J, Puryear R, Powers M, Cheng T, Ludwig EH, Sharma AM, Hata A, Jeunemaitre X, Lalouel JM. A nucleotide substitution in the promoter of human angiotensinogen is associated with essential hypertension and affects basal transcription in vitro. *J Clin Invest.* 1997;99:1786-1797.
54. Zhu X, Yan D, Cooper RS, Luke A, Ikeda MA, Chang YP, Weder A, Chakravarti A. Linkage disequilibrium and haplotype diversity in the genes of the renin-angiotensin system: findings from the family blood pressure program. *Genome Res.* 2003;13:173-181.
55. Katsuya T, Koike G, Yee TW, Sharpe N, Jackson R, Norton R, Horiuchi M, Pratt RE, Dzau VJ, MacMahon S. Association of angiotensinogen gene T235 variant with increased risk of coronary heart disease. *Lancet.* 1995;345:1600-1603.
56. Renner W, Nauck M, Winkelmann BR, Hoffmann MM, Scharnagl H, Mayer V, Boehm BO, März W; LURIC Study team. Association of angiotensinogen haplotypes with angiotensinogen levels but not with blood pressure or coronary artery disease: the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study. *J Mol Med.* 2005;83:235-239
57. Lanz JR, Pereira AC, Lemos PA, Martinez E, Krieger JE. Angiotensinogen M235T polymorphism is associated with coronary artery disease severity. *Clin Chim Acta.* 2005;362:176-181.
58. Sethi AA, Nordestgaard BG, Grønholdt ML, Steffensen R, Jensen G, Tybjaerg-Hansen A. Angiotensinogen single nucleotide polymorphisms, elevated blood pressure, and risk of cardiovascular disease. *Hypertension* 2003;41:1202-1211.

59. Mondry A, Loh M, Liu P, Zhu AL, Nagel M. Polymorphisms of the insertion / deletion ACE and M235T AGT genes and hypertension: surprising new findings and meta-analysis of data. *BMC Nephrol.* 2005;6:1.
60. Sethi AA, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A: Angiotensinogen gene polymorphism, plasma angiotensinogen, and risk of hypertension and ischemic heart disease: a meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003, 23:1269-1275.
61. Tsai CT, Hwang JJ, Ritchie MD, Moore JH, Chiang FT, Lai LP, Hsu KL, Tseng CD, Lin JL, Tseng YZ. Renin-angiotensin system gene polymorphisms and coronary artery disease in a large angiographic cohort: detection of high order gene-gene interaction. *Atherosclerosis.* 2007;195:172-180.
62. Araújo MA, Goulart LR, Cordeiro ER, Gatti RR, Menezes BS, Lourenço C, Silva HD. Genotypic interactions of renin-angiotensin system genes in myocardial infarction. *Int J Cardiol.* 2005;103:27-32.
63. Mehri S, Mahjoub S, Farhati A, Bousaada R, Ben Arab S, Baudin B, Hammami M. Angiotensinogen gene polymorphism in acute myocardial infarction patients. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2010;34: 45-52.
64. Araújo MA, Menezes BS, Lourenço C, Cordeiro ER, Gatti RR, Goulart LR. [The angiotensinogen gene (M235T) and the acute myocardial infarction. *Rev Assoc Med Bras.* 2005;51:164-169.
65. Gardemann A, Stricker J, Humme J, Nguyen QD, Katz N, Philipp M, Tillmanns H, Hehrlein FW, Haberbosch W. Angiotensinogen T174M and M235T gene polymorphisms are associated with the extent of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 1999;145:309-314.
66. Olivieri O, Stranieri C, Girelli D, Pizzolo F, Grazioli S, Russo C, Pignatti PF, Corrocher R. Homozygosity for angiotensinogen 235T variant increases the risk of myocardial infarction in patients with multi-vessel coronary artery disease. *J Hypertens.* 2001 ;19:879-884.

67. Manohar Rao PP, Munshi A, Mullapudi R, Kumar PS, Sharath A, Krishna GA, Sadhnani M. The M235T polymorphism of the angiotensinogen gene in South Indian patients of hypertrophic cardiomyopathy. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2010;27:43-47.
68. Mehri S, Koubaa N, Hammami S, Mahjoub S, Chaaba R, Nakbi A, Zouari B, Abid M, Ben Arab S, Baudin B, Hammami M. Genotypic interactions of renin-angiotensin system genes with diabetes type 2 in a Tunisian population. *Life Sci.* 2010;87:49-54.
69. Procopciuc LM, Sitar-Tăut A, Pop D, Sitar-Tăut DA, Olteanu I, Zdrenghea D. Renin angiotensin system polymorphisms in patients with metabolic syndrome (MetS). *Eur J Intern Med.* 2010;21:414-418.
70. Petrovic D, Zorc M, Kanic V, Peterlin B. Interaction between gene polymorphisms of renin-angiotensin system and metabolic risk factors in premature myocardial infarction. *Angiology.* 2001;52:247-252.
71. Tiret L, Ricard S, Poirier O, Arveiler D, Cambou JP, Luc G, Evans A, Nicaud V, Cambien F. Genetic variation at the angiotensinogen locus in relation to high blood pressure and myocardial infarction: the ECTIM Study. *J Hypertens.* 1995 Mar;13(3):311-7
72. Winkelmann BR, Russ AP, Nauck M, Klein B, Böhm BO, Maier V, Zotz R, Matheis G, Wolf A, Wieland H, Gross W, Galton DJ, März W. Angiotensinogen M235T polymorphism is associated with plasma angiotensinogen and cardiovascular disease. *Am Heart J.* 1999;137:698-705.
73. Motawi T, Shaker O, Taha M, Sedrak H, Nabil M. Endothelial nitric oxide synthase and angiotensinogen gene polymorphism in coronary artery diseases in Egypt. *Angiology.* 2011;62:191-197.
74. Schelleman H, Klungel OH, Witteman JC, Breteler MM, Yazdanpanah M, Danser AH, Hofman A, van Duijn CM, de Boer A, Stricker BH. Angiotensinogen M235T polymorphism and the risk of myocardial infarction and stroke among hypertensive patients on ACE-inhibitors or beta-blockers. *Eur J Hum Genet.* 2007;15:478-484.

75. Sethi AA, Tybjaerg-Hansen A, Grønholdt ML, Steffensen R, Schnohr P, Nordestgaard BG. Angiotensinogen mutations and risk for ischemic heart disease, myocardial infarction, and ischemic cerebrovascular disease. Six case-control studies from the Copenhagen City Heart Study. *Ann Intern Med.* 2001;134:941-954.
76. Jamil G, Jamil M, Alkhazraji H, Haque A, Chedid F, Balasubramanian M, Khairallah B, Qureshi A. Risk factor assessment of young patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiovasc Dis.* 2013;3:170-174.
77. Nordlie MA, Wold LE, Kloner RA. Genetic contributors toward increased risk for ischemic heart disease. *J Mol Cell Cardiol* 2005.39:667-679.
78. Al-Hazzani A, Daoud MS, Ataya FS, Fouad D, AL-Jafari AA. Renin-angiotensin system gene polymorphism among Saudi patients with coronary artery disease. *J Biol Res (Thessalon).* 2014;21:8.
79. Hamelin BA, Zakrzewski-Jukubiak M, Robitaille NM; Bogaty P, Labbé L, Turgeon J. Increased risk of myocardial infarction associated with angiotensin-converting enzyme gene polymorphism is age dependent. *J Clin Pharmacol.* 2011;51:1286-1292.
80. Freitas Ana I, mendoca I, Brion M, Sequeira MM, Reis RP, Carracedo A, Brehm A. RAS gene polymorphism, classical risk factors and the advent of coronary artery disease in the Portuguese population. *BMC Cardiovasc Disord.* 2008 Jul 17;8:15. doi: . doi: 10.1186/1471-2261-8-15.
81. Sekuri C, Cam FS, Ercan E, Tengiz I, Sagcan A, Eser E, Berdeli A, Akin M. Renin-angiotensin system gene polymorphisms and premature coronary heart disease. *Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2005;6:38-42.

82. Vaisi-Raygani A1, Ghaneialvar H, Rahimi Z, Nomani H, Saidi M, Bahrehmand F, Vaisi-Raygani A, Tavilani H, Pourmotabbed T. The angiotensin converting enzyme D allele is an independent risk factor for early onset coronary artery disease. *Clin Biochem.* 2010;43:1189-1194.
83. Guney AI, Ergec D, Kirac D, Ozturhan H, Caner M, Koc G, Kaspar C, Ulucan K, Agirbasli M. Effects of ACE polymorphisms and other risk factors on the severity of coronary artery disease. *Genet Mol Res.* 2013;12:6895-6906.
84. Franco E, Palumbo L, Crobu F, Anselmino M, Frea S, Matullo G, Piazza A, Trevisan GP, Bergerone S. Renin-angiotensin-aldosterone system polymorphisms: a role or a hole in occurrence and long-term prognosis of acute myocardial infarction at young age. *BMC Med Genet.* 2007;8:27.
85. Alvarez R, Reguero JR, Batalla A, Iglesias-Cubero G, Cortina A, Alvarez V, Coto E. Angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor 1 polymorphisms: association with early coronary disease. *Cardiovasc Res.* 1998;40:375-379.
86. Hoshida S1, Kato J, Nishino M, Egami Y, Takeda T, Kawabata M, Tanouchi J, Yamada Y, Kamada T. Increased angiotensin-converting enzyme activity in coronary artery specimens from patients with acute coronary syndrome. *Circulation.* 2001;103:630-633.
87. Cambien F1, Costerousse O, Tiret L, Poirier O, Lecerf L, Gonzales MF, Evans A, Arveiler D, Cambou JP, Luc G, Rakotovo R, Ducimetiere P, Soubrier F, Alhenc-Gelas F. Plasma level and gene polymorphism of angiotensin-converting enzyme in relation to myocardial infarction. *Circulation.* 1994;90:669-676.
88. Igić R, Behnia R. Properties and distribution of angiotensin I converting enzyme. *Curr Pharm Des.* 2003;9:697-706.

89. Schieffer B, Schieffer E, Hilfiker-Kleiner D, Hilfiker A, Kovanen PT, Kaartinen M, Nussberger J, Harringer W, Drexler H. Surg Neurol. 2004; 62: 292-301.
90. Morioka M, Hamada J, Hashiguchi A, Hasegawa Y, Todaka T, Yano S, Kai Y, Miura M, Fujioka S, Ushio Y. Contribution of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II to ischemic stroke: their role in the formation of stable and unstable carotid atherosclerotic plaques. Surg Neurol. 2004;62:292-301
91. Kaur R, Das R, Ahluwalia J, Kumar RM, Talwar KK. Synergistic effect of angiotensin II type-1 receptor 1166A/C with angiotensin-converting enzyme polymorphism on risk of acute myocardial infarction in north Indians. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst. 2012;13:440-445.
92. Rodríguez-Pérez JC, Rodríguez-Esparragón F, Hernández-Perera O, Anabitarte A, Losada A, Medina A, Hernández E, Fiuza D, Avalos O, Yunis C, Ferrario CM. Association of angiotensinogen M235T and A(-6)G gene polymorphisms with coronary heart disease with independence of essential hypertension: the PROCAGENE study. Prospective Cardiac Gene. J Am Coll Cardiol. 2001;37:1536-1542. M235T
93. Li X, Li Q, Wang Y, Li Y, Ye M, Ren J, Wang Z. AGT gene polymorphisms (M235T, T174M) are associated with coronary heart disease in a Chinese population. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst. 2013;14:354-359.
94. Dhanachandra Singh Kh, Jajodia A, Kaur H2, Kukreti R, Karthikeyan M. Gender specific association of RAS gene polymorphism with essential hypertension: a case-control study. Biomed Res Int. 2014;2014:538053. doi: 10.1155/2014/538053.

95. Saidi S, Mallat SG, Almawi WY, Mahjoub T. Association between renin-angiotensin-aldosterone system genotypes and haplotypes and risk of ischemic stroke of atherosclerotic etiology. *Acta Neurol Scand.* 2009;119:356-363.
96. Bardeli A, Sekuri C, Sirri Cam F, Ercan E, Segcan A, Tengiz I, Eser E, Akin M. Association between the eNOS (Glu298Asp) and the RAS genes polymorphisms and premature coronary artery disease in a Turkish population. *Clin Chim Acta.* 2005;351:87-94.
97. Zhang AY, Ji XW, Zhang AJ, Guan LX, Huang J, Wang JX. Role of Genetic Polymorphism of Angiotensin-Converting Enzyme, Plasminogen Activator Inhibitor-1 and Endothelial Nitric Oxide Synthase in the Prognosis of Coronary Artery Disease.
98. Martínez-Quintana E1, Chirino R, Nieto-Lago V, Pérez-Jiménez P, López-Ríos L, Rodríguez-González F. Prognostic value of ACE I/D, AT1R A1166C, PAI-I 4G/5G and GPIIIa a1/a2 polymorphisms in myocardial infarction. *Cardiol Res.* 2010;1:8-14.
99. Santiago-Germán D, Leaños-Miranda A, García-Latorre E, Borrayo-Sánchez G, Majluf-Cruz A, Isordia-Salas I. Platelet glycoprotein IIIA PIA2 polymorphism is associated with ST elevation acute myocardial infarction in young Mexican population. *J Thromb Thrombolysis.* 2012;33:389-396.
100. Valades-Mejía MG, Domínguez-López ML, Aceves-Chimal JL, Miranda AL, Majluf-Cruz A, Isordia-Salas I. Study of the polymorphism R353Q in the coagulation factor VII gene and the N700S in the thrombospondin-1 gene in young patients with acute myocardial infarction. *Cir Cir.* 2014;82:595-606

VII. ANEXOS

1. HOJA DE ESPECIFICACION DE TÉCNICAS
2. HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.
3. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

ANEXO 1

Extracción de la muestra sanguínea: Se extrajo de la vena antecubital 5 ml de sangre total, la cual fue colectada en un tubo conteniendo EDTA, el cual fue centrifugado a 2500 g por 10 minutos. Posteriormente, la capa superior (plasma) fue retirada cuidadosamente tratando de no perturbar la siguiente capa en donde se encuentra localizado el contenido de células mononucleares (buffy coat), la cual, posteriormente, fue transferida con una pipeta de transferencia de plástico estéril a un tubo de plástico eppendorf estéril de 1.5 ml libre enzimas (RNasas y DNasas). Finalmente, el concentrado eritrocitario, el cual se encontraba en la capa inferior, se desechó en un contenedor destinado para material (residuos peligrosos).

Extracción de ADN: Se utilizó el equipo comercialmente disponible de la marca Qiagen (QIAamp DNAMini Kit) de acuerdo a las instrucciones establecidas por la compañía. Una vez extraído el ADN se procedió a su conservación en un refrigerador a -70 ° C, hasta su posterior empleo para la amplificación de los segmentos correspondientes.

Genotipificación de la inserción/delección en el gen de la ECA:

Después de la extracción de ADN se procedió a la amplificación del fragmento de interés mediante el uso de la técnica de biología molecular PCR-RFLP con los siguientes oligonucleótidos: (sentido) 5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3' Y (contrasentido) 5' GAT GTG GCC ATC TTC GTC AGA T-3' en un volumen final de 50 microlitros conteniendo 3 Mm cLMG, 50 Mm KCl, 10 Mm Tris-HCL (pH 8.4), 0.5 mM de cada dNTP (Promega) and 1 unidad de Taq polimerasa (Promega). La amplificación se llevara a cabo en un termociclador marca Applied Biosystem bajo las siguientes condiciones térmicas desnaturalización a 94°C por 1 min, alineación a 58°C por 1 min y extensión a 72°C por 2 min repetidos por 30 ciclos. Los productos de PCR fueron separados mediante un gel de agarosa al 3% y

visualizados mediante bromuro de etidio en un transiluminador de luz UV. La interpretación genotípica se basó en el reconocimiento de las bandas de 190 y 400 pares de bases para la delección (D) e inserción (I), respectivamente.

Determinación del nivel plasmático de ECA:

Se determinó mediante el uso de un Kit comercial basado en la técnica inmunoenzimática (ELISA), la cual consiste en un anticuerpo monoclonal de ratón anti ECA humano y este se une a la ECA circulante en plasma del paciente o del control. Posteriormente, se adiciona un segundo anticuerpo marcado con una enzima de peroxidasa de rábano picante, se adiciona un substrato el cual desarrolla color y nos indica de una manera proporcional la cantidad de ECA contenida en la muestra en estudio. Los resultados obtenidos fueron comparados previamente a una curva estándar.

Genotipificación del polimorfismo M235T en el gen del angiotensinógeno:

Después de la extracción de ADN se procedió a la amplificación del fragmento de interés mediante el uso de la técnica de biología molecular PCR-RFLP con los siguientes oligonucleótidos: (sentido) 5'-CTG GAG ACC CCT CCC ATC CTT TCT-3' Y (contrasentido) 5' GAT CGT GCC ATC ATC CTG AGA T-3' en un volumen final de 50 microlitros conteniendo 3 Mm CIMg, 50 Mm Kcl, 10 Mm Tris-HCL (pH 8.4), 0.5 mM de cada dNTP (Promega) and 1 unidad de Taq polimerasa (Promega). La amplificación se llevara a cabo en un termociclador marca Applied Biosystem bajo las siguientes condiciones térmicas desnaturalización a 94°C por 1 min, alineación a

58°C por 1 min y extensión a 72°C por 2 min repetidos por 30 ciclos. Una extensión final de 15 min a 72°C. Los productos de PCR serán separados mediante un gel de agarosa al 3% y serán visualizados mediante bromuro de etidio en un transiluminador de luz UV. Los productos obtenidos serán restringidos con la enzima específica Hinf I. La interpretación genotípica se basará en el reconocimiento de las bandas de M (240pb) y T (340pb) respectivamente.

ANEXO 2

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN TROMBOSIS HEMOSTASIA Y
ATEROGÉNESIS. H.G.R. No.1 DR. "CARLOS MAC GREGOR SANCHEZ NAVARRO"

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Por medio de la presente yo _____ doy mi autorización a la Dra. Irma Isordia Salas y colaboradores para participar en el estudio de investigación titulado **"FRECUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS INSERCIÓN/DELECIÓN EN EL GEN DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA Y EL M235T EN EL GEN DEL ANGIOTENSINÓGENO EN PACIENTES CON INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO"**, mismo que consiste en la toma de muestra sanguínea (10ml) para la determinación de la presencia de dichos polimorfismos mediante técnicas de biología molecular forma parte del estudio integral de mi padecimiento; mi participación es voluntaria. En caso de negarme, dicha decisión no repercutirá en lo absoluto en mi tratamiento.

Se me ha explicado ampliamente el procedimiento y debido a que no implica ningún riesgo y conozco de manera precisa la gravedad de mi enfermedad, firmo de conformidad.

Nombre y firma del paciente _____

Domicilio _____

Fecha _____

Nombre y firma del testigo _____

Nombre y firma del testigo _____

Responsable: Dr. en C. Irma Isordia Salas Teléfono: 56395822 Ext. 22853

Dirección Gabriel Mancera No. 222 Col del Valle CP 03100

ANEXO 3

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN TROMBOSIS HEMOSTASIA
Y ATEROGÉNESIS. H.G.R. No.1 DR. CARLOS MAC GREGOR SÁNCHEZ
NAVARRO

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

PROTOCOLO: "FRECUENCIA DE LOS POLIMORFISMO
INSERCIÓN/DELECIÓN EN EL GEN DE LA ENZIMA CONVERTIDORA
DE ANGIOTENSINA Y EL M235T EN EL GEN DEL
ANGIOTENSINÓGENO EN PACIENTES CON INFARTO AGUDO DE
MIOCARDIO"

Nombre: _____

No. Afiliación: _____

Edad: _____ Sexo: _____ Tel: _____

Peso: _____ Talla: _____ IMC: _____ Sedentarismo: _____

Tabaquismo: _____ AFD: _____ AFEC: _____

DM: _____ HAS: _____ HDL _____ VLDL _____

Micro albuminuria : _____ Acido úrico: _____ LDL: _____

Glucosa: _____ Colesterol: _____

Triglicéridos: _____ Fibrinógeno: _____

Hemoglobina: _____ Hematócrito: _____

Leucocitos: _____ Plaquetas: _____

Presión diastólica: _____ Presión sistólica: _____

Medicamentos antihipertensivos: _____

Medicamentos hipoglucemiantes: _____

Otro tipo de medicamentos: _____

AFD: Antecedentes Familiares de Diabetes

AFECV= Antecedentes Familiares de enfermedad cardiovascular

DM: Diabetes Mellitus HAS: Hipertensión Arterial Sistémica

HDL: Lipoproteínas de alta densidad LDL: Lipoproteínas de baja densidad

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad