

Frecuencia aumentada del alelo D y el genotipo DD del gen de la enzima convertidora de angiotensina en pacientes con un primer evento coronario

Nelsy Loango^{1,3}, Ramiro Vargas^{2,3}, José H. Osorio⁴, Martha L. Gallego³, Patricia Landázuri^{3*}

¹ Facultad de Ciencias Básicas, Programa de Biología. ² Facultad de Educación, Programa de Licenciatura en Biología.

³ Grupo de Investigación en Enfermedades Cardiovasculares y Metabólicas. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad del Quindío. Armenia-Quindío, Colombia.

⁴ Grupo de Investigación Biosalud. Laboratorio de Patología Molecular. Departamento de Ciencias Básicas de la Salud. Universidad de Caldas. Manizales-Caldas, Colombia.

*plandazu@uniquindio.edu.co

Recibido: 18-02-2010; Aceptado: 21-04-2010

Resumen

Objetivo. Evaluar la frecuencia alélica y genotípica del polimorfismo I/D del gen de la ECA y la actividad enzimática en un grupo de pacientes colombianos con infarto del miocardio (IM) y en un grupo de individuos sanos. **Materiales y métodos.** Se estudiaron 41 pacientes con diagnóstico de IM admitidos consecutivamente en el Hospital Universitario San Juan de Dios y 39 sujetos sin evidencia clínica de síndrome coronario. Los genotipos se determinaron por reacción en cadena de la polimerasa y la actividad enzimática por espectrofotometría. **Resultados.** La distribución de los polimorfismos en los pacientes fue: II 14,6%, ID 34,1% y DD 51,2%; en controles: II 30,8%, ID 28,2% y DD 41,0%; sin diferencias significativas. Los sujetos ID y DD fueron combinados, después de ajustar por otras variables, el riesgo del IM en ellos fue 3,5 veces mayor que el riesgo en aquellos con alelo I, (IC 95%: 1,2-10,4 p=0,02). La actividad de la enzima fue mayor en los sujetos con alelo D, excepto para pacientes medicados con inhibidores de la enzima. **Conclusiones.** Los resultados muestran una mayor frecuencia del alelo D y del genotipo DD en pacientes con un primer IM, además confirman una variación en los niveles de actividad de la ECA influenciados por el genotipo I/D. Estos resultados soportan un aumento de riesgo de IM en sujetos colombianos portadores del alelo D.

Palabras clave: factores de riesgo, polimorfismo, enzima convertidora de angiotensina, hipertensión, infarto del miocardio.

Abstract

Increased frequency of the D allele and the DD genotype of the angiotensin-converting enzyme in patients with a first coronary event. Objective. To evaluate the genotypic and allelic frequencies of the I/D polymorphism of the ACE gene and the enzymatic activity in a group of Colombian patients with myocardial infarction (MI) and in a group of healthy subjects. **Materials and Methods.** We examined 41 patients diagnosed MI and admitted consecutively in the San Juan de Dios Hospital, and 39 subjects with no clinical evidence of coronary syndrome. ACE genotypes were determined by means of the polymerase chain reaction and the enzyme activity using spectrophotometry. **Results.** Polymorphism distribution among the patients was II 14.6%, ID 34.1%, and DD 51.2%, whilst in the control group it was II 30.8%, ID 28.2% and DD 41.0%, without significant differences between groups. ID and DD subjects were combined and after adjustment for other variables, their risk of MI was 3.5 times higher than in those subjects with the I allele (95% IC: 1.2-10.4 p=0.02). Enzyme activity was higher in subjects with the D allele, except in patients with enzyme inhibitor medication. **Conclusions.** Results show a higher frequency of the D allele and the DD genotype in patients with a first myocardial infarction, besides confirming a variation in the ACE activity levels influenced by the I/D. Our findings provide evidence of an increased risk of MI in Colombian subjects with the D allele.

Key words: angiotensin-converting enzyme, hypertension, myocardial infarction, polymorphism, risk factors.

Resumo

Aumento da frequência de alelo D e do genótipo DD do gene da enzima conversora da angiotensina em pacientes com um primeiro evento coronariano. **Objetivo.** Avaliar a frequência genotípica e alélica do polimorfismo I/D do gene da ECA e atividade da enzima em pacientes colombianos com um primeiro evento coronariano e com um grupo de indivíduos saudáveis. **Materiais e métodos.** Foram estudados 41 pacientes com diagnóstico de infarto do miocárdio (IM), consecutivamente admitidas em Hospital Universitário de San Juan de Dios e 39 indivíduos sem evidência clínica de IM. Genótipos foram determinados pela técnica de PCR reação em cadeia e atividade enzimática por espectrofotometria. **Resultados.** A distribuição de polimorfismos nos pacientes: II: 14,6%, ID: 34,1% e DD 51,2%, nos controles: II: 30,8%, ID: 28,2% e DD 41,0%, sem diferenças significativas. ID e DD temas foram combinados, após o ajuste para outras variáveis, o risco de enfarte, neles, foi 3,5 vezes maior do que o risco nos doentes com o alelo I (95% CI 1,2-10,4 p = 0,02). A atividade da enzima foi maior em indivíduos com alelo D, exceto para os pacientes medicados com inibidores da enzima. **Conclusões.** Os resultados mostram uma maior frequência do alelo D e do genótipo DD em pacientes com infarto do miocárdio em primeiro lugar, também confirmou uma mudança no nível de atividade influenciada pelo genótipo I/D da ECA. Estes resultados suportam um risco aumentado de enfarte do miocárdio em indivíduos portadores do alelo D colombiano

Palavras-chave: os fatores de risco, polimorfismo enzima conversora de angiotensina, hipertensão arterial, infarto do miocárdio.

Introducción

La enfermedad arterial coronaria (EC), continúa siendo una de las causas más frecuentes de muerte en la mayor parte de los países occidentales (1). El infarto agudo de miocardio supone alrededor de un tercio de esta mortalidad en Colombia (2) y utiliza un considerable porcentaje de los recursos de salud en el país constituyéndose en una carga asistencial importante en el sistema hospitalario. Se calcula que el número total anual de pacientes con enfermedad coronaria está alrededor de 28.000 individuos al año (1, 2). El comportamiento genético de la enfermedad coronaria ha sido ampliamente evaluado en multitud de estudios, los cuales han demostrado que hay susceptibilidad genética al padecimiento de la enfermedad, que no puede explicarse sólo por factores de riesgo individual y ambiental y que dicha susceptibilidad está fundamentada en variaciones en los genes involucrados con la EC (3, 4).

Entre los genes candidatos relacionados con la EC, se encuentran los genes del sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA), de todos ellos el polimorfismo inserción-delección (I/D) de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), ha adquirido singular importancia en el estudio de la EC, dado su papel relevante en la modulación de la presión sanguínea y en la acción de remodelación cardíaca que tiene su producto, la angiotensina II (AII), (5). Se conoce que el genotipo DD de este polimorfismo se acompaña de concentraciones plasmáticas y celulares más elevadas de actividad de la ECA, así como de mayor concentración local de AII, que el genotipo II; el genotipo ID está ubicado en lugares intermedios de niveles de ECA (6, 7). Sin embargo, los estudios de asociación entre EC y polimorfismo I/D, son contradictorios (8-11). En unos se encuentra asociación (8, 9) y en otros no (10, 11), pero en

la mayoría de ellos, se ha encontrado mayor frecuencia del genotipo DD en pacientes con cardiopatías y sin factores de riesgo coronario conocidos (8-11). A partir de muchos de los estudios donde se asocia el genotipo DD con EC, se ha considerado la presencia de este genotipo como un predictor independiente de riesgo importante para la enfermedad (12). Adicionalmente, los datos que existen sobre la distribución de los distintos genotipos en poblaciones diferentes son escasos y contradictorios, así, en Japón, país donde la prevalencia de EC es baja, se ha hallado baja frecuencia del alelo D (9). Mientras en otras poblaciones no se encontró asociación entre el polimorfismo I/D y la incidencia de cardiopatía (12), lo que significa que la relación puede ser dependiente de la población. En Colombia se han realizado algunos trabajos sobre la relación entre este polimorfismo y los niveles de enzima en algunos grupos poblacionales (13, 14) y hasta donde se conoce uno en población con EC (14), razón por la cual se planteó en este trabajo establecer la relación entre el polimorfismo ID y la enfermedad coronaria con los niveles de la ECA.

Materiales y métodos

Diseño del estudio

En este estudio se compararon 41 individuos con síndrome coronario agudo, llamados pacientes (25 hombres y 16 mujeres), con 39 individuos llamados controles (21 hombres y 18 mujeres) con similar edad, (entre 18-60 años) e índice de masa corporal (IMC). El tamaño de la muestra fue condicionada al número de pacientes que ingresaron de manera consecutiva al Hospital Universitario San Juan de Dios de Armenia en un periodo de 9 meses (febrero-octubre de 2006), sin límite de edad.

El infarto agudo del miocardio (incluido angina estable o inestable, con o sin signos electrocardiográficos del segmento ST elevado), fue definido por la presencia de síntomas cardíacos isquémicos (dolor, opresión o malestar generalmente torácico), cambios isquémicos en el electrocardiograma y aumento de la creatinina fosfato kinasa plasmática por lo menos dos veces del nivel normal. Se excluyeron pacientes fuera del rango de edad, con historia de enfermedad coronaria aguda resultado del uso de drogas tales como carbamazepina, anfetaminas, o consumo de cocaína. Adicionalmente también fueron excluidos pacientes con falla renal aguda, diabetes mellitus, hipotiroidismo o falla cardíaca crónica. Los controles fueron pacientes ambulatorios de la misma institución, sin evidencia clínica de síndrome coronario agudo, que acudieron a los servicios por chequeos o consultas no relacionadas con enfermedad cardíaca isquémica. Los criterios de exclusión fueron los mismos de los pacientes. Todos los participantes (pacientes y controles) del estudio fueron de Colombia, país cuya población se compone predominantemente de una mezcla de europeos (caucasianos), africanos, (negroides) y amerindios (mongoloides), (15,16). La población de Quindío pertenece a la autonombrada “comunidad Paisa” (15-16), según estimativas de Jiménez y colaboradores (16) la “comunidad Paisa” es conformada por el 85% de blancos y el 15% de amerindios.

Todos los individuos firmaron un consentimiento informado y llenaron una encuesta con datos básicos. El proyecto fue aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad del Quindío.

Toma de muestras

Las muestras sanguíneas en los controles fueron obtenidas entre 8 y 12 horas después de la presentación de los síntomas y antes del inicio de cualquier terapia trombolítica o anticoagulante y transferidas a un tubo sin anticoagulante (para la determinación de la ECA) y un tubo con EDTA (para la obtención del ADN). El suero fue obtenido inmediatamente por centrifugación a 4°C, por 15 minutos a 3000 rpm. Se almacenó a 20°C para análisis posteriores. En los controles las muestras fueron obtenidas después de un ayuno de 12 horas.

Actividad de la ECA

La actividad de la ECA fue determinada en suero, usando el método de Ronca-Testoni (17) modificado por el laboratorio de Bioquímica y Genética de la Universidad del

Quindío que se basa en la hidrólisis enzimática del Furilacrilóil-L-Fenilalanil-glicil-glicina (FAPGG), por la ECA del suero, hasta Furilacrilóil-L-Fenil (FAP) y glicil-glicina (Gly-Gly). Brevemente: a 25 µl del suero se le adicionaron 225 µl de agua destilada, 250 µl de buffer ensayo (0,8 mM FAPGG, 400 mM NaCl, 50 mM de HEPES, pH 8,25 ± 0,2). Se incubó a 37°C durante 20 minutos. Para parar la reacción enzimática, se disminuyó la temperatura a < 24°C. Finalmente se leyó la absorbancia a 345 nm utilizando un espectrofotómetro Génesis 5; como blanco se utilizó el mismo suero con EDTA 3,3mM y se procedió con las mismas condiciones que con las muestras. Todos los ensayos fueron hechos por triplicado.

Polimorfismo I/D

La extracción de ADN se realizó utilizando el estuche Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega) en sangre total siguiendo las instrucciones del fabricante. El polimorfismo del gen de la ECA fue determinado por el método descrito por Rigart y col. (18), utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Brevemente: A 200 ng de ADN genómico se le agregó 0.5 mM de (dNTP's), 2.5 mM MgCl₂, buffer de PCR 10X, 10 pmol de los siguientes oligonucleótidos: (ACE1) CTGGAGACCACTCCCA TCCTTTCT, (ACE2) GATGTGGCCATCACATTCGT-CAGAT) y 2.0U Taq DNA polimerasa (GIBCO USA), para un volumen final de 25 µl. La amplificación del ADN se hizo en termociclador MJ Research PTC-100 con los siguientes ciclos: Desnaturalización inicial 94°C durante 1 minuto, seguida por 30 ciclos, de desnaturalización 94°C x 1 minuto, alineamiento 63°C x 1 minuto, extensión 72°C x 2 minutos y un ciclo de extensión final a 72°C x 10 minutos.

Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa al 2% y visualizados bajo luz ultravioleta con bromuro de etidio al 0,025%.

Para la interpretación de los resultados se definió que la presencia de una sola banda de 190 pb indica un individuo homocigoto para la delección y su genotipo es DD, la presencia de una sola banda de 490 pb indica un individuo homocigoto para la inserción y su genotipo es II, finalmente la presencia de ambas bandas indica un individuo heterocigoto y su genotipo es ID. Para prevenir errores en la tipificación de los heterocigotos ID como DD, a todas las muestras DD se les realizó una segunda PCR con un primer específico para la inserción (TTTGAGACGGAGT CTCGCTC), reduciendo así, la subestimación de los heterocigotos.

Definición de variables

Hipertensión fue definida como una presión sistólica por arriba de 140 mm Hg y presión diastólica por arriba de 90 mm Hg; sedentarismo fue definido como ejercicio menor a tres días por semana; fumadores como consumo de cigarrillo al menos una vez por mes. Dislipidemia como colesterol total > 200 mg/dl; y/o colesterol lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) >150 mg/dl (19).

Análisis estadístico

Las frecuencias de los alelos y genotipos se estimaron por conteo directo de los mismos. Se realizó el test de Chi cuadrado para verificar si las frecuencias observadas de los genotipos guardaban concordancia con las esperadas bajo la hipótesis de Hardy-Weinberg. Para comparar niveles de ECA entre los grupos de genotipos se utilizó análisis de varianza de una vía (ANOVA). Se realizó un análisis de regresión múltiple para determinar el efecto independiente del genotipo DD y del alelo D sobre el infarto del miocardio. Para ello se usó un modelo en el que se asume un efecto dominante del alelo D, entonces los individuos con alelo D fueron comparados con los individuos con alelo I. Todos los datos son presentados como la media \pm la desviación estándar. El nivel de significancia se estableció a $P < 0,05$. Para el análisis estadístico se empleó el programa SPSS (versión 11,5).

Resultados

Características básicas de los sujetos de estudio

La distribución de la población fue homogénea por edad y por sexo. La **Tabla 1** muestra las características básicas de la población. Los datos indican que en las variables edad, peso, e índice de masa corporal, no se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos. El 63,4% de los pacientes (26 individuos) ingresados al grupo de pacientes tuvieron diagnóstico de angina inestable; 31,7% (13 individuos), de cuadros de infartos con ST elevado, 2,4% (1 individuo) con ST no elevado y 2,4% de pacientes (1 individuo) con angina estable.

Factores de riesgo cardiovascular

La tabla 1 también muestra los factores de riesgo cardiovascular encontrados en la población de estudio. Algunos de éstos fueron más frecuentes en los pacientes que en controles ($p < 0,05$). El análisis de regresión mostró que el colesterol total y el c-LDL influyen significativamente en el infarto del miocardio en estos pacientes $p = 0,002$ y $p = 0,003$ respectivamente.

Distribución genotípica y alélica

La **Tabla 2** indica la distribución genotípica y alélica del polimorfismo I/D del gen de la ECA entre los dos grupos.

Tabla 1. Características básicas de la población de estudio

Variables	Pacientes n= 41	Controles n= 39	p
Sexo M/F	25/16	21/18	-
Edad	51,8 \pm 7,4	49,8 \pm 9,2	0,56
IMC kg/m ²	25,5 \pm 4,8	25,6 \pm 4,7	0,26
PS (mmHg)	128,2 \pm 28,5	120,9 \pm 20,5	0,45
PD (mmHg)	78,9 \pm 16,4	72,9 \pm 13,3	0,55
Hipertensión (%)	24 (58,5)	1 (2,6)	<0,0001
Dislipidemia (%)	9 (22,0)	3 (7,7)	0,06
Sedentarismo (%)	24 (58,5)	16 (41,0)	0,09
AEC %	33 (80,5)	0 (0)	<0,0001
AHTA%	24 (58,5)	15 (38,5)	0,058
Tabaquismo (%)	25 (61,0)	12 (30,8)	0,006

IMC: índice de masa corporal, PS: presión sistólica, PD: presión diastólica. AEC: Antecedentes de enfermedad cardiovascular, AHTA: Antecedentes de hipertensión arterial.

Tabla 2. Distribución alélica y genotípica de la población de estudio

Frecuencias	Población n=80	Pacientes n=41	Controles n=39
Genotípicas			
II	18 (22,5)	6 (14,6)	12 (30,8)
ID	25 (31,3)	14 (34,1)	11 (28,2)
DD	37 (46,3)	21 (51,2)	16 (41,0)
Alélicas			
I	61 (38,1)	26 (31,7)	35 (44,9)
D	99 (61,9)	56 (68,3)	43 (55,1)

Los porcentajes se muestran en paréntesis.

La prueba χ^2 cuadrado indicó que la población no estaba en equilibrio de Hardy Weinberg ($p=0,24$). Es decir, se encontró diferencia entre los valores observados de las frecuencias alélicas y genotípicas y los valores esperados.

El genotipo II fue más frecuente en los controles (30,8%) que en los pacientes (14,6%), mientras la frecuencia del genotipo DD fue de 51,2% en los pacientes y de 41,0% en los controles, sin ser significativas las diferencias genotípicas. Cuando se determinó la presencia del alelo D (combinación de los sujetos DD+ID). El alelo D fue más frecuente en los pacientes (68,3%) comparado con los controles (55,1%) OR= 3,5, (IC 95% 1,2, 10,4; $p=0,02$).

Actividad de la enzima

La tabla 3 muestra la actividad de la ECA por grupos de estudio y por genotipos. La actividad de la enzima por genotipos fue de acuerdo a lo descrito en la literatura distribuyéndose así: DD>ID>II, en los controles y en los pacientes fue ID>II>DD. Para los genotipos ID e II, la actividad de la enzima fue ligeramente más alta en los pacien-

Tabla 3. Actividad de la de ECA entre los genotipos de los grupos de estudio

Genotipo	Pacientes (n)	Controles (n)
II	90 ± 48,0 (6) [†]	73 ± 47,3 (12)
ID	92 ± 53,9 (14) [†]	76 ± 42,1 (11)
DD	84 ± 41,6 (21)*	120 ± 57,9 (16)

* $p<0,05$ comparado con los controles; [†] $p<0,05$, comparados con el genotipo DD.

tes que en los controles, sin diferencias significativas. En los controles la actividad de la enzima fue mayor en el genotipo DD cuando se le compara con los otros dos genotipos, con diferencia significativa ($p=0,02$).

La tabla 4 muestra el número de pacientes y controles con hipertensión, la distribución genotípica y el uso de medicamentos antihipertensivos (AH). Los datos indican que el mayor número de individuos hipertensos estaba en el grupo de pacientes (58,5%). Igualmente señalan que el 80% de éstos usaban inhibidores de la ECA (IECAs).

Discusión

Existe una amplia evidencia que indica que además de los factores ambientales, los factores genéticos contribuyen a la patogenia de la enfermedad cardiovascular. Los factores ambientales incluyen lípidos, tabaquismo y sedentarismo entre otros, los cuales se encontraron en mayor porcentaje

Tabla 4. Distribución genotípica de los sujetos hipertensos y uso de antihipertensivos

	Pacientes (%)	Controles (%)
Hipertensos	24 (58,5)	3 (7,7)
HTA + AH	20 (83,3)	3 (7,7)
HTA + IECA	16 (80,0)	1 (33,3)
II	5 (31,2)	0
ID	1 (6,3)	1 (33,3)
DD	10 (62,5)	0

HTA: Hipertensión arterial, AH: antihipertensivos; IECA: Inhibidores de la ECA.

en el grupo de individuos pacientes que en los controles. Nuestro trabajo también confirma que el colesterol total y c-LDL influyen sobre la enfermedad cardiovascular. Esta alta frecuencia de factores de riesgo cardiovascular ha sido ya asociada a infarto del miocardio en varios estudios (20).

Entre los factores genéticos se encuentran genes candidatos como el gen de la ECA; varios estudios del polimorfismo del gen de la ECA, han mostrado asociación con enfermedad coronaria y con infarto del miocardio (8,9), pero otros no (10-12). En este trabajo se encontró que la frecuencia del alelo D en los controles fue 41%, más baja que la descrita para poblaciones predominantemente caucásicas (alrededor del 54%), (21, 22) y muy cercana a la frecuencia descrita para un estudio realizado en la población española (44%), (21); sin embargo, fue casi el doble a la descrita para una población ubicada al oriente colombiano (14). Al respecto, la literatura ha demostrado que hay diferencias étnicas en la frecuencia genotípica del polimorfismo I/D (12, 22) estos resultados confirman que las diferencias étnicas se mantienen aun dentro de la misma población, cuyos orígenes migratorios pueden ser diferentes.

Este estudio también muestra que el genotipo DD y el alelo D, fueron más frecuentes en los pacientes (51,2% y 68,3% respectivamente) que en los controles (41,0%, 55,1% respectivamente), con diferencia significativa sólo para el alelo D, (OR 3,48 $p=0,02$). Esta mayor frecuencia del alelo D y el genotipo DD, es semejante a lo encontrado por Bautista y col. (14), en un estudio de pacientes y controles con infarto de miocardio; estos autores registran una diferencia significativa en la frecuencia del genotipo DD en los pacientes (39,6%) comparada con los controles (26,7%). Posiblemente la significancia encontrada en el presente estudio para el alelo D pero no para el genotipo DD, puede ser atribuida al tamaño de la población estudiada, lo cual mejora al combinar los genotipos ID+DD. En 1992, Cambien y colaboradores describieron que el genotipo DD del polimorfismo I/D en el gen de la ECA, predispone a los portadores del mismo a sufrir infarto del miocardio (23). Este hallazgo generó un gran interés científico por establecer esta asociación y llevaron a una serie de investigaciones que permitieron incluir este polimorfismo como un potencial factor de riesgo cardiovascular (12, 25). Sin embargo, aun existe controversia y aunque algunos estudios han fallado en confirmar esta asociación, otros no (24, 25). Esta dificultad en establecer una fuerte asociación entre el polimorfismo I/D y enfermedad se debe posiblemente a la heterogeneidad y tamaño de las poblaciones estudiadas (12). Así, la edad, el sexo, la raza y las condiciones de estilo de vida entre otros pueden ser factores que contribuyen a los diferentes resultados encontrados en los estudios poblacionales. Nuestro estudio no se

aleja de estas dificultades, porque entre otras variables incluye pacientes masculinos y femeninos, donde la enfermedad coronaria y los propios niveles de ECA determinados por el genotipo, pueden estar influenciados por factores como la edad y las hormonas sexuales (26, 27), como se sugiere en el trabajo de Landázuri y col. (13), quienes encontraron diferencias en la actividad de la ECA entre los niños y niñas de diferentes edades en una población del Quindío-Colombia, o como lo describe Bautista para la edad en su estudio de pacientes y controles e infarto del miocardio.

En relación con la actividad de la ECA fue de interés para el presente estudio determinar la manera en que la actividad plasmática de ECA podía proveer información adicional respecto a la contribución del polimorfismo I/D al riesgo de sufrir un evento coronario. En este estudio, la actividad de la ECA, según el genotipo se distribuyó de acuerdo a lo descrito en la literatura excepto en los pacientes con el alelo D donde fue más baja, resultados aparentemente contrarios a lo descrito; sin embargo, esta diferencia se puede explicar por el uso de antihipertensivos en el grupo de pacientes, pues el 80,0% de ellos usaban inhibidores de la ECA y un 65,2% de estos usuarios eran genotipo DD. A pesar de estos datos en los pacientes con genotipo DD, los resultados aquí descritos, confirman la asociación entre el polimorfismo I/D de la ECA y los niveles en suero de la enzima; asociación que ha sido demostrada en una gran variedad de estudios (6, 21). En ellos el genotipo DD tiene cerca de un 30% más de actividad del genotipo ID y cerca de un 50% más de la actividad del genotipo II. Estos datos y los del presente estudio sugieren que los niveles de ECA podrían proveer información complementaria a la generada por el polimorfismo Inserción/Delección y que permitiría acceder a la contribución que tienen ambos al riesgo de padecer un infarto de miocardio. Sin embargo, las implicaciones patológicas de un mayor nivel de ECA en el genotipo DD y el infarto del miocardio, aun no son claras. La relación entre niveles de ECA y el infarto del miocardio podría ser a través de un aumento en los niveles de Angiotensina II (AII). La AII es un potente vasoconstrictor y causa estrés oxidativo en el endotelio y el miocardio, lo cual puede causar disfunción endotelial y proliferación del músculo liso vascular (8, 28), esto activa el reclutamiento de factores inflamatorios en las arterias dañadas (29) y puede aumentar las moléculas de adhesión (30) causando adherencia de leucocitos y monocitos a la superficie del endotelio, promoviendo aterosclerosis. Adicionalmente, es necesario retomar, la discusión de la relación entre el genotipo DD y la hipertensión. Nuestros datos muestran un mayor porcentaje de hipertensos en los pacientes que en los controles. La mayor frecuencia del alelo D y el genotipo DD en el grupo de pacientes de este

estudio y los mayores niveles de enzima en este grupo, aun a pesar del uso de IECAs (cuando se les compara con el ID, II en los controles) y la hipertensión, sugieren que este polimorfismo podría ser de riesgo para la población estudiada; sin embargo, se requiere ampliar la muestra para obtener datos más concluyentes.

Conclusión

Los resultados muestran una mayor frecuencia del alelo D y el genotipo DD en pacientes con un primer infarto coronario comparados con los controles, y confirman variación en los niveles de la ECA influenciados por el genotipo I/D del gen de la enzima. Estos hallazgos habían sido previamente descritos en Colombia para otro grupo poblacional con origen étnico diferente. Para confirmar los resultados en esta población se necesita de estudios poblacionales más amplios.

Agradecimientos

A los pacientes y controles que permitieron la realización del trabajo. Al Dr. Hernando Hurtado por el análisis estadístico.

Financiación

Este trabajo fue financiado por la Universidad del Quindío.

Conflicto de intereses

Los autores manifiestan que no existen conflictos de intereses en la elaboración y ejecución de este proyecto.

Referencias

1. Menotti A, Keys A, Blackburn H, Kromhout D, Karvonen M, Nissinen A, *et al.* Comparison of multivariate predictive power of major risk factors for coronary heart disease in different countries: results from eight nations of the Seven Countries Study, 25- year follow-up. *Journal of Cardiovascular Risk.* 1996; **3**: 69-75.
2. Colombia Ministerio de Salud O, OMS. Situación de salud Colombia. Indicadores básicos. 2004; 1-15.
3. Cambien F, Tiret L. Genetics of cardiovascular diseases from single mutations to the whole genome. *Circulation.* 2007; **116**: 1714-1724.
4. Humphries SE, Ridker PM, Talmud PJ. Management tool or possible misinformation? genetic testing for cardiovascular disease susceptibility: A useful clinical. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular. Biology.* 2004; **24**: 628-636.
5. Samani NJ, Thompson JR, O'Toole L, Channer K, Kent L. A meta-analysis of the association of the deletion allele of the angiotensin-converting enzyme gene with myocardial infarction. *Circulation.* 1996; **94**:708-712.
6. Nakai K, Itoh C, Miura Y, Nakai K, Syo T, Musya T, Hiramori K. Deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with serum ACE concentration and increased risk for CAD in the Japanese. *Circulation.* 1994; **90**: 2199-2202.
7. Danser AHJ, Schalekamp MADH, Bax WA, Van der Briuh AM, Saxena PR, Riegger GA *et al.* Angiotensin converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism. *Circulation.* 1995; **92**: 1387-1388.
8. Danser AHJ, Schunkert H. Renin-angiotensin system gene polymorphisms: potential mechanisms for their association with cardiovascular diseases. *European Journal of Pharmacology.* 2000; **3**: 303-316.
9. Higaki J, Baba S, Katsuya T, Sato N, Ishikawa K, Mannami T, *et al.* Deletion allele of angiotensin-converting enzyme gene increases risk of essential hypertension in Japanese men. The Suita Study. *Circulation.* 2000; **101**: 2060-2065.
10. Lindpaintner K, Pfeffer MA, Kreutz R, Stampfer MJ, Grodstein F, LaMotte F, *et al.* A prospective evaluation of an angiotensin converting enzyme gen polymorphism and the risk of ischaemic heart disease. *The New England Journal of Medicine.* 1995; **332**: 706-711.
11. Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Steffensen R, Sørensen TIA, Jensen G, Tybjærg-Hansen A. ACE gene polymorphism: ischaemic disease and longevity in 10150 individuals. A case referent and retrospective cohort study based on the Copenhagen City Herat Study. *Circulation.* 1997; **95**: 2358-2367.
12. Zintzaras E, Raman G, Kitsios G, Lau J. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphic variant as a marker of coronary artery disease: A meta-analysis. *Archives of Internal Medicine.* 2008; **168**: 1077-1089.
13. Landázuri, P, Granoble CV, Loango N. Gender differences in serum angiotensin converting enzyme

- activity and blood pressure in children: an observational study. *Arquivos Brasileiros de Cardiology*. 2008; **91** (6): 352-357.
14. Bautista LE, Ardila María E, Gamarra G, Vargas CI, Arenas IA. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and risk of myocardial infarction in Colombia. *Medical Science Monitor*. 2004; **10** (8): CR473-479.
 15. Parson JJ, *Antioqueño colonization in western Colombia*. University of Berkeley, California Press. 1949.
 16. Jiménez I, Mora O, López G, Jiménez ME, Zuluaga L, Isaza R, Sánchez J, Uribe CS, Valenzuela CY, Blanco Y, Arcos-Burgos M. Idiopathic epilepsy with generalized tonic clonic seizures in Antioquia, Colombia: Is the joint amerindian and negroid racial admixture the cause of its high prevalence? *Biological Research*. 1996; **29** (3): 297-304.
 17. Ronca Testoni S. Direct spectrophotometric assay for angiotensin converting enzyme in serum. *Clinical Chemistry*. 1983; **29**: 1093-1096.
 18. 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. *Journal of Clinical Investigation*. 1990; **86**: 1343-1346.
 19. National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adults Treatment Panel III). Third report of the National Cholesterol Education program Adult Treatment III. *The Journal of the American Medical Association*. 2001; **285**: 2486-2498.
 20. Sansa S, Fitzgerald AP, Royo D, Conroy R, Graham I. Calibración de la tabla SCORE de riesgo cardiovascular para España. *Revista Española Cardiología*. 2007; **60** (5): 476-485.
 21. Espinosa JS, Rueda E, Muñoz E, Montiel A, Martínez S, Diéguez JL, Rius F, Reyes A, De Teresa E. Asociación entre polimorfismo inserción/delección del gen codificador de la enzima conversiva de la angiotensina e infarto de miocardio en pacientes jóvenes. *Medicina Clínica (Barcelona)*. 1998; **110**: 488-491.
 22. Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. ACE gene polymorphism in cardiovascular disease meta-analyses of small and large studies in whites. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2000; **20**: 484-492.
 23. Settin A, ElBaz R, Abbas A, Samad AA, Noaman A. Angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism in Egyptian patients with myocardial infarction. *Journal Renin Angiotensin Aldosterone System*. 2009; **10**: 96-100.
 24. Marcianti KD, Bis, JC, Rieder MJ, Reiner AP, Lumley T, Monks SA, Kooperberg C, Carlson C, Heckbert SR, Psaty BM. Renin-angiotensin system haplotypes and the risk of myocardial infarction and stroke in pharmacologically treated hypertensive patients. *American Journal of Epidemiology*. 2007; **166**: 19-27.
 25. Ozben B, Altun I, Hancer VSi, Bilge AK, Tanrikulu AM, Diz-Kucukkay R, Fak AS, Yilmaz E, Adalet K. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in arrhythmogenic right ventricular dysplasia: is DD genotype helpful in predicting syncope risk? *Journal of Renin Angiotensin Aldosterone System*. 2008; **9**: 215-220.
 26. Arnlov J, Pencina MJ, Amin S, Nam B-H, Benjamin EJ, Murabito JM, Wang TJ, Knapp PE, D'Agostino RB, Sr., Bhasin S, Vasan RS. Endogenous sex hormones and cardiovascular disease Incidence in men. *Annals of Internal Medicine*. 2006; **145**: 176-184.
 27. Freshour JR, Chase SE, Vikstrom KL. Gender differences in cardiac ACE expression are normalized in androgen-deprived male mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2002; **283**: 1997-2003.
 28. Harrison DG, Cai H, Landmesser U, Griendling KK. Interactions of angiotensin II with MAD(P)H oxidase, oxidant stress and cardiovascular disease. *Journal of Renin-Angiotensin- Aldosterone System*. 2003; **4**: 51- 61.
 29. Ferrario CM, Strawn WB. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system and proinflammatory mediators in cardiovascular disease. *American Journal of Cardiology*. 2006; **98**: 121-128.
 30. Graninger M, Reiter R, Drucker C, Minar E, Jilma B. Angiotensin receptor blockade decreases markers of vascular inflammation. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2004; **44**: 335-339.