

Polimorfismo I/D del gen de la enzima de conversión de angiotensina y progresión de la miocardiopatía chagásica

Carmine Pascuzzo-Lima, Juan C. Mendible y Rafael A. Bonfante-Cabarcas

Unidad de Bioquímica Dr. José Antonio Moreno Yanes. Decanato de Ciencias de la Salud Dr. Pablo Acosta Ortíz. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Barquisimeto. Estado Lara. Venezuela.

La enfermedad de Chagas es frecuente en Latinoamérica y la causa *Trypanosoma cruzi*. Suele asociarse a miocardiopatía crónica, cuya progresión podría relacionarse con factores genéticos. Dado que se han publicado alteraciones del sistema renina-angiotensina-aldosterona en esta enfermedad, este trabajo buscó determinar si los polimorfismos genéticos relacionados afectaban a la progresión del daño miocárdico. Se seleccionó a 125 pacientes y se agrupó según presentasen miocardiopatía leve o severa. El polimorfismo de inserción/delección del gen de la enzima de conversión de angiotensina se analizó por pruebas estandarizadas, y los resultados se correlacionaron con el estadio de la enfermedad. Los genotipos cumplieron el equilibrio de Hardy-Weinberg. Después de ajustar según variables demográficas, no hubo relación significativa entre el polimorfismo estudiado y la progresión de la enfermedad de Chagas. Pese a que la muestra fue limitada, los resultados indican que la progresión de la miocardiopatía chagásica no está relacionada con el polimorfismo de inserción/delección.

Palabras clave: Enfermedad de Chagas. Polimorfismo inserción/delección del gen de la enzima de conversión de angiotensina.

Angiotensin-Converting Enzyme Insertion/Deletion Gene Polymorphism and Progression of Chagas' Cardiomyopathy

Chagas' disease is common in Latin America and is caused by *Trypanosoma cruzi*. It is usually associated with chronic cardiomyopathy, the progression of which could be related to genetic factors. As alterations in the renin-angiotensin-aldosterone system have been reported in the disease, the aim of this study was to determine whether associated genetic polymorphisms influence the development of myocardial damage. The study involved 125 patients who were divided into two groups according to whether they had mild or severe cardiomyopathy. The insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene was investigated using standard techniques and results were correlated with disease stage. The genotypes were in Hardy-Weinberg equilibrium. After adjusting for demographic variables, no significant relationship was found between the polymorphism and progression of chronic Chagas' disease. Although our sample was limited, the results suggest that the progression of cardiomyopathy in chronic Chagas' disease is unrelated to the insertion/deletion polymorphism.

Key words: Chagas' disease. Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene.

Full English text available from: www.revespcardiol.org

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas, causada por *Trypanosoma cruzi*, aparece en unos 15 millones de personas infectadas, con 20.000-50.000 muertes anuales^{1,2}. Aunque es propia de América, las migraciones han llevado la enfermedad a otras regiones^{1,2}. La enfermedad implica un modesto proceso febril adenopático agudo, seguido de una fase crónica,

caracterizada frecuentemente por lesiones cardíacas (20-30%), mucho después de la entrada del parásito^{1,3}. No en todos los pacientes se desarrolla miocardiopatía chagásica, y en caso de que se produzca no sigue un patrón definido, aunque su entorno sea similar; esto implica que el ambiente solo no explicaría la progresión^{1,3}. Deben diferenciarse los condicionantes de la progresión de la enfermedad de los de contraerla, pues éstos dependen de la exposición y los primeros dependen de otras variables, incluidas las genéticas⁴.

El propio *T. cruzi* presenta notable variabilidad genética⁴ relacionada con su potencial patogénico, por lo que su interacción con el hombre varía, pero es justamente de éste del que menos se conoce la susceptibilidad⁴, por lo que se deben estudiar los factores genéticos de la progresión de la enfermedad, y resulta interesante la exploración del posible

Correspondencia: Dr. C. Pascuzzo-Lima.
Sección de Farmacología. Decanato de Ciencias de la Salud Dr. Pablo Acosta Ortíz. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado.
Avda. Libertador con Avda. Andrés Bello. 3001 Barquisimeto. Lara. Venezuela.
Correo electrónico: carminepl@yahoo.com

Recibido el 23 de marzo de 2008.
Aceptado para su publicación el 21 de mayo de 2008.

vínculo con genotipos del sistema renina-angiotensina (SRA), respecto al cual se ha publicado relación con manifestaciones de cardiopatía⁵⁻⁷ y respuesta terapéutica⁶.

Por esto, el trabajo se orientó a determinar si una variedad genética humana del SRA de conocida relación con las cardiopatías (polimorfismo inserción/delección [I/D] del gen de la enzima de conversión de angiotensina [ECA]) se asocia al curso de la enfermedad de Chagas.

MÉTODOS

Estudio explicativo, con diseño de campo; también representa metodología de casos y controles, pues comienza con la «ausencia» (controles, estadios Ia-Ib) o «presencia» (casos, estadios II y III) del evento de interés, investigando factores de riesgo retrospectivamente. La población incluyó a los pacientes seropositivos registrados en el Laboratorio de Cardiología Molecular de la Universidad Central de Venezuela. La muestra fue no probabilística. Las muestras sanguíneas fueron tomadas en un período de 6 meses.

Procedimiento

Los datos se recabaron básicamente por revisión de historias. Para comprobar el polimorfismo DI, se usó un proceso descrito⁵, con 100 ng de ADN genómico, 50 pmol de cebadores (5'CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT3' y 5'AGACTGCTTACTACTACCGGTGTAG3') y 2 U de polimerasa Taq (desnaturalización: 94 °C, 5 min [\times 1]; desnaturalización: 94 °C, 1 min; alineación: 58 °C, 1 min; extensión: 72 °C, 2 min [\times 30]; extensión final: 72 °C, 5 min [\times 1]). Se obtuvieron dos fragmentos de 490 pares de bases para el genotipo II, dos de 190 pares para el DD y uno de cada tipo para el DI. Los productos se visualizaron por electroforesis en agarosa, coloración con bromuro de etidio y comparación con las respectivas escaleras.

Análisis de los datos

La variable dependiente fue el estadio de la cardiopatía, operativizada según Hagar et al³. En primer lugar, se comprobó el equilibrio de Hardy-Weinberg, por concordancia con el trinomio (frecuencia alelo D)² + 2 \times (frecuencia alelo D) \times (frecuencia alelo I) + (frecuencia alelo I)². Para determinar el equilibrio citado, se usó la prueba de la χ^2 . Se usó la regresión logística para determinar el riesgo de cardiopatía chagásica avanzada, incluyendo como variables intervinientes la edad y el sexo. Se usaron tres tipos de expresión genética⁷:

TABLA 1. Características clínicas de los pacientes del estudio

Edad (años)	60,17 \pm 9,19
Tiempo de diagnóstico (años)	11,80 \pm 4,09
Ritmo cardiaco	
Frecuencia cardiaca (lat/min),	71,44 \pm 16,39
Dolencia del nodo sinusal	33,6
Bloqueo auriculoventricular (grados variables)	66,4
Otros problemas de conducción	52
Otras manifestaciones de arritmia	9,6
Pacientes con marcapasos	16,8
Características cavitarias	
Dilatación ventricular	48,8
Dilatación auricular	10,4
Fracción de eyección (%)	55,36 \pm 11,84
Uso de fármacos	
Digoxina	72,8
Diuréticos	54,4
Inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina	44,8
Bloqueadores beta	28
Clasificación según la New York Heart Association	
I	27,2
II	31,2
III	24,8
IV	16,8

Los datos expresan media \pm desviación estándar o porcentaje de pacientes.

– Codominancia DD: genotipo DD = 1; genotipo II = 0; genotipo DI = 0,5.

– Dominancia DD: genotipos DD y DI = 1; genotipo II = 0.

– Recesividad DD: genotipo DD = 1; genotipos II y DI = 0.

El resultado final se muestra como razones de probabilidades, con el respectivo intervalo de confianza (IC) del 95%. Para analizar los datos se usaron los programas Microsoft Excel 2000 y Statistix, versión 1.0.

RESULTADOS

La muestra incluyó a 34 pacientes con genotipo II (27,2%), 41 DD (32,8%) y 50 DI (40%), cuyas características clínicas se observan en la tabla 1. La tendencia al desequilibrio de enlace no fue significativa ($p = 0,09$). La media de edad de los pacientes DD fue 59,32 \pm 8,88 años; la de los II, 61,86 \pm 9,17 años y la de los DI, 59,76 \pm 9,45 años. Eran varones el 46,34, el 58,82 y el 50% de los pacientes con los genotipos DD, II y DI respectivamente.

La tabla 2 muestra los resultados de la regresión logística, con la edad y el sexo mostrando siempre un perfil similar. El alelo D se asoció con grados avanzados de la miocardiopatía chagásica, aunque los resultados no fueron significativos.

TABLA 2. Efecto del alelo de delección en tres modelos genéticos en la progresión de la miocardiopatía chagásica

Modelo	OR	IC del 95%	p
Dominante DD			
Edad	1,07	1,02-1,13	0,0067
Sexo	0,51	0,22-1,18	0,1160
Presencia de alelo D	2,46	0,98-6,19	0,0651
Codominante DD			
Edad	1,07	1,02-1,13	0,0066
Sexo	0,51	0,22-1,19	0,1182
Presencia de alelo D	3,09	0,84-11,34	0,0685
Recesivo DD			
Edad	1,07	1,02-1,12	0,0094
Sexo	0,49	0,21-1,14	0,0969
Presencia de alelo D	1,98	0,78-5,03	0,1535

OR: razón de probabilidades.

Se muestran los resultados de la regresión logística múltiple para tres formas de expresión genética.

DISCUSIÓN

En este estudio se correlacionó la progresión de la enfermedad de Chagas con una característica genética del SRA, ya que características como éstas pueden modificar la progresión de las enfermedades parasitarias^{6,7}. Para la enfermedad de Chagas, sin embargo, la información es escasa, pero se ha publicado su relación con residuos polimórficos del sistema de histocompatibilidad humana^{8,9}; en nuestro caso, una limitación importante fue lo pequeño de la muestra, además de que sólo se tuvieron en cuenta dos variables intervinientes: sexo y edad, si bien las características clínicas de los pacientes eran más o menos típicas^{1,3}.

Se insinuó una posible asociación del alelo D del polimorfismo I/D del gen de la ECA con grados avanzados de miocardiopatía. De ser cierto, habría dos explicaciones opuestas: que el alelo D se asocie realmente a la progresión, por lo que tendería a ser rápida, o que el alelo D se asocie a protección contra la muerte en estadios avanzados, por lo que éstos durarían más («sesgo de sobrevida»). La opción más probable parece la primera y, de hecho, un estudio de Nakahara et al¹⁰ demostró mayor peso cardíaco en individuos DD, en correlación con el estudio de Montgomery et al¹¹, que observaron una asociación a mayor respuesta hipertrófica ventricular al ejercicio; esto coincide con otros estudios en los que la hipertrofia se asocia al genotipo DD¹¹. Empero, no puede excluirse la segunda posibilidad. Por ejemplo, Sanderson et al¹² no hallaron relación del polimorfismo DI con la insuficiencia cardíaca, y Van Suylen et al¹³ comunicaron una relación protectora del genotipo DD con hipertrofia ventricular.

La explicación lógica de la asociación de genotipos del SRA con cardiopatía implica cambios en

las concentraciones plasmáticas de mediadores^{10,13}, pero podría no haber tal relación si se alteran la formación local de angiotensina II y/o las respuestas de diversos órganos⁶. El perfil genotípico pudiera predecir la respuesta del paciente al tratamiento y permitiría optimizarlo; Kuznetsova et al⁵ determinaron que el efecto deletéreo del genotipo DD aumenta en ausencia de farmacoterapia y se mitiga con ella.

En conclusión, el polimorfismo I/D del gen de la ECA no se relaciona con la progresión de la miocardiopatía chagásica, aunque debe comprobarse en otros estudios.

BIBLIOGRAFÍA

- Acquatella H. Avances recientes en miocardiopatía chagásica. *Rev Esp Cardiol*. 1998;51:152-7.
- Gascón J; Grupo de Trabajo del Taller Enfermedad de Chagas Importada: Un Nuevo Reto de Salud Pública? Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Chagas importada. *Med Clin (Barc)*. 2005;125:230-5.
- Hagar JM, Rahimtoola SH. Chagas' heart disease. *Curr Probl Cardiol*. 1995;20:825-924.
- Tibayrenc M. Genetic epidemiology of parasitic protozoa and other infectious agents: The need for an integrated approach. *Int J Parasitol*. 1998;28:85-104.
- Kuznetsova T, Staessen JA, Wang JG, Gasowski J, Nikitin Y, Ryabikov A, et al. Antihypertensive treatment modulates the association between the D/I ACE gene polymorphism and left ventricular hypertrophy: A meta-analysis. *J Hum Hypertens*. 2000;14:447-54.
- Abel L, Dessein AJ. The impact of host genetics on susceptibility to human infectious diseases. *Curr Opin Immunol*. 1997;9:509-16.
- Martín J, Calzada JE, Nieto A. Inducible nitric oxide synthase (NOS2) gene polymorphism and parasitic diseases. *Lancet*. 1999;353:72.
- Tibayrenc M. Integrated genetic epidemiology of infectious diseases: The Chagas model. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1998;93:577-80.
- Layrisse Z, Fernández MT, Montagnani S, Matos M, Balbas O, Herrera F, et al. HLA-C03 is a risk factor for cardiomyopathy in Chagas' disease. *Human Immunol*. 2000;61:925-9.
- Nakahara K, Matsushita S, Matsuoka H, Inamatsu T, Nishinaga M, Yonawa M, et al. Insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene affects heart weight. *Circulation*. 2000;101:148-51.
- Montgomery HE, Clarkson P, Dollery CM, Prasad K, Losi MA, Hemingway H, et al. Association of angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training. *Circulation*. 1997;96:741-7.
- Sanderson JE, Yu CM, Young RP, Shum IO, Wei S, Arumanayagam M, et al. Influence of gene polymorphisms of the renin-angiotensin system on clinical outcome in heart failure among the Chinese. *Am Heart J*. 1999;137:653-7.
- Van Suylen RJ, Wouters EF, Pennings HJ, Cheriex EC, Van Pol PE, Ambergen AW, et al. The DD genotype of the angiotensin converting enzyme gene is negatively associated with right ventricular hypertrophy in male patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;159:1791-5.