

Relevancia de los polimorfismos génicos del sistema renina-angiotensina en la enfermedad coronaria

Enrique Hernández Ortega^{a,b}, Alfonso Medina Fernández-Aceituno^{a,b}, Francisco J. Rodríguez Esparragón^a, Octavio Hernández Perera^a, Francisco Melián Nuez^b, Antonio Delgado Espinosa^b, Dolores Fúza Pérez^a, Aránzazu Anabitarte Prieto^a y José C. Rodríguez Pérez^{a,c}

^aUnidad de Investigación. ^bServicios de Cardiología y ^cNefrología. Hospital Dr. Negrín de Gran Canaria. Las Palmas de Gran Canaria.

Introducción y objetivos. Estudios previos sobre la relación de la enfermedad coronaria y el polimorfismo de inserción/delección de la enzima conversiva de la angiotensina (ECA [I/D]), el polimorfismo del gen del angiotensinógeno AGT M235T, o del receptor AT1 de la angiotensina II (A1166C) han demostrado resultados controvertidos. El objetivo de este estudio fue determinar la asociación entre estos polimorfismos génicos y el primer acontecimiento coronario en la población de Gran Canaria.

Pacientes y método. Estudio de casos y controles ajustados según edad. Los casos (n = 304) se seleccionaron al padecer un primer acontecimiento coronario; los controles constituyen una muestra aleatoria poblacional (n = 315). Todos los sujetos fueron evaluados para los factores de riesgo clásicos. Se tomaron muestras sanguíneas para determinaciones analíticas y extracción de ADN. Las genotipificaciones se realizaron por PCR y análisis de restricción.

Resultados. No se encontró asociación entre el polimorfismo ECA (I/D), AT1R (A1166C) y la enfermedad coronaria, mientras que la distribución de frecuencias de los genotipos del angiotensinógeno entre pacientes y controles (TT: 29 y 19%; MT: 48 y 50%; MM: 22 y 31%, respectivamente) resultaron estadísticamente diferentes (p = 0,003). El análisis multivariado identificó como factores predictores de acontecimiento coronario al genotipo TT del gen del angiotensinógeno (OR = 1,9; IC del 95%, 1,1-3,4), la diabetes (OR = 4,4; IC del 95%, 2,0-9,4) y la hipertensión (OR = 2,1; IC del 95%, 1,3-3,3).

Conclusiones. No se ha observado asociación entre el polimorfismo ECA (I/D), AT1R (A1166C) y la enfermedad coronaria. Sin embargo, la homocigosis TT del gen del angiotensinógeno, la diabetes y la hipertensión arterial predisponen de manera independiente a la aparición de un primer acontecimiento coronario en la población canaria.

VER EDITORIAL EN PÁGS. 89-91

Este trabajo ha sido desarrollado dentro del Proyecto FIS 96/0662 y financiado parcialmente por el Ilmo. Colegio Oficial Médicos de las Palmas de Gran Canaria y la Fundación Mapfre-Guanarteme. Parte de este trabajo fue galardonado por la Fundación Española del Corazón de la Sociedad Española de Cardiología durante su Congreso en el año 1999.

Correspondencia: Dr. J.C. Rodríguez Pérez.
Unidad de Investigación. Hospital de Gran Canaria Dr. Negrín.
Barranco de la Ballena, s/n. 35020 Las Palmas de Gran Canaria.

Recibido el 15 de febrero de 2001.
Aceptado para su publicación el 8 de octubre de 2001.

Palabras clave: Angiotensinógeno. Enzima conversiva de la angiotensina. Receptor de la angiotensina II. Enfermedad coronaria. Genes.

The Involvement of the Renin-Angiotensin System Gene Polymorphisms in Coronary Heart Disease

Introduction and objectives. Previous studies angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism ACE (I/D), angiotensinogen gene polymorphism, and angiotensin II AT1 receptor polymorphism in relation to coronary heart disease controversial results. This study was designed to analyze the association between these gene polymorphisms and the first coronary event in individuals residing on Grand Canary Island, Spain.

Patients and method. Case-control study. Case subjects (n = 304) were recruited at the first coronary event; age-matched controls (n = 315) were randomly selected from the Grand Canary population. Participants were examined for the usual risk factors. Blood samples were obtained for biochemical analyses and DNA extraction. Genotyping was performed by PCR and restriction analysis.

Results. Neither ACE (I/D) nor AT1 receptor polymorphism was associated with coronary heart disease, whereas the frequency distribution of AGT M235T genotypes among patients and control subjects (TT: 29% and 19%; MT: 48% and 50%; MM: 22% and 31%, respectively) was statistically different (p = 0.003). Multiple logistic regression analysis identified the TT genotype of the angiotensinogen gene (OR = 1.9; 95% CI 1.1-3.4), diabetes (OR = 4.4; 95% CI 2.0-9.4) and hypertension (OR = 2.1; 95% CI 1.3-3.3) as risk factors predicting the coronary event.

Conclusions. Our results provide no evidence of an association between ACE (I/D) or AT1 receptor polymorphism and coronary heart disease. However, homozygosity for the T allele of the angiotensinogen gene, diabetes and hypertension independently place individuals at higher risk of experiencing a coronary event on Grand Canary Island.

Key words: Angiotensinogen. Angiotensin-converting enzyme. Angiotensin II receptor. Coronary heart disease. Genes.

ABREVIATURAS

AGT: angiotensinógeno.
 AT1R: receptor AT1 de la angiotensina II.
 ECA: enzima conversiva de angiotensina.
 IMC: índice de masa corporal.
 OR: *odds ratio*.
 PCR: reacción en cadena de la polimerasa.
 SRAA: sistema renina-angiotensina-aldosterona.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares –y en especial la enfermedad coronaria– constituyen la principal causa de muerte en los países desarrollados, siendo bien conocida su relación con determinados factores de riesgo, como la hipertensión arterial, la dislipemia, el tabaquismo o la diabetes mellitus. También es conocido que la existencia de antecedentes familiares de cardiopatía isquémica constituye un poderoso factor de riesgo coronario independiente; esto pone de manifiesto el carácter multifactorial de la enfermedad, en la que interaccionan factores ambientales y factores genéticos¹.

Las nuevas técnicas de biología molecular aplicadas al diagnóstico genético posibilitan el estudio de los mecanismos que subyacen en la predisposición individual y familiar a padecer determinadas enfermedades. Concretamente, en relación con la enfermedad coronaria, los marcadores genéticos ligados al sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) han merecido especial atención, no sólo por sus conocidos efectos sobre la homeostasis vascular^{2,3}, sino también por la esperanza generada con la utilización de inhibidores de la enzima conversiva de la angiotensina (IECA) en la disminución de la morbimortalidad en la cardiopatía isquémica^{4,5}.

Los datos que relacionan los genes del SRAA con la cardiopatía isquémica son recientes y se han descrito varios polimorfismos en diferentes genes de este sistema⁶⁻⁸. El polimorfismo I/D del gen que codifica para la ECA consiste en la presencia (I) o ausencia (D) de 287 pares de bases en el intrón 16 del gen⁶. El alelo D se acompaña de concentraciones plasmáticas y tisulares más elevadas de actividad de la ECA que el alelo I^{6,9}, lo que podría justificar, desde un punto de vista fisiopatológico, una mayor incidencia de infarto de miocardio y enfermedad coronaria en los individuos con genotipo DD¹⁰. Múltiples estudios han tratado de confirmar estas observaciones con resultados controvertidos¹¹⁻¹⁴.

El gen del angiotensinógeno, un segundo componente del SRAA, se ha relacionado con la progresión de la cardiopatía. Un polimorfismo en el exón 2 del gen, consistente en la sustitución de metionina por treonina en la posición 235 de la proteína codificada

(M235T)^{7,15}, ha sido asociado con concentraciones más elevadas de angiotensinógeno^{7,16}, mayor presión arterial¹⁷ e incluso con el desarrollo de preeclampsia¹⁸. Un estudio realizado en España por nuestro grupo ha descrito una asociación del genotipo TT con mayor riesgo de enfermedad coronaria, independientemente de la presencia de hipertensión arterial¹⁹.

Un tercer componente del SRAA lo constituye el gen del receptor AT1 (*AT1R*) de la angiotensina II. La mayoría de las acciones de la angiotensina II son vehiculizadas a través de los *AT1R*⁸. Se ha identificado un polimorfismo del receptor AT1 (A1166C) en la región 3' del gen que corresponde con una sustitución A → C del ARN mensajero. La asociación entre este polimorfismo y la enfermedad coronaria ha sido analizada por diferentes grupos^{20,21}.

En este estudio analizamos los factores de riesgo clásicos y diversos polimorfismos génicos del SRAA que pudieran explicar la elevada incidencia de enfermedad coronaria en las Islas Canarias²².

PACIENTES Y MÉTODO**Sujetos**

Estudio de casos y controles ajustados según edad que cumplieran los siguientes requisitos: edad mayor de 18 años, origen canario (nacidos en Canarias con un mínimo de tres generaciones previas de canarios), ausencia de antecedentes cardiovasculares, ausencia de enfermedades infecciosas contagiosas y que no fueran drogadictos por vía parenteral.

Los casos (n = 304; edad media 56 ± 10 años; 237 varones) se seleccionaron de forma consecutiva durante el período de 1996-1998 tras padecer el primer acontecimiento coronario (angina o infarto agudo de miocardio) que fue diagnosticado siguiendo criterios clínicos y electrocardiográficos y confirmado mediante angiografía coronaria.

Los controles (n = 315; edad media 54 ± 10 años; 223 varones) fueron seleccionados de las listas censales en diferentes municipios de la isla de Gran Canaria realizando un muestreo estratificado por conglomerado polietápico. En este grupo se excluyó la presencia de acontecimientos cardiovasculares previos mediante examen clínico.

En todos los sujetos se realizó un cuestionario recogido por una enfermera entrenada (AAP) que incluía datos demográficos: edad, lugar de nacimiento, hábitat, hipertensión, diabetes mellitus, hábito tabáquico, consumo de alcohol, actividad física y uso de anticonceptivos orales o terapia sustitutiva hormonal en mujeres. Se tomaron medidas de la presión arterial por triplicado mediante un monitor semiautomático (Omron Hem 705 CP) homologado y validado por la Sociedad Británica de Hipertensión Arterial²³. Se definió la hipertensión arterial como cifras iguales o superiores a

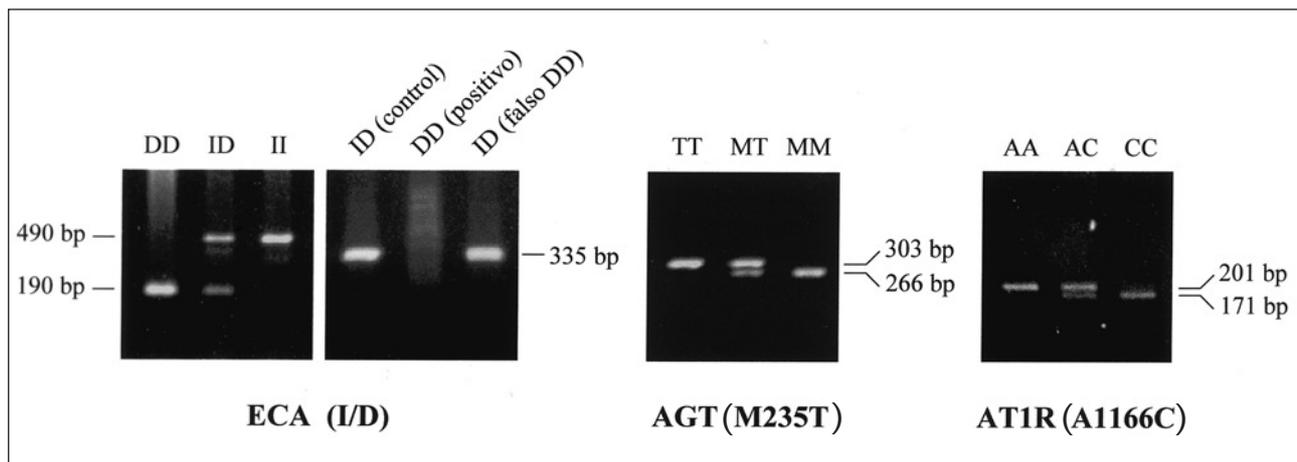


Fig. 1. Visualización de los productos de PCR según el genotipo de los polimorfismos ECA (I/D), AGT M235T y AT1R (A1166C) mediante tinción con bromuro de etidio. Los falsos homocigóticos DD se identificaron utilizando cebadores específicos para la inserción (segundo panel): una muestra ID control (calle 1) y dos muestras DD según se determinó en la primera ronda de PCR (calles 2 y 3), se sometieron a una segunda vuelta de amplificación. La banda de 335 bp en la calle 3 tras la reamplificación es un reflejo de la existencia del alelo I (falso DD).

140/90 mmHg. El índice de masa corporal (IMC) se calculó como peso/altura al cuadrado, estimándose la obesidad como un índice superior a 26. Se consideró fumador cualquiera que hubiera consumido tabaco en el último año. Se obtuvieron varias muestras sanguíneas después de 12 h de ayuno para determinaciones bioquímicas y extracción de ADN y, al menos, 2 muestras de orina para la determinación de la albuminuria.

Métodos de laboratorio

Se determinaron las concentraciones plasmáticas de glucosa, creatinina, colesterol total, cHDL y triglicéridos por métodos enzimaticocolorimétricos. El cLDL se calculó mediante la fórmula de Friedewald. La Lp(a) fue analizada mediante inmunoturbidimetría (Boehringer, Mannheim). La homocisteína se determinó mediante inmunoanálisis de fluorescencia polarizada con una variación del coeficiente intraensayo del 1,9% (Abbott, Diagnostic Division). La microalbuminuria fue medida por análisis inmunoturbidimétrico (Boehringer, Mannheim).

El ADN genómico utilizado en las determinaciones genéticas se extrajo a partir de leucocitos mediante un procedimiento estándar. Los genotipos I/D de la ECA fueron determinados siguiendo el procedimiento previamente descrito por Rigat²⁴ en 1992. Brevemente, la reacción fue realizada con 10 pmol de cada cebador en un volumen final de 25 μ l. El ADN fue amplificado 30 ciclos con desnaturalización a 94 °C durante un minuto, anillado a 58 °C durante un minuto y extensión a 72 °C durante 2 min. La PCR genera un fragmento de 190 pares de bases (pb) en caso de la delección, y otro de 490 pb en caso de la inserción.

Dado que el alelo D es preferentemente amplificado en muestras heterocigóticas²⁵, cada muestra de genoti-

po DD de la ECA fue reamplificada en una segunda ronda de PCR con cebadores específicos para la inserción¹³. Se empleó un protocolo de amplificación descrito previamente²⁶ y se utilizaron muestras ID e II como controles de amplificación. Nuestra tasa de falsos positivos DD fue de sólo un 1,2% comparado con el 4-5% descrito en otros estudios publicados.

El polimorfismo M235T del AGT fue analizado por el método de *mismatch* descrito con anterioridad¹⁵, con alguna modificación. El ADN genómico fue amplificado con una desnaturalización inicial a 94 °C seguido de 30 ciclos de 94 °C durante un minuto, 66 °C durante un minuto y 72 °C durante un minuto y una extensión final de 72 °C durante 2 min. Se digirieron 10 μ l del producto amplificado a lo largo de la noche a 37 °C con 0,3 unidades de *Sfa*NI. Un total de 579 sujetos de los que se disponía de seroteca y genoteca fueron genotipificados para el polimorfismo A1166C del gen *AT1R*. La determinación de los genotipos A1166C en la región 3'UTR del gen *AT1R* se realizó siguiendo el protocolo descrito por Nakauchi et al²⁷. La amplificación da lugar a un producto de 201 pb. El producto mutado (A1166C) genera fragmentos de 171 pb y de 30 pb al cortarlo con *Hae*III. Los productos se revelaron mediante tinción con bromuro de etidio después del fraccionamiento electroforético a través de geles de agarosa (fig. 1).

Análisis estadístico

Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 8.0 para Windows para el análisis de los datos. Se consideraron diferencias estadísticas significativas si $p < 0,05$. Todas las variables continuas se expresan como media \pm desviación estándar. Se aplicó el test de la t de Student para muestras independientes en la

TABLA 1. Características de la Población

	Controles (n = 315)	Casos (n = 304)	p
Edad (años)	54 ± 10	56 ± 10	0,06
Hábitat urbano	182 (81%)	209 (88%)	0,005
Tabaquismo	86 (27%)	152 (51%)	< 0,001
Alcohol (g/día)	11 ± 19	16 ± 27	0,007
Hipertensión arterial	103 (33%)	147 (49%)	0,001
Presión arterial sistólica (mmHg)	135 ± 26	135 ± 24	0,95
Presión arterial diastólica (mmHg)	84 ± 12	76 ± 13	< 0,001
Diabetes mellitus	36 (11,5%)	103 (34%)	< 0,001
Glucemia (mg/dl)	105 ± 27	112 ± 50	0,03
IMC (kg/m ²)	27,3 ± 3,8	27,2 ± 3,7	0,8
Colesterol total (mg/dl)	232 ± 40	198 ± 43	< 0,001
cLDL (mg/dl)	151 ± 36	138 ± 37	< 0,001
cHDL (mg/dl)	50 ± 13	35 ± 9	< 0,001
Colesterol total/cHDL	4,9 ± 1,4	5,9 ± 1,7	< 0,001
Triglicéridos (mg/dl)	151 ± 77	124 ± 67	< 0,001
Lp(a) (mg/dl)	36 ± 43	54 ± 68	< 0,001
Homocisteína (μmol/l)	15,7 ± 7,3	14,6 ± 5,2	0,03
Microalbuminuria (mg/g creatinina)	27 ± 135	43 ± 150	0,17
Creatinina (mg/dl)	0,87 ± 0,31	0,81 ± 0,22	0,01

χ² = V; al cuadrado

comparación de medias entre 2 grupos y el análisis de la χ^2 para contrastar diferencias en la distribución de genotipos y otros factores de riesgo coronario, incluyendo sexo, hipertensión arterial, diabetes mellitus, tabaquismo y consumo de alcohol, así como hábitat y sedentarismo entre los pacientes y el grupo control.

La prueba de Kolmogorov-Smirnov se empleó para estimar la distribución normal de las variables. Se calcularon las *odds ratio* (OR) y los intervalos de confianza (IC) del 95% para estimar el riesgo de enfermedad coronaria asociada con variables continuas categorizadas (edad < 50 o ≥ 50 años; IMC < 26 o ≥ 26; consumo de alcohol < 30 o ≥ 30 g/día; presión arterial sistólica < 140 o ≥ 140 mmHg; presión arterial diastólica < 90 o ≥ 90 mmHg; colesterol total ≤ 200 o > 200 mg/dl; cHDL ≤ 65 o > 65 mg/dl; cLDL ≤ 160 o > 160 mg/dl; triglicéridos ≤ 150 o > 150 mg/dl; razón colesterol total/cHDL ≤ 5 o > 5; Lp(a) ≤ 30 o > 30 mg/dl; glucemia ≤ 126 o > 126 mg/dl; creatinina < 1 o ≥ 1 mg/dl; homocisteína ≤ 15 o > 15 μmol/l, y microalbuminuria < 30 o ≥ 30 mg/g de creatinina) y para variables discretas: diabetes sí/no, hábitat rural/urbano, hipertensión sí/no, sexo, tabaquismo sí/no y sedentarismo sí/no. El equilibrio de Hardy-Weinberg para las frecuencias de los genotipos de la ECA, del AGT y del AT1R fue probado por análisis de la χ^2 . Se calcularon las OR y los IC del 95% para estimar los riesgos relativos de enfermedad coronaria asociada con los polimorfismos ECA (I/D), AGT M235T y AT1R (A1166C). Finalmente, las variables independientes con capacidad predictora de enfermedad coro-

na se determinaron mediante análisis de regresión logística.

RESULTADOS

Análisis univariado

Estudio de pacientes, estilo de vida y factores de riesgo cardiovascular

Este estudio incluyó a 619 pacientes seleccionados de forma aleatorizada (460 varones y 159 mujeres) de edades comprendidas entre 25 y 80 años. Todos los pacientes completaron el protocolo de estudio establecido. En la tabla 1 se exponen las principales características de toda la población, separada en casos y controles. El sexo masculino, el hábitat urbano, el tabaquismo, la hipertensión arterial y la diabetes fueron factores significativamente más frecuentes en el grupo con enfermedad coronaria. El grupo control presentó valores significativos más elevados de cHDL. Los grupos no diferían significativamente con respecto a la edad, IMC, presión arterial sistólica y albuminuria. Sin embargo, la presión arterial diastólica, el colesterol total y el cLDL eran más bajos en los pacientes que en el grupo control, lo cual refleja probablemente el uso de medicación antihipertensiva e hipolipemiente como tratamiento habitual. Los pacientes coronarios presentaron un incremento significativo del cociente colesterol total/cHDL y Lp(a) plasmática. Paradójicamente, las concentraciones de homocisteína en el plasma fueron superiores en el

TABLA 2. Distribución de genotipos de la ECA, del AGT y AT1R

	Controles	Casos	χ^2	p
Genotipo ECA				
DD	137 (43,5)	128 (42,7)		
ID	132 (41,9)	140 (46,7)		
II	46 (14,6)	32 (10,6)		
Total	315	300	2,69	0,26
Genotipo AGT				
TT	59 (18,7)	87 (29,1)		
MT	157 (49,9)	145 (48,5)		
MM	99 (31,4)	67 (22,4)		
Total	315	299	11,61	0,003
Genotipo AT1R				
AA	150 (49,7)	133 (48,0)		
AC	126 (41,7)	122 (44,0)		
CC	26 (8,6)	22 (7,9)		
Total	302	277	0,34	0,844

Las cifras entre paréntesis indican el porcentaje del total.

grupo control que en los pacientes, aunque ambos valores estuvieron dentro del rango de normalidad.

Distribución de genotipos de la ECA, AGT y AT1R entre casos y controles

Para los polimorfismos ECA (I/D), AGT M235T y AT1R (A1166C) se confirmó que la proporción de genotipos se ajustaba al equilibrio de Hardy-Weinberg.

La distribución de frecuencias de los genotipos de la ECA, el AGT y AT1R para los polimorfismos mencionados se expone en la tabla 2. En nuestra población, la frecuencia del genotipo ECA DD era más alta (tabla 3) que la descrita para poblaciones de diverso origen étnico, incluidas otras poblaciones de origen caucasi-ano^{13,28-33}. Sin embargo, la frecuencia del genotipo DD no estaba significativamente incrementada entre los pacientes coronarios.

El examen de la distribución de frecuencias en el polimorfismo AGT M235T pone de manifiesto una di-

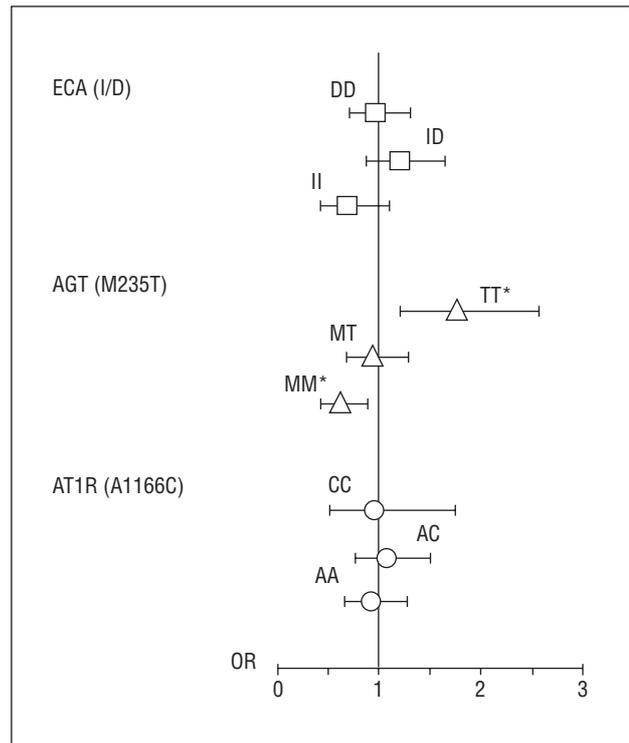


Fig. 2. Estimación del riesgo de enfermedad coronaria relacionada con los polimorfismos genéticos del gen de la enzima convertidora de angiotensina (ECA I/D), del angiotensinógeno (AGT M235T) y del AT1R (A1166C). OR: Odds ratio. *p < 0,05.

ferencia significativa ($\chi^2 = 11,60$; p = 0,003) entre los pacientes coronarios y los controles. La frecuencia del homocigoto TT era significativamente más alta ($\chi^2 = 9,08$; p = 0,002) entre los casos que entre los controles. No hubo diferencias en la distribución de frecuencias de los polimorfismos del AT1R entre pacientes y grupo control. Los riesgos (OR) de enfermedad coronaria entre individuos con los genotipos analizados se representan en la figura 2. Los análisis ajustados por edad no revelan cambios significativos para el polimorfismo ECA (I/D) y AT1R (A1166C). Sin embargo, el riesgo asociado con la homocigosis TT fue de 1,78

TABLA 3. Distribución de los genotipos de la ECA en diversos países

Región	Grupo control (n)	Genotipo			Autor y referencia bibliográfica
		DD (%)	ID (%)	II (%)	
Japón	76	18,3	48,9	32,8	Mizuiru et al ³²
Sur de Asia*	442	18,3	41,8	39,8	Sagnella et al ³¹
Chile	117	18,5	49,0	32,5	Jalil et al ²⁸
Australia	51	22,0	53,0	25,0	Smith et al ³³
Francia	157	30,6	44,0	25,4	Marre et al ²⁹
EE.UU.	2,340	30,9	49,2	19,9	Lindpaintner et al ¹³
Alemania	234	33,0	50,0	17,0	Schmidt et al ³⁰
Gran Canaria	315	43,5	41,9	14,6	Este estudio

*El estudio de Sagnella et al incluye diferentes grupos étnicos.

(IC del 95%, 1,22-2,59; $p < 0,05$), mientras que los participantes con genotipo MM presentaban una OR de 0,63 (IC del 95%, 0,43-0,90; $p < 0,05$). No se observaron diferencias significativas entre sujetos heterocigotos.

Análisis multivariado

El análisis de regresión logística múltiple paso a paso identificó a los individuos susceptibles de presentar un acontecimiento coronario. Se establecieron dos vectores de variables, uno con los genotipos y otro con los factores de riesgo coronario tradicionales. Tomando como punto de corte el 50%, el modelo establecido clasificó correctamente al 78% de los individuos, mientras que el 76% de los enfermos coronarios estaban clasificados de manera correcta. La sensibilidad del modelo fue del 74% y la especificidad del 80%.

En el análisis de regresión logística múltiple ajustada a distintos factores de riesgo, el genotipo TT presentaba una OR de 1,9 (IC del 95%, 1,06-3,40; $p = 0,03$). Los riesgos estimados más altos correspondieron a la diabetes (OR = 4,4; IC del 95%, 2,0-9,4; $p < 0,001$), el cociente colesterol total/cHDL (OR = 4,0; IC del 95%, 2,4-6,8; $p < 0,001$), el consumo de tabaco (OR = 2,7; IC del 95%, 1,7-4,3; $p < 0,001$) y de alcohol (OR = 2,2; IC del 95%, 1,2-4,2; $p = 0,02$) y la hipertensión (OR = 2,1; IC del 95%, 1,3-3,3; $p = 0,001$). No hubo evidencia estadística que sugiriera que algún genotipo del polimorfismo ECA (I/D) o AT1R (A1166C) pudiera mejorar la capacidad de predecir un acontecimiento coronario que la que se obtenía considerando los factores predictores tradicionales citados con anterioridad.

DISCUSIÓN

Las bases de las aproximaciones genéticas a enfermedades complejas han sido revisadas, entre otros, por Risch³⁴ en 1996. Junto a los problemas derivados del tamaño muestral y de la diversidad étnica, se añade el hecho de que existe una cierta tendencia a publicar aquellos trabajos en los que se ha demostrado una asociación positiva, sesgo éste que dificulta el análisis de todos los estudios de asociación^{14,35}. Una característica adicional de nuestro estudio es que se ha minimizado el efecto del sesgo de selección y la pérdida de pacientes –por mortalidad precoz–, al ser una población consecutiva estudiada durante la fase aguda del acontecimiento coronario.

Cambien et al¹⁰ fueron los primeros en describir la asociación entre el genotipo DD del gen de la ECA y el infarto de miocardio, encontrando una asociación más marcada entre aquellos sujetos con bajo perfil de riesgo coronario en virtud de los factores de riesgo clásicos. En otros estudios se ha relacionado el genotipo DD con la enfermedad coronaria²⁷, la reestenosis

coronaria^{36,37} y la historia familiar de infarto de miocardio¹¹. Por el contrario, no se obtuvieron evidencias de que las variaciones genéticas del polimorfismo I/D del gen de la ECA influyan de modo relevante en la incidencia de enfermedad coronaria en nuestra población. De forma análoga, en el estudio prospectivo de Lindpaintner¹³, en 1995, no se encontró asociación significativa entre este polimorfismo y la cardiopatía isquémica, aunque se apreció una reducción de la frecuencia de acontecimientos coronarios en los homocigotos II. Nosotros hemos encontrado una frecuencia más alta de la esperada del genotipo DD, tanto en los pacientes que sufrieron un episodio coronario como en la población control en comparación con estudios previos^{28,29,31}, incluido el estudio realizado en España por Espinosa et al³⁸, quienes determinaron una frecuencia del genotipo DD en la población control del 33,9%.

El genotipo TT del gen del angiotensinógeno está presente en el 19% de nuestra población control, mientras que sólo se encuentra en el 15% de la mayoría de las poblaciones occidentales⁷. Nuestros resultados demuestran que existe una fuerte asociación entre este polimorfismo y el riesgo de enfermedad coronaria. Así, los homocigotos TT tienen aproximadamente el doble de riesgo¹⁹, mientras que los homocigotos M235 presentan una disminución del riesgo para enfermedad coronaria. Aunque los estudios de asociación sugieren un papel del gen del AGT en la enfermedad hipertensiva, el ligamiento entre el gen del AGT y la hipertensión esencial descrita inicialmente por Jeunemaitre et al⁷ no ha sido reproducida en otros estudios^{39,40}. En nuestro análisis no se encontró una relación entre el polimorfismo M235T del gen del angiotensinógeno y la hipertensión, lo que indica que este polimorfismo constituye un factor de riesgo coronario independiente del grado de hipertensión arterial o del tratamiento antihipertensivo.

El análisis multivariado de regresión logística confirma al genotipo TT del angiotensinógeno como marcador que identifica a individuos con 2 veces más de probabilidad de desarrollar enfermedad coronaria, independientemente de que en él confluyan otros factores de riesgo ambientales.

Algunos estudios de asociación han analizado el perfil de riesgo de sufrir un acontecimiento coronario para las combinaciones entre las variantes polimórficas de ciertos genes del SRAA.

Tiret et al²⁰ describieron la asociación sinérgica de los homocigóticos DD (I/D) del gen de la ECA y CC del polimorfismo A1166C del gen AT1R. Para estos autores, esta interacción génica de riesgo para el infarto de miocardio podría sugerir un posible efecto epistático de los 2 genes, asumiendo que el alelo C del AT1R se asocie con una respuesta modificada del receptor a la angiotensina II, modulando así el posible riesgo conferido por el alelo D del gen de la ECA. Álvarez et al²¹, en una población española joven, de-

sarrollaron un estudio de casos y controles determinando los genotipos I/D del gen de la ECA y A1166C del gen del receptor 1 de la angiotensina II. Por separado no se observó asociación; sin embargo, los genotipos ECA-DD y AT1R-CC interactuando sinérgicamente se asociaron de manera significativa con la enfermedad arterial coronaria (OR = 5,32; IC del 95%, 1,45-19,51). Al contrario, Gardemann et al⁴¹ no hallan una interacción sinérgica de las variantes polimórficas del gen de la ECA y del AT1R con enfermedad coronaria en 2.244 varones caucásicos. De igual forma, Rice et al⁴² demostraron una ausencia de asociación sinérgica con el infarto de miocardio, aunque encontraron una débil asociación de algunos genotipos (AC/II y CC/DD) con estenosis coronaria. En concordancia con estos estudios, nosotros no hemos encontrado una asociación *per se* del polimorfismo AT1R (A1166C) con la enfermedad isquémica coronaria. Tampoco encontramos efectos epistáticos entre las variantes polimórficas del gen de la ECA y del AT1R (datos no expuestos).

En nuestro trabajo se confirma que la diabetes mellitus –con una prevalencia del 12% en el grupo control– es un factor de riesgo muy importante para enfermedad coronaria, que puede guardar relación con factores genéticos y ambientales presentes en la población canaria. Además, nuestra población presenta uno de los valores más altos de colesterol total y cLDL y cuenta con la peculiaridad de ser una región con elevado consumo de tabaco⁴³. La prevalencia de hipertensión arterial, sin embargo, no difiere de otras zonas españolas o europeas⁴⁴.

La relación del genotipo TT del angiotensinógeno con la cardiopatía isquémica encontrada en nuestro estudio, de confirmarse en estudios más amplios y en el resto de la población española, podría tener un especial interés en lo que se refiere a la aplicación de medidas preventivas más agresivas sobre esta subpoblación.

CONCLUSIONES

El genotipo CC del receptor AT1 de la angiotensina II y el genotipo DD de la enzima conversiva de la angiotensina no se comportan como predictores de enfermedad coronaria. Sin embargo, la homocigosis TT del gen del angiotensinógeno predispone de manera independiente a la aparición de un primer episodio coronario en la población canaria.

AGRADECIMIENTO

Expresamos nuestro agradecimiento a todos los médicos y enfermeros de diferentes centros sanitarios, UAP, municipios y empresas que colaboraron en este estudio. También agradecemos su colaboración tanto a los pacientes como a aquellas personas que sin recibir nada a cambio participaron como grupo control.

BIBLIOGRAFÍA

- Hunt SC, Williams RR, Barlow GK. A comparison of positive family history definitions for defining risk of future disease. *J Chronic Dis* 1986; 39: 809-821.
- Fuster V, Lewis A. Conner Memorial Lecture. Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. *Circulation* 1994; 90: 2126-2146.
- Busjahn A, Knoblauch H, Knoblauch M, Bohlender J, Menz M, Faulhaber HD et al. Angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen gene polymorphisms, plasma levels, cardiac dimensions. A twin study. *Hypertension* 1997; 29: 165-170.
- Lonn EM, Yusuf S, Jha P, Montague TJ, Teo KK, Benedict CR et al. Emerging role of angiotensin-converting enzyme inhibitors in cardiac and vascular protection. *Circulation* 1994; 90: 2056-2069.
- Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA, Basta L, Brown EJ Jr, Cuddy TE et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators. *N Engl J Med* 1992; 327: 669-677.
- 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.
- Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevtsev YV, Lifton RP, Williams CS, Charu A et al. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell* 1992; 71: 169-180.
- Bonnardeaux A, Davies E, Jeunemaitre X, Fery I, Charu A, Clauser E et al. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension. *Hypertension* 1994; 24: 63-69.
- Tiret L, Rigat B, Visvikis S, Breda C, Corvol P, Cambien F et al. Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet* 1992; 51: 197-205.
- Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359: 641-644.
- Tiret L, Kee F, Poirier O, Nicaud V, Lecerf L, Evans A et al. Deletion polymorphism in angiotensin-converting enzyme gene associated with parental history of myocardial infarction. *Lancet* 1993; 341: 991-992.
- Bohn M, Berge KE, Bakken A, Erikssen J, Berg K. Insertion/deletion (I/D) polymorphism at the locus for angiotensin I-converting enzyme and parental history of myocardial infarction. *Clin Genet* 1993; 44: 298-301.
- Lindpaintner K, Pfeffer MA, Kreutz R, Stampfer MJ, Grodstein F, LaMotte F et al. 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.
- Samani NJ, Thompson JR, O'Toole L, Channer K, Woods KL. A meta-analysis of the association of the deletion allele of the angiotensin-converting enzyme gene with myocardial infarction. *Circulation* 1996; 94: 708-712.
- Caulfield M, Lavender P, Farrall M, Munroe P, Lawson M, Turner P et al. Linkage of the angiotensinogen gene to essential hypertension. *N Engl J Med* 1994; 330: 1629-1633.
- Inoue I, Nakajima T, Williams CS, Quackenbush J, Puryear R, Powers M et al. 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.
- Niu T, Xu X, Rogus J, Zhou Y, Chen C, Yang J et al. Angiotensinogen gene and hypertension in Chinese. *J Clin Invest* 1998; 101: 188-194.
- Ward K, Hata A, Jeunemaitre X, Helin C, Nelson L, Namikawa C et al. A molecular variant of angiotensinogen associated with pre-eclampsia. *Nat Genet* 1993; 4: 59-61.

19. Rodríguez-Perez J, Rodríguez-Esparragón F, Hernández-Perera O, Anabitarte A, Losada A, Medina A et al. Association of Angiotensinogen M235T and A(-6)G gene polymorphisms with Coronary Heart Disease with independence of essential hypertension: The PROCAGENE Study. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 1536-1542.
20. Tiret L, Bonnardeaux A, Poirier O, Ricard S, Marques-Vidal P, Evans A et al. Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin-II type 1 receptor gene polymorphisms on risk of myocardial infarction. *Lancet* 1994; 344: 910-913.
21. Álvarez R, Reguero JR, Batalla A, Iglesias-Cubero G, Cortina A, Álvarez V et al. Angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor 1 polymorphisms: association with early coronary disease. *Cardiovasc Res* 1998; 40: 375-379.
22. Villar-Álvarez F, Banegas-Banegas JR, Rodríguez-Artalejo F, Del Rey-Calero J. Cardiovascular mortality in Spain and its autonomous communities (1975-1992). *Med Clin (Barc)* 1998; 110: 321-327.
23. O'Brien E, Mee F, Atkins N, Thomas M. Evaluating of three devices for self-measurement of blood pressure according to the revised British Hypertension Society Protocol: The Omron HEM-705CP, Phillips HP5332, and Nissei DS-175. *Blood Press Monit* 1996; 1: 55-61.
24. Rigat B, Hubert C, Corvol P, Soubrier F. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucleic Acids Res* 1992; 20: 1433.
25. Shanmugam V, Sell KW, Saha BK. Mistyping ACE heterozygotes. *PCR Methods Appl* 1993; 3: 120-121.
26. Baboolal K, Ravine D, Daniels J, Williams N, Holmans P, Coles GA et al. Association of the angiotensin I converting enzyme gene deletion polymorphism with early onset of ESRF in PKD1 adult polycystic kidney disease. *Kidney Int* 1997; 52: 607-613.
27. Nakauchi Y, Suehiro T, Yamamoto M, Yasuoka N, Arai K, Kumon Y et al. Significance of angiotensin I-converting enzyme and angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms as risk factors for coronary heart disease. *Atherosclerosis* 1996; 125: 161-169.
28. Jalil JE, Piddo AM, Cordova S, Chamorro C, Braun S, Jalil R et al. Prevalence of the angiotensin I converting enzyme insertion/deletion polymorphism, plasma angiotensin converting enzyme activity, and left ventricular mass in a normotensive Chilean population. *Am J Hypertens* 1999; 12: 697-704.
29. Marre M, Jeunemaitre X, Gallois Y, Rodier M, Chatellier G, Sert C et al. Contribution of genetic polymorphism in the renin-angiotensin system to the development of renal complications in insulin-dependent diabetes: Genetique de la Nephropathie Diabetique (GENEDIAB) Study Group. *J Clin Invest* 1997; 99: 1585-1595.
30. Schmidt S, Stier E, Hartung R, Stein G, Bahnisch J, Woodroffe AJ et al. No association of converting enzyme insertion/deletion polymorphism with immunoglobulin A glomerulo-nephritis. *Am J Kidney Dis* 1995; 26: 727-731.
31. Sagnella GA, Rothwell MJ, Onipinla AK, Wicks PD, Cook DG, Capuccio FP. A population study of ethnic variations in the angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism: relationships with gender, hypertension and impaired glucose metabolism. *J Hypertens* 1999; 17: 657-664.
32. Mizuiri S, Hemmi H, Inoue A, Yoshikawa H, Tanegashima M, Fushimi T et al. Angiotensin-converting enzyme polymorphism and development of diabetic nephropathy in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Nephron* 1995; 70: 455-459.
33. Smith T, Panagiotopoulos S, Aldred P, Baker L, Jacklin C, Jerums G. Angiotensin converting enzyme (ACE) gene polymorphism in NIDDM with elevated albuminuria [resumen]. *J Am Soc Nephrol* 1995; 6: 456.
34. Risch N, Merikangas K. The future of genetic studies of complex human diseases. *Science* 1996; 273: 1516-1517.
35. Barley J, Blackwood A, Sagnella G, Markandu N, MacGregor G, Carter N. Angiotensinogen Met235→Thr polymorphism in a London normotensive and hypertensive black and white population. *J Hum Hypertens* 1994; 8: 639-640.
36. Guarda E, Fajuri A, Marchant E, Martínez A, Jalil J, Illanes G et al. El genotipo D/D del gen de la enzima conversiva de la angiotensina como factor de riesgo de reestenosis post-stent coronario. *Rev Esp Cardiol* 1999; 52: 475-480.
37. Hamon M, Bauters C, Amant C, McFadden EP, Helbecque N, Lablanche JM et al. Relation between the deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and late luminal narrowing after coronary angioplasty. *Circulation* 1995; 92: 296-299.
38. Espinosa JS, Rueda E, Muñoz E, Montiel A, Martínez S, Diéguez JL et al. Association between myocardial infarction and angiotensin converting enzyme gene polymorphism in young patients. *Med Clin (Barc)* 1998; 110: 488-491.
39. Brand E, Chatelain N, Keavney B, Caulfield M, Citterio L, Connell J et al. Evaluation of the angiotensinogen locus in human essential hypertension: a european study. *Hypertension* 1998; 31: 725-729.
40. Wang WY, Glenn CL, Zhang W, Benjafield AV, Nyholt DR, Morris BJ. Exclusion of angiotensinogen gene in molecular basis of human hypertension: sibpair linkage and association analyses in Australian Anglo-Caucasians. *Am J Med Genet* 1999; 87: 53-60.
41. Gardemann A, Nguyen QD, Humme J, Stricker J, Katz N, Tillmanns H et al. Angiotensin II type 1 receptor A1166C gene polymorphism. Absence of an association with the risk of coronary artery disease and myocardial infarction and of a synergistic effect with angiotensin-converting enzyme gene polymorphism on the risk of these diseases. *Eur Heart J* 1998; 19: 1657-1665.
42. Rice GI, Foy CA, Grant PJ. Angiotensin converting enzyme and angiotensin II type 1-receptor gene polymorphisms and risk of ischaemic heart disease. *Cardiovasc Res* 1999; 41: 746-753.
43. Instituto Nacional de Estadística. Encuesta de Presupuestos Familiares 1990-1991. Consumo de alimentos, bebidas y tabaco en cantidades físicas. Madrid: Instituto Nacional de Estadística, 1994.
44. Coca A. Control de la hipertension arterial en España. Resultados del estudio Controlpres 95. *Hipertension* 1995; 12: 182-188.