

Actividad Plasmática de la Enzima Convertidora de Angiotensina I en Población Chilena Normal y relación con el Genotipo Inserción/Delección (I/D) de la Enzima Convertidora de Angiotensina

Jorge E Jalil¹, Samuel Córdova¹, QF Ana María Piddo¹, Gastón Chamorro¹, Sandra Braun¹, PhD Jeanette Vega³, Lilliana Jadue³, PhD Sergio Lavandero⁴, Roberto Jalil², Patricia Lastra⁵, EU Carmen Garrido⁵

Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamentos de Enfermedades Cardiovasculares (1), Nefrología (2) y Salud Pública (3); Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas (4) y Servicio de Salud Valparaíso (5)

Trabajo financiado parcialmente con proyecto FONDECYT (1961065) y con un Programa de Intercambio de Investigación Conicyt-INSERM

El objetivo del estudio fue estimar la prevalencia de los distintos alelos del polimorfismo del gen de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), inserción/delección (I/D) y simultáneamente la actividad de ECA plasmática (pl) asociada en población sana chilena normotensa. 117 sujetos sanos normotensos (entre 45 y 60 años, de nivel socioeconómico medio, no obesos ni diabéticos) fueron seleccionados de un estudio poblacional sobre prevalencia de factores de riesgo de enfermedades crónicas.

Las frecuencias de los alelos I y D fueron 0,57 y 0,43 respectivamente. La actividad de ECApl fue en promedio 15,3±3,9 U/mL. Comparado con sujetos con genotipo II, la actividad de ECApl fue significativamente mayor en sujetos con genotipo ID y DD sin diferencias entre ellos.

No se observó correlación entre actividad de ECApl y masa VI en ningún sexo ni en los distintos genotipos. El análisis de regresión lineal multivariado (que usó masa VI e índice de masa VI como variables dependientes mostró efectos independientes ($p < 0,05$) del sexo (mayor masa VI en varones) y de la presión diastólica, pero no del genotipo DD.

En conclusión, en esta población la presencia del alelo D del gen de la ECA determina mayor actividad de ECA circulante, lo cual podría estar asociado a mayor morbilidad cardiovascular. En esta población sana normotensa, el sexo masculino y la presión diastólica, pero no la presencia del alelo D, están asociados a mayor masa VI.

Plasma Activity of Angiotensin I Converting Enzyme in a Normal Chilean Population and its Relation to de I/D Polymorphism

The aim of this study was to estimate the prevalence of the different alleles of the ACE gene insertion/deletion (I/D) polymorphism and associated plasma ACE activity as well as cardiac echocardiographic structure in healthy Chilean

Correspondencia: Dr. Jorge E Jalil. Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Enfermedades Cardiovasculares. Marcoleta 347, Of 19. Santiago, Chile. Fono: 686 3342. Fax: 6333171. email jjalil@med.puc.cl

population. 117 healthy normotensive subjects (age 45 to 60 years, middle socioeconomic status, non obese and non-diabetic) were selected from a population-based study concerning prevalence of risk factors for chronic diseases. The frequencies of the I and D alleles were 0.57 and 0.43 respectively. Mean plasma ACE activity was 15.3 ± 3.9 U/mL. Compared to subjects with the II genotype, plasma ACE activity was significantly higher in subjects with the ID and DD genotypes without difference between them. No correlation was observed between blood pressure and plasma ACE activity. Among the 3 different genotypes there was no difference in LV dimensions neither in LV mass. No correlation between plasma ACE activity and LV mass was observed in either gender nor in different genotypes. Multivariate linear regression analysis using LV mass and LV mass index as dependent variables showed independent effects ($p < 0.05$) of gender (higher LV mass in males) and diastolic blood pressure, but not of the DD genotype. In conclusion, in this population, the presence of the D allele on the ACE gene determines higher circulating ACE activity, which might be associated to increased cardiovascular morbidity. In this normotensive healthy population, the male gender and diastolic blood pressure, but not the presence of the D allele are associated to increased LV mass.

INTRODUCCIÓN

La enzima convertidora de angiotensina I (ECA o cininasa II, EC 3,4,15,1) convierte el decapeptido angiotensina I al octapeptido vasoactivo angiotensina II y también degrada bradicinina. De esta forma, la actividad de esta enzima determina los niveles circulantes y tisulares de angiotensina II y contribuye a regular el tono vascular, la presión arterial y posiblemente algunos procesos de remodelado cardiovascular¹.

En la población caucásica, el polimorfismo inserción/delección (I/D) del gen de la ECA determina casi en un 50% los niveles circulantes de la ECA^{2,3}. Niveles circulantes mayores de ECA están asociados con la presencia del alelo delección (D) y posiblemente están relacionados con un incremento de morbilidad cardiovascular y renal⁴⁻⁶. En humanos, este polimorfismo podría ser un marcador de una secuencia variante cercana, aún no identificada, que modula la expresión del gen de la ECA de tal forma que el alelo D está asociado con mayor actividad ECA en el plasma³, en linfocitos⁷ y en tejido cardíaco⁸.

Aunque existen numerosos estudios en Norteamérica, Europa y Japón respecto a la relación entre polimorfismo ECA I/D y algunas enfermedades cardiovasculares, hay sólo un estudio en sujetos latinoamericanos que evalúa la prevalencia de distintos genotipos ECA I/D⁹, pero ningún estudio que evalúe la relación entre este polimorfismo y los niveles circulantes de ECA.

El propósito de este estudio fue estimar la prevalencia de los distintos alelos del polimorfismo ECA I/D en relación con la actividad de ECApl en población chilena normotensa de edad media. También se de-

terminó la relación entre el polimorfismo ECA I/D y la actividad de ECApl con la masa y función ventricular izquierda independientes de la edad, masa corporal y presión arterial.

MÉTODOS

Diseño de estudio. El estudio fue aprobado por la Comisión de Investigación de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Los sujetos participantes fueron individuos sanos, normotensos (PA <140/90 mm Hg medida en dos ocasiones diferentes, en posición sentada, que no recibían medicamentos antihipertensivos, que fueron seleccionados a partir de un estudio poblacional sobre prevalencia de factores de riesgo de enfermedades crónicas realizado en Valparaíso, estudio CARMEN). En ese estudio, un grupo de 3.120 individuos fueron elegidos al azar¹⁰. Dado que existen pocos registros de población en Chile, la compañía de agua potable en el área (ESVAL) permitió acceso a su base de datos con la dirección de todos sus clientes, ordenados en forma geográfica. En la base de datos había 56.174 hogares, lo cual cubría el 78,4% de la población de Valparaíso. Solamente un individuo entre los 25 y 64 años fue entrevistado en cada casa. Para elegir al participante, se efectuó un censo de los habitantes en cada casa. El sujeto fue elegido entre los individuos elegibles al aplicar una tabla Kihss para selección individual al azar. Las personas de esta muestra original, que cumplieran el criterio de inclusión para nuestro estudio fueron contactados por correo, teléfono o por medio de una visita personal e invitadas a participar (40 fueron ex-

cluidos luego del examen debido a apellidos extranjeros o a hipertensión tratada).

La presión arterial se determinó 2 veces en posición sentada y luego, en el momento del examen ecocardiográfico (tres veces en la misma posición). Para el análisis, se utilizaron las últimas determinaciones, las que fueron promediadas.

Criterios de inclusión. Personas sanas, no hipertensas, de edad entre los 45 y 60 años, nacidos en Chile, con apellidos paternos y maternos (de ellos y de sus padres) de origen español, de nivel socioeconómico medio (escala de Graffar 2 a 4), no obesos (índice de masa corporal $<28 \text{ Kg/m}^2$) y no diabéticos. Estos criterios fueron seleccionados para controlar la muestra por antecedente genético, influencias sociogenéticas¹¹ y los efectos de la masa corporal sobre la masa VI. Las características demográficas y resultados de laboratorio de estos sujetos se muestran en la Tabla 1.

Extracción de ADN y determinación del polimorfismo de la ECA. El polimorfismo de la ECA se determinó en ADN extraído de leucocitos y amplificado por medio de reacción de polimerización en cadena (PCR). Después que los sujetos firmaron el consentimiento informado, se obtuvo una muestra de sangre en un tubo con EDTA. La sangre se centrifugó a temperatura ambiente, el supernadante se eliminó y las células fueron resuspendidas (en solución NaCl 0,9% estéril) y centrifugadas. El pellet se lavó en tampón de lisis, y se resuspendió en 1 ml de DNazol (Gibco BRL, NY, USA). Se agregó etanol absoluto para precipitar el ADN. Se extrajo el etanol y se secó el ADN, se resuspendió en NaOH 8 mM e incubó a 50°C (20 minutos).

Amplificación del ADN y electroforesis del gel. El ADN fue amplificado por PCR de acuerdo al método descrito por Rigat et al¹² en un termociclador Techne (Cambridge, UK). La mezcla de reacción contenía tampón de PCR 1X, MgCl_2 1,5 mM, dNTPs 200 μM , Taq polimerasa 1 UI (Gibco BRL, NY, USA). La secuencia de los partidores utilizados fue: partidor 1 (oligonucleotido sentido): 5' CTG GAG ACC ACT CCC ACT CTT TCT 3' (ACE1, Eurogentecs, Francia) y del partidor 2 (antisentido): 5' GAT GTG GCC ATC ACA TCC GTC AGAT 3' (ACE2, Eurogentecs, Francia) y ADN (50-200 ng). Los ciclos de amplificación del ADN fueron: un ciclo a 94°C por 5 min, luego 30 ciclos cada uno (1 minuto a 94°C; para denaturar en ADN), 1 min a 60°C (para su annealing o anillamiento) y 1 min a 72°C (para la extensión).

Tabla 1. Características Demográficas y de Laboratorio (promedio \pm DS)

	(n = 117)
Edad (años)	51,9 \pm 4,9
Hombres/Mujeres (n)	40/77
Índice de Masa Corporal (Kg/m^2)	24,1 \pm 2,6
Presión Arterial Sistólica (mm Hg)	123,9 \pm 9,4
Presión Arterial Diastólica (mm Hg)	74,7 \pm 7,1
Creatinina sérica ($\mu\text{M/L}$)	67,1 \pm 17,7
Hematocrito (%)	43,2 \pm 3,9
Potasio (plasma, mM/L)	4,3 \pm 0,5
n (%) genotipo II	42 (36)
n (%) genotipo ID	56 (48)
n (%) genotipo DD	19 (16)
Actividad de ECA plasmática (U/mL)	15,3 \pm 3,9
Dimensión de fin de diástole (mm)	47 \pm 4
Dimensión de fin de sístole (mm)	27 \pm 5
Diámetro auricular izquierdo (mm)	36 \pm 4
Velocidad de onda E (m/sec)	63,1 \pm 12,7
Velocidad de onda A (m/sec)	60 \pm 12,2
E/A	1,1 \pm 0,3
Masa VI (g)	121,3 \pm 35,8
Índice de masa VI (g/m^2)	72,4 \pm 17,7

Los productos de la amplificación se mezclaron con azul de bromofenol, se incubaron a 65°C y fueron transferidos a un gel de electroforesis de agarosa. El gel se tiñó con bromuro de etidio, y se visualizó (y fotografió) en un transluminador UV. El producto del PCR correspondió a un fragmento de 190 pares de base en presencia del alelo D y a un fragmento de 490 pares de base en presencia del alelo I.

Medición de la actividad de ECA plasmática. Se obtuvo otra muestra de sangre en un tubo mantenido en frío y heparinizado (en ayunas). La muestra se centrifugó dentro de las 2 horas siguientes a 4°C. El plasma se guardó en nitrógeno líquido y se procesó dentro de las 4 semanas. El método utilizado para medir la actividad se basó en la determinación espectrofluorimétrica de histidil-L-leucina (HL) usando Z-fenil-histidil-leucina (Bachem Bioscience Inc, USA) como sustrato de la ECA¹³⁻¹⁶. Se incubaron 50 μl de plasma por 20 min a 37°C y se agregó 100 μl de ácido tricloroacético glacial (10%) para detener la reacción. Luego, las muestras fueron centrifugadas a

4°C, el supernadante fue neutralizado agregando NaOH seguido por la adición de una solución de oftalaldehído. Las muestras se incubaron nuevamente a 37°C por 10 min y la reacción fue detenida al agregar HCl 2N. Se midió la fluorescencia dentro de 60 min en un espectrofluorímetro Aminco-Bowman (usando λ de excitación = 356 nm y λ de emisión = 500 nm). Las lecturas se interpolaron en una curva de calibración y se calculó la cantidad de HL formada. La actividad de ECA se expresó como U/mL (1 U = nmol HL producido en 20 minutos en 0,05 mL). Todas las determinaciones se realizaron en duplicado. Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron de 1%¹³⁻¹⁶.

Mediciones ecocardiográficas. Se realizaron con un transductor de 3,5 Mhz contemporáneamente con la toma de muestras de sangre por un solo ecocardiografista usando un equipo Aloka SSD 875. Todas las mediciones se hicieron de acuerdo a las recomendaciones de la Asociación Americana de Ecocardiografía -ASE-¹⁷ midiendo 3-5 ciclos cardíacos consecutivos. En eje corto parasternal izquierdo se midió: grosor del septum interventricular (Sp) y grosor de la pared posterior (Pp), dimensiones de fin de diástole (DD) y de fin de sístole (DS) del VI. Con estas variables se cal-

culó la masa y el índice de masa VI de acuerdo a la fórmula de Devereux modificada por la ASE¹⁸. La función diastólica se evaluó con Doppler pulsado, midiendo a nivel de la válvula mitral en la visión apical de 4 cámaras. Se midieron las siguientes variables: velocidad de las ondas E y A, y la relación E/A.

Análisis estadístico. Los resultados están presentados como promedio \pm DS. Se usó prueba de t no pareada, ANOVA con un factor (y posteriormente test de Student-Newmann-Keuls) y chi cuadrado. También se usó regresión lineal simple y análisis de regresión lineal multivariado (usando masa e índice de masa VI como variables dependientes).

RESULTADOS

Se evaluaron 117 sujetos consecutivos. Sus características demográficas y datos de laboratorio están en la Tabla 1. Los sujetos de ambos sexos fueron similares en cuanto a edad, índice de masa corporal y presión arterial (PA) sistólica. Los valores de presión diastólica, creatinina sérica, hematocrito y potasio plasmático fueron levemente mayores en los hombres ($p < 0,05$) (Tabla 2).

Tabla 2. Características por sexo (promedio \pm DS)

	Hombres (n= 40)	Mujeres (n= 77)	p
Edad (años)	51,7 \pm 5,3	52,1 \pm 4,7	ns
Índice de masa corporal (Kg/m ²)	24,3 \pm 3	24,1 \pm 2,3	ns
Presión Arterial Sistólica (mm Hg)	122,9 \pm 9,7	124,4 \pm 9,2	ns
Presión Arterial Diastólica (mm Hg)	76,7 \pm 6,3	73,7 \pm 7,3	p < 0,04
Creatinina sérica (μ M/L)	76 \pm 17,7	62,8 \pm 8,8	p < 0,01
Hematocrito (%)	46,7 \pm 3,3	41,3 \pm 2,7	p < 0,01
Potasio (plasma, mM/L)	4,4 \pm 0,4	4,2 \pm 0,5	p < 0,02
n (%) genotipo II	18 (45)	24 (31)	ns
n (%) genotipo ID	14 (35)	42 (55)	ns
n (%) genotipo DD	8 (20)	11 (14)	ns
Actividad de ECA plasmática (U/mL)	15,2 \pm 3,6	15,3 \pm 4,1	ns
Dimensión de fin de diástole (mm)	49 \pm 5	46 \pm 4	p < 0,01
Dimensión de fin de sístole (mm)	30 \pm 5	26 \pm 4	p < 0,01
Diámetro auricular izquierdo (mm)	37,3 \pm 4	35,2 \pm 4	p < 0,01
Velocidad de onda E (m/sec)	61 \pm 12	64 \pm 13	ns
Velocidad de onda A (m/sec)	57,7 \pm 13,6	61,2 \pm 11,4	ns
E/A	1,1 \pm 0,3	1,1 \pm 0,3	ns
Masa VI (g)	144 \pm 42,6	109 \pm 24,2	p < 0,01
Índice de masa VI (g/m ²)	81 \pm 21	68 \pm 14	p < 0,01

Tabla 3. Características generales y actividad de ECA en cada genotipo

	(II, n = 42)	(ID, n = 56)	(DD, n = 19)	F	p
Hombres/Mujeres (n)	18/24	14/42	8/11		
Edad (años)	53,3±5,1	51,5±4,9	50,4±4,1	2,8	ns
Índice de masa corporal (Kg/m ²)	24±3	24,5±2,2	23,3±2,8	1,7	ns
PA sistólica (mm Hg)	123,4±9,8	123,6±9,6	126,1±8,2	0,6	ns
PA diastólica (mm Hg)	74,3±7,2	74,6±7,3	76,2±6,3	0,5	ns
Creatinina sérica (µM/L)	71,6±17,7	62,8±17,7	68,9±8,8	4,9	<0,01
Hematocrito (%)	44,2±3,9	42,4±3,3	41,2±5	2,4	ns
Potasio (plasma, mM/L)	4,3±0,5	4,3±0,4	4,4±0,5	0,9	ns
ECA plasmática (U/mL)	12,6±2,6	16,5±3,6*	17,6±4*	21,7	<0,001

Promedio ± DS, * = p < 0,05 vs genotipo II (post ANOVA)

Genotipos ECA I/D. El alelo D se encontró presente en el 64% de los sujetos (55% en hombres y 69% en mujeres) (Tabla 2) y el alelo I se encontró en el 84% de los sujetos (80% en hombres y 81% en mujeres). Las frecuencias de los alelos D e I fueron 0,57 y 0,43 respectivamente y la distribución no se desvió significativamente del equilibrio de Hardy Weinberg.

No se observó diferencias significativas en la distribución de los tres genotipos respecto al sexo (Tabla 2). En los tres genotipos, la edad, masa corporal, presión sanguínea, hematocrito, sodio y potasio plasmáticos fueron similares, pero el nivel de creatinina plasmática fue levemente mayor en sujetos con genotipo II (Tabla 3).

No hubo correlación entre la actividad de ECA plasmática y el índice de masa corporal, presión arterial (PA), potasio ni hematocrito. No se observó ningu-

na correlación entre PA y actividad de ECA en plasma en ninguno de los tres distintos genotipos. La distribución de los grupos sanguíneos clásicos entre los tres genotipos fue similar (Tabla 4).

Masa y función VI. Los diámetros sistólico y diastólico, el grosor del septum interventricular y de la pared posterior del VI –y por lo tanto la masa en índice de masa VI– fueron mayores en hombres (Tabla 2). No se observó diferencia entre los 3 distintos genotipos en cuanto a dimensiones ni a masa VI (Tabla 5). No hubo diferencia en la masa VI entre los sujetos con genotipo II y los sujetos con genotipos I/D ni DD.

En todo el grupo, la masa y el índice de masa VI se correlacionaron modestamente con la PA diastólica (r=0,31 y 0,25 respectivamente, p < 0,01), pero no con la actividad de ECA plasmática ni con la PA sistólica.

Tabla 4. Frecuencia de grupos sanguíneos en cada genotipo

Grupo sanguíneo	(II, n = 42)	(ID, n = 56)	(DD, n = 19)
O	22	33	7
A	14	18	10
B	4	4	0
AB	2	1	2

Chi cuadrado = 4,763, p=0,57

Tabla 5. Dimensiones cardíacas, función diastólica y masa VI en cada genotipo

	(II, n= 42)	(ID, n= 56)	(DD, n= 19)	F	p
Dimensión de fin de diástole (mm)	47±4	48±5	46±6	1,3	ns
Dimensión de fin de sístole (mm)	26±3	28±4	28±7	0,1	ns
Diámetro auricular izq. (mm)	36,1±4	35,8±4	36±4	1,7	ns
Velocidad de onda E (m/sec)	62,3±11,5	62,1±12,3	68,1±16	3,9	ns
Velocidad de onda A (m/sec)	61,7±11,3	58,4±12,6	60,8±13,1	0,9	ns
E/A	1,03±0,2	1,11±0,3	1,17±0,4	1,7	ns
Masa VI (g)	124,1±43,6	119,7±27	119,3±39,9	0,2	ns
Índice de masa VI (g/m ²)	74±21	71±14	73±20	0,3	ns

promedio ± DS

No se encontró relación entre actividad de ECApl y masa VI en ningún sexo ni en los distintos genotipos.

El análisis de regresión lineal multivariado usando masa e índice de masa VI como variables dependientes demostró efectos independientes ($p < 0,05$) del sexo (mayores niveles de masa VI en hombres) y de la PA diastólica, pero no del genotipo DD.

DISCUSIÓN

Uno de los factores que influyen la actividad plasmática de ECA es la edad¹⁹. En población caucásica, la actividad de ECA circulante es más alta en niños que en adultos, y decrece antes de la pubertad²⁰⁻²³. Para controlar esta variable, nuestro estudio fue realizado en adultos de edad media. Por otro lado, la actividad de ECA circulante no está asociada con otros factores ambientales²⁴.

Las concentraciones de ECA plasmática son muy estables en un mismo individuo, con grandes diferencias entre distintos sujetos lo que sugirió una influencia genética²⁵. El polimorfismo ECA I/D está relacionado con diferencias en los niveles de ECA plasmática (pl) en sujetos caucásicos sanos, dando cuenta del 47% de la variación fenotípica total de la ECA pl². Un determinismo genético similar de la actividad de esta enzima se ha observado en ratas²⁶. Además, a nivel tisular, en el corazón humano, la actividad ECA es mayor en sujetos con genotipo DD que en sujetos con genotipos ID o II⁸.

En base a respuestas comparativas a acetilcolina y a nitroprusiato en vasos sanguíneos de sujetos hiper-

tensos, se ha sugerido que la homocigosidad para el alelo D se caracteriza por una reducción significativa en la vasorelajación dependiente de endotelio en comparación al genotipo ID²⁷. En sujetos sin hipertensión, cardiopatía coronaria o diabetes, una mayor actividad de la ECA en el plasma se ha asociado con un mayor engrosamiento de la pared carotídea²⁸. De esta manera, este polimorfismo también podría afectar la estructura y función vascular.

En un subgrupo de pacientes del estudio CATS, la actividad de ECApl medida después de un infarto al miocardio²⁹ y la presencia del genotipo DD³⁰, fueron predictores significativos de dilatación ventricular posterior, lo que sugiere un rol de este genotipo en la remodelación nociva del VI post infarto.

Estas asociaciones resaltan la importancia de estimar la distribución de estos genotipos en la población general y en subgrupos de pacientes con enfermedades cardiovasculares. Un meta-análisis reciente respecto a este polimorfismo y enfermedades cardiovasculares concluyó que el alelo D se comporta como un marcador de complicaciones cardiovasculares ateroescleróticas y de nefropatía diabética³¹.

En la presente muestra de población sana normotensa, la prevalencia de los genotipos II, ID y DD fueron 0,36, 0,48 y 0,16, respectivamente. Estas prevalencias pueden ser extrapoladas a la población general debido a que la muestra de la población fue tomada al azar. Esta es una de las fortalezas de este estudio, diferenciándose de la mayoría de los estudios observacionales con este polimorfismo en donde las muestras no se han obtenido de población general.

En un meta-análisis de 15 estudios en pacientes con infarto agudo al miocardio (IAM) en población caucásica y japonesa, las prevalencias de los genotipos II, ID y DD los sujetos controlados fueron 0,23, 0,49 y 0,28, respectivamente, con diferencias significativas en la distribución de los genotipos en las tres poblaciones japonesas comparadas con los controles caucásicos³². En los estudios japoneses la prevalencia observada del alelo D fue significativamente menor (0,39) que en los estudios caucásicos (0,54)³⁰ y la presencia del genotipo DD se asoció —en los japoneses— a un mayor riesgo de IAM comparado con los genotipos ID o II. La prevalencia observada del alelo D y la distribución de los tres genotipos en nuestra muestra de sujetos normotensos y no diabéticos es más cercana a los sujetos controles en población japonesa a los sujetos controles caucásicos. En forma interesante, la actividad de ECApl en nuestros sujetos sanos normotensos fue similar en los sujetos heterocigotos ID y en sujetos homocigotos DD, sugiriendo dominancia del alelo D. Estos resultados son diferentes a lo reportado en estudios franceses² y alemanes³³ donde se observa un gradiente de actividad de ECApl dentro de los tres genotipos (DD>ID>II), pero son similares a lo reportado en sujetos japoneses donde los niveles de ECApl fueron idénticos en los genotipos DD e ID y menores en los sujetos con genotipo II³⁴. Estas dos semejanzas entre las poblaciones controles normotensas chilena y japonesa podrían reflejar alguna herencia genética común³⁵.

La etnia tiene un efecto importante en la distribución de este polimorfismo. Respecto a esto, en un estudio comparativo con poblaciones de diferentes orígenes, la relación de frecuencias para los genotipos II, ID y DD fue 1:2:1 en europeos, con una tendencia a una mayor frecuencia del alelo D en nigerianos. En el mismo estudio, se observó que indígenas de Samoa e indios Yanaomani tenían una frecuencia mucho mayor del alelo I comparada con la del alelo D³⁶. En un estudio de población normal china la frecuencia de los alelos D e I fue 0,3 y 0,7, respectivamente³⁷. Hay un solo estudio en latinoamericanos respecto al polimorfismo del gen ECA, en Brasil, cuya población es extremadamente heterogénea, realizado en 200 sujetos no seleccionados de la población general. Se encontraron frecuencias de 0,659 para el alelo D y 0,341 para el alelo I⁹. Nuestros resultados en la distribución de este polimorfismo y la actividad ECA del plasma en una población chilena fue más cercana a la reportada en población asiática que en la caucásica.

En general, no se ha encontrado una relación clara entre PA y el polimorfismo ECA I/D^{23,38}, y nuestros datos en sujetos normotensos son consistentes con estas observaciones. Sin embargo, un estudio reciente en una muestra grande en población americana, con porcentajes de sujetos hipertensos cercana al 50%, encontró que el alelo D estaba asociado con PA diastólica y con hipertensión en hombres, pero no en mujeres³⁹. En sujetos italianos hipertensos, el genotipo ECA DD se asoció con mayor PA sistólica ambulatoria y con mayor presión de pulso⁴⁰. Ambos estudios incluyeron sujetos hipertensos, ausentes en nuestro estudio.

En población caucásica del estudio Framingham, no se observó relación entre el genotipo ECA I/D y la masa VI determinada por ecocardiograma (n=2.439, 12-16% en terapia antihipertensiva), con prevalencias similares de HVI en los 3 genotipos (13,6-15,6%)⁴¹. En sujetos alemanes normotensos se ha observado un engrosamiento de la pared posterior del VI en sujetos con genotipo DD⁴². Sin embargo, en la población caucásica hipertensa, los genotipos DD e ID se asociaron con un índice de masa VI significativamente mayor que en el genotipo II después de ajustar para otras covariables⁴³. Observaciones similares se han reportado en pacientes italianos hipertensos no tratados⁴⁴. No hay información en relación a este polimorfismo con masa VI en latinoamericanos. Nuestros datos, en población chilena de edad media —normotensa y no obesa—, no muestran asociación entre ambas variables. Una explicación podría ser que a pesar de la asociación con diferentes niveles de ECA en presencia del polimorfismo ECA I/D, no se han detectado diferencias en los niveles de angiotensina II o aldosterona, ni aumento de PA inducido al infundir angiotensina I exógena en sujetos normotensos en presencia del genotipo DD³⁸. Se podría especular que si angiotensina II y aldosterona participan en inducir crecimiento cardíaco pero no varían en los 3 genotipos en respuesta al estrés, no deberían observarse efectos diferentes en la masa o estructura VI. Una segunda explicación sobre nuestros resultados estaría en que ya que no incorporamos sujetos hipertensos, no se puede observar una relación entre este polimorfismo con la masa VI debido a que esta última podría ser el resultado de una interacción entre este polimorfismo con la HTA. Probablemente, el polimorfismo ECA I/D no es un determinante directo de riesgo cardiovascular, pero podría inducir diferentes respuestas o incidencias de riesgo frente a estímulos fisiológicos o patológicos. Este concepto ha sido su-

gerido experimentalmente en base a observaciones en ratas determinadas genéticamente con altos niveles de ECA que desarrollan mayor proliferación post injuria carotídea en comparación con aquellas ratas con niveles bajos de ECA⁴⁵. En humanos, algunas observaciones también respaldan este concepto: mayor índice de restenosis luego de un stenting coronario en pacientes con el alelo D^{46,47} o mayor masa VI en respuesta a entrenamiento con ejercicio en sujetos con el alelo D⁴⁸.

En conclusión, en población chilena normotensa de edad media, la presencia del alelo D del gen de la ECA determina mayor actividad de ECA circulante, la

que podría estar asociada a mayor morbilidad cardiovascular. En esta población sana normotensa, el sexo masculino y la PA diastólica, pero no la presencia del alelo D, están independientemente asociadas a aumento en la masa VI.

Agradecimientos: Al Dr. Jean Baptiste Michel (París, INSERM U-405) por enseñarnos la técnica para determinar actividad de ECA, al Dr. Francois Cambien y a Mrs. Odette Poirier (París) por su ayuda con la técnica para la determinación del polimorfismo ECA I/D.

REFERENCIAS

- LINDPAINTRNER K. Genetic of interventional cardiology. Old principles, new frontiers. *Circulation* 1997; 96: 12-4.
- RIGAT B, HUBERT C, AHLENC-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: 1343-6.
- TIRET L, RIGAT B, VISVIKIS S, BREDI C, CORVOL P, CAMBIEN F, SOUBRIER F. Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE. *Am J Hum Genet* 1992; 51: 197-205.
- Cambien F, Costerousse O, Tiret L et al. Plasma level and gene polymorphism of angiotensin-converting enzyme in relation to myocardial infarction. *Circulation* 1994; 90: 669-76.
- MARIAN AJ, YU Q-T, WORKMAN R, GREVE G, ROBERTS R. Angiotensin-converting enzyme polymorphism in hypertrophic cardiomyopathy and sudden cardiac death. *Lancet* 1993; 342: 1085-6.
- MARRE M, JEUNEMAITRE X, GALLOIS Y, RODIER M, CHATELLIER G, SERT C, DUSSELIER L, KAHAL Z, CHAILLOUS L, HALIMI S, MULLER A, SACKMANN H, BAUDUCEAU B, BLED F, PASSA P, AHLENC-GELAS F. Contribution of genetic polymorphism in the renin-angiotensin system to the development of renal complications in insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest* 1997; 99: 1585-95.
- COSTEROUSSE O, ALLEGRIANI J, LOPEZ M, AHLENC-GELAS F. Angiotensin I-converting enzyme in human circulating mononuclear cells: genetic polymorphism of expression in T-lymphocytes. *Biochem J* 1993; 290: 33-40.
- DANSER AHJ, SCHALEKAMP MADH, BAX WA, VAN DEN BRINK AM, SAXENA PR, RIEGGER GAJ, SHUNKERT H. Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism. *Circulation* 1995; 92: 1387-8.
- SILVA KM, SUCHAROV CC, RONDINELLI E, DE CARVALHO ACC, NOGUEIRA A, CAMPOS LHS, SILVA NS, MOURA RS. Distribution of Angiotensin Converting Enzyme (ACE) I and D Allele Frequencies in a Sample of 200 Subjects of Rio de Janeiro-Brazil (Abstract 3122, World Congress of Cardiology 1998, Rio de Janeiro, Brazil).
- VEGA J, JADUE L, ESCOBAR MC, JALIL JE, ESPEJO E, DELGADO I, GARRIDO C, LASTRA P, PERUGA A. Hipertensión Arterial En Chile: Resultados Encuesta De Base Del Programa Carmen. (Conjunto De Acciones Para La Reducción Multifactorial De Las Enfermedades No Transmisibles). *Revista Médica de Chile* 1999; 127: 729-38.
- VALENZUELA CY, ACUÑA MP, HARB Z. A socio-genetic cline in chilean population. *Rev Méd Chile* 1987; 115: 295-9.
- RIGAT C, HUBERT C, CORVOL P, SOUBRIER F. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP 1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucleic Acids Research* 1992; 20 (Nro 6): 1433.
- PIQUILLOUD Y, REINHARZ A, ROTH M. Studies on the angiotensin converting enzyme, with different substrates. *Biochim Biophys Acta* 1970; 206: 136-42.
- FRIEDLAND J, SILVERSTEIN E. A sensitive fluorimetric assay for serum angiotensin-converting enzyme. *Am J Clin Pathol* 1976; 66: 416-24.

15. CUSHMAN DW, CHEUNG MS. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme level by direct radioimmunoassay. *Biochem Pharmacol* 1971; 20: 1637-8.
16. JALIL JE, OCARANZA MP, PIDDO AM, JALIL R. Reproducibility of plasma angiotensin-converting enzyme activity in human subjects determined by fluorimetry with Z-phenylalanine-histidyl-leucine as substrate. *J Lab Clin Med* 1999; 133: 501-6.
17. SAHN DJ, DE MARIA A, KISSLO J, WEYMAN A. Recommendations regarding quantitation in M-Mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation* 1978; 58: 1072-83.
18. DEVEREUX RB, ALONSO DR, LUTAS EM, GOTTLIEB GJ, CAMPO E, SACHS I, REICHEK N. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol* 1986; 57: 450-8.
19. COSTEROUSSE O, ALLEGRI J, HUANG H, BOUNHIK J, ALHENC-GELAS F. Regulation of ACE gene expression and plasma levels during rat postnatal development. *American Journal of Physiology* 1994; 267: E745-E753.
20. CAMBIEN F, ALHENC-GELAS F, HERBETH B ET AL. Familial resemblance of plasma angiotensin-converting enzyme level: the Nancy study. *Am J Hum Genet* 1988; 43: 774-80.
21. LIEBERMAN J. Elevation of serum angiotensin I converting enzyme level in sarcoidosis. *Am J Med* 1975; 59: 365-72.
22. NEELS HM, SCHARPE SL, VAN SANDE ME, VERVEK RM, VAN ACKER KJ. Improved micromethod for assay of serum angiotensin converting enzyme. *Clin Chem* 1982; 28: 1352-5.
23. RODRIGUEZ GE, SHIN BC, ABERNATHY RS, KENDIG EL. Serum angiotensin-converting enzyme activity in normal children and in those with sarcoidosis. *J Pediatr* 1981; 99: 68-72.
24. ALHENC-GELAS F, RICHARD J, COURBON D, WARNET JM, CORVOL P. Distribution of plasma angiotensin I-converting enzyme levels in healthy men: relationship to environmental and hormonal parameters. *J Lab Clin Med* 1991; 117: 33-9.
25. ALHENC-GELAS F, WEARE J, JOHNSTON R, ERDOS EG. Measurement of human converting enzyme level by direct radioimmunoassay. *J Lab Clin Med* 1983; 101: 83-96.
26. CHALLAH M, VILLARD E, PHILIPPE M, RIBADEAU-DUMAS A, GIRAUDEAU B, JANIAP P, VILAINE J-P, SOUBRIER F, MICHEL J-B. Angiotensin I-converting enzyme genotype influences arterial response to injury in normotensive rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 235-43.
27. PERTICONE F, CERAVOLO R, COSCO C, TRAPASSO M, ZINGONE A, MALATESTA P, PERROTI 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: 355-69.
28. BONITHON-KOPP C, DUCIMETIERE P, TOUBOUL P-J, FEVE J-M, BILLAUD E, COURBON D, HERAUD V. Plasma angiotensin-converting enzyme activity and carotid wall thickening. *Circulation* 1994; 89: 952-4.
29. OOSTERGA M, VOORS AA, DE KAM P-J, SCHUNKERT H, PINTO YM, KINGMA H, VAN GILST WH. Plasma angiotensin-converting enzyme activity and left ventricular dilation after myocardial infarction. *Circulation* 1997; 95: 2607-9.
30. PINTO YM, KINGMA H, VAN GILST WH, KINGMA H, SCHUNKERT H. Deletion -type allele of the angiotensin-converting enzyme gene is associated with progressive ventricular dilation after anterior myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 1622-6.
31. STAESSEN JA, WANG JG, GINOCCHIO G, PETROV V, SAAVEDRA AP, SOUBRIER F, VLIETINCK R, FAGARD R. The deletion/insertion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and cardiovascular-renal risk. *J Hypertens* 1997; 15: 1579-92.
32. SAMANI NJ, THOMPSON JR, O'TOOLE L, CHANNAR 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: 708-12.
33. WINKELMANN BR, NAUCK M, KLEIN B, RUSS AP, BOHM BO, SIEKMEIER R, IHNKEN K, VERHO M, GROB W, MARZ W. Deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with increased plasma angiotensin-converting enzyme activity but not with increased risk for myocardial infarction and coronary artery disease. *Ann Intern Med* 1996; 125: 19-25.
34. NAKAI K, ITOH CH, MIURA Y, Hotta K, MUSA T, ITOH T, MIYAKAWA T, IWASAKI R, 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: 2199-202.
35. BOWCOCK AM, KIDD JR, MOUNTAIN JL, HEBERT JM, COROTENUTO L, KIDD KK AND CAVALLI-SFORZA LL. Drift, admixture and selection in human evolution: a study with DNA polymorphisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1991; 88: 839-43.
36. BARLEY J, BLACKWOOD A, CARTER ND, CREWS DE, CRUICKSHANK JK, JEFFERY S, OGUNLESII AO, SAGNELLA GA. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism: association with ethnic origin. *Journal of Hypertension* 1994; 12: 955-7.
37. LEE EJ. Population genetics of the angiotensin-converting enzyme in Chinese. *British Journal of Clinical Pharmacology* 1994; 37: 212-4.

38. LACHURIE ML, AZIZI M, GUYENE T-T, ALHENC-GELAS F, MENARD J. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism has no influence on the circulating renin-angiotensin-aldosterone system or blood pressure in normotensive subjects. *Circulation* 1995; 91: 2933-42.
39. O'DONELL CJ, LINDPAINNER K, LARSON MG, RAO VS, ORDOVAS JM, SCHAEFER EJ, MYERS RH, LEVY D. Evidence for association and genetic linkage of the angiotensin-converting enzyme locus with hypertension and blood pressure in men but not women in the Framingham Heart Study. *Circulation* 1998; 97: 1766-72.
40. CELENTANO A, PALMIERI V, MANCINI FP, CRIVARO M, OLIVIERO M, FERRARA LA, DE STEFANO V, DI MINNO G, DE SIMONE G. Ambulatory blood pressure is associated to ACE polymorphism in sustained hypertension, in absence of cardiovascular risk factors. *J Am Coll Cardiol* 1997; 84A (abstract).
41. LINDPAINNER K, LEE M, LARSON MG, RAO S, PFEFFER M, ORDOVAS J, SCHAEFER EJ, WILSON AF, WILSON PWF, VASAN RS, MYERS RH AND LEVY D. Absence of association or genetic linkage between the angiotensin-converting enzyme gene and left ventricular mass. *N Engl J Med* 1996; 334: 1023-8.
42. BUSJAHN A, KNOBLAUCH H, KNOBLAUCH M, BOHLENDER J, MENZ M, FAULHABER H-D, BECKER A, SCHUSTER H, LUFT FC. Angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen gene polymorphisms, plasma levels, cardiac dimensions: a twin study. *Hypertension* 1997; 29 (part 2): 165-70.
43. GHARAVI AG, LIPKOWITZ MS, DIAMOND JA, JHANG JS, PHILLIPS RA. Deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene is independently associated with left ventricular mass and geometric remodeling in systemic hypertension. *Am J Cardiol* 1996; 77: 1315-9.
44. PERTICONE F, CERAVOLO R, MAIO R, VENTURA G, IACOPIANO S, ZINGONE A, PERROTI N, MATTIOLI PL. Deletion polymorphism of ACE-gene affects the endothelium dependent vasodilatation in untreated hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol* 1997; 84A (abstract).
45. CHALLAH M, VILLARD E, PHILIPPE M, RIBADEAU-DUMAS A, GIRAudeau B, JANIAC P, VILAINE J-P, SOUBRIER F, MICHEL J-B. Angiotensin I-converting enzyme genotype influences arterial response to injury in normotensive rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 235-43.
46. AMANT C, BAUTERS C, BODART JC, LABLANCHE JM, GROLLIER G, DANCHIN N, HAMON M, RICHARD F, HELBECQUE N, MCFADDEN EP, AMOUYEL P, BERTRAND ME. D allele of the angiotensin I-converting enzyme is a major risk factor for restenosis after coronary stenting. *Circulation* 1997; 96: 56-60.
47. GUARDA E, FAJURI A, MARCHANT E, MARTINEZ A, JALIL JE, ILLANES G, VECCHIOLA A, LAZEN R, FLORES A, BARRA V, IRARRAZABAL S, ILABACA F. D/D genotype of the gene for angiotensin converting enzyme as a risk factor for post-stent coronary restenosis. *Rev Esp Cardiol* 1999; 52: 475-80.
48. MONTGOMERY HE, CLARKSON P, DOLLERY CM, PRASAD K, LOSI MA, HEMINGWAY H, STATTERS D, JUBB M, GIRA-VAIN M, VARNAVA A, WORLD M, DEANFIELD J, TALMUD P, MCEWAN JR, MCKENNA WJ, HUMPHRIES S. 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.

Plasma Angiotensin II, Angiotensin I-Converting Enzyme, and Left Ventricular Mass and Its Relation to the I/D Polymorphism

The angiotensin-converting enzyme (ACE) gene polymorphism has been associated with hypertension, left ventricular hypertrophy, and myocardial infarction.

Objective: To evaluate the association between ACE gene polymorphism and left ventricular mass (LVM) and its relation to plasma angiotensin II (Ang II) and angiotensin I-converting enzyme (ACE) activity in a population of hypertensive patients.