

Variación genética y enfermedad aterosclerótica periférica: estudio preliminar

I. García-Fernández, J.M. Llaneza, M.^aJ. Ramos, E. Coto^a,
 F. Vaquero, L. Camblor, J.A. Carreño, A.M. Herrero, J. Álvarez,
 J.R. Olay, J.I. Fernández-Solares^b, J.M. Gutiérrez

*GENETIC VARIABILITY AND PERIPHERAL ATHEROSCLEROTIC DISEASE:
A PRELIMINARY STUDY*

Summary. Objective. To define the association between specific genetic variations and peripheral atherosclerotic disease in young patients. Patients and methods. Prospective observational study. Three groups: 50 patients younger than 50 years with peripheral atherosclerotic disease in physical exploration, ankle/arm index and duplex scanning; 240 healthy volunteer control group; 181 coronary disease patients control group (both of them younger than 50 years). Genetic analysis of the gene polymorphisms in the next enzymes: angiotensin-converting, angiotensin type I and II receptor, angiotensinogen, oxide nitric synthase and methylenetetrahydrofolate reductase enzymes, comparing their frequencies in peripheral atherosclerotic disease patients overall and by areas (lower extremities area; lower extremities + abdominal aorta area; lower extremities + abdominal aorta + carotid arteries area) with regard to control groups. Results. No statistically significant difference between healthy control group and peripheral atherosclerotic disease patients overall was observed. By areas a difference in angiotensinogen gene polymorphisms was found: in lower extremity + abdominal aorta + carotid arteries area TT genotype frequency is 66.6% vs 33.3% in healthy control group; $p= 0.06$. Statistically significant difference between peripheral atherosclerotic disease group vs coronary disease group with regard to angiotensin-converting enzyme gene polymorphism was found: overall (50% DD genotype in coronary patients vs 28% in peripheral atherosclerotic disease patients; $p= 0.0063$ OR 2.54; 95% IC= 1.28-5.00) and by areas (85.7% ID genotype in lower extremities + abdominal aorta area and 87.5% in lower extremities + abdominal aorta + carotid artery area vs 14.3% and 12.5% in coronary group, respectively; $p< 0.01$). Conclusions. This is a preliminary study with reduced number of patients. A possible genetic predetermination of the atherosclerotic disease initial point (coronary or peripheral arterial disease) is suggested. [ANGIOLOGÍA 2001; 53: 310-20]

Key words. Genetic variability. Peripheral atherosclerotic disease.

Introducción

En nuestra práctica clínica tratamos en ocasiones a pacientes relativamente jóvenes que, a igualdad de factores de riesgo cardiovascular que otros de su misma

edad, presentan formas tempranas de enfermedad aterosclerótica, en ocasiones, más agresivas. Observamos igualmente algunos casos de afectación familiar.

Además de los factores de riesgo aterosclerótico clásicamente descritos (consumo

Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. Hospital General de Asturias.^a Laboratorio de Genética. Hospital Central de Asturias. Oviedo.
^b Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. Hospital de Jove. Gijón, Asturias, España.

Correspondencia:
 Dr. Ignacio García Fernández. Secretaría del Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. Hongoñ. ^a4 Polyclínicas. Hospital General de Asturias. Julián Clavería, s/n. E-33006 Oviedo, Asturias.

©2001, ANGIOLOGÍA

de tabaco, diabetes, hipertensión (HTA) y dislipemia), podrían existir otros factores que, de forma independiente o asociados a éstos, contribuyeran a la aparición y desarrollo de la enfermedad en edades tempranas a través del daño sobre el endotelio, la disfunción de las células musculares lisas y la alteración del sistema de coagulación. Por lo tanto, podría establecerse la hipótesis de una susceptibilidad genética en el desarrollo de la enfermedad.

La secuenciación de determinados genes y el descubrimiento de sus polimorfismos (variaciones en la secuencia de ADN en un gen, entre individuos de una misma especie), observados en relación con la enfermedad aterosclerótica, permiten estudiar la asociación entre aquéllos y ésta. De entre los diversos genes que se han puesto en relación con la enfermedad aterosclerótica en jóvenes, hemos investigado en nuestro estudio los implicados en el sistema renina-angiotensina (SRA), en el metabolismo del óxido nítrico (NO) y la metilentetrahidrofolato-reductasa (MTHFR), que interviene en el metabolismo de la homocisteína.

El objetivo del estudio es definir la asociación entre las variaciones de los genes citados y la aparición de enfermedad aterosclerótica arterial periférica, en pacientes jóvenes, respecto a una población sana y otra de pacientes jóvenes con afectación aterosclerótica coronaria, en nuestra Comunidad Autónoma. Presentamos los resultados preliminares.

Pacientes y métodos

Se realizó un estudio prospectivo observacional de casos y controles en el que se

incluyeron consecutivamente pacientes menores de 50 años, a quienes se objetivó enfermedad aterosclerótica arterial periférica mediante exploración clínica (exploración física –palpación de pulsos, auscultación de soplos– y registro de índices tobillo/brazo) y confirmación mediante técnicas de imagen no invasivas (ecografía Doppler) de extremidades inferiores, aorta y troncos supraórticos. Se consideraron como enfermos aquellos que presentaban ausencia de pulsos en alguna de las extremidades e índices tobillo/brazo inferiores a 0,9. Igualmente aquellos que en la exploración mediante ecografía Doppler presentaban velocidades sistólicas superiores a 120 m/s de femoral superficial en el canal de Hunter, presencia de placas ateroscleróticas a nivel aórtico y estenosis superiores al 30% en el sector carotídeo, según la clasificación de la Universidad de Washington. No se incluyeron en el estudio los pacientes que presentaban historia clínica o cambios electrocardiográficos indicativos de isquemia miocárdica. El primer análisis se realizó con los primeros 50 pacientes incluidos. Al agruparlos por sectores de afectación aterosclerótica, 27 pacientes tenían afectación exclusiva de las extremidades inferiores, 11 presentaban además afectación aórtica asociada y 12 más afectación de los tres sectores estudiados (extremidades inferiores, aorta y sector carotídeo). En la tabla I se describen las características antropométricas de los pacientes incluidos en el grupo de patología aterosclerótica arterial periférica, así como la agrupación que se realizó de los mismos por sectores de afectación arterial.

En el primer grupo control fueron incluidos 240 sujetos sanos voluntarios, me-

nores de 50 años, donantes del banco de sangre de nuestro centro y estudiantes de la Facultad de Medicina de la Universidad de Oviedo.

Un segundo grupo control lo constituyen 181 pacientes menores de 50 años con enfermedad aterosclerótica coronaria objetivada (infarto de miocardio o angina inestable) incluidos por el Servicio de Cardiología de nuestro centro. Ambos grupos control no referían historia clínica ni presentaban exploración física compatible con patología aterosclerótica arterial periférica.

Se obtuvieron, de cada uno de los individuos, 10 ml de sangre, extrayéndose el ADN de los leucocitos presentes en la muestra. La determinación de los distintos genotipos de los polimorfismos se llevó a cabo por amplificación de los fragmentos de ADN que contienen la secuencia polimórfica mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El resultado de la amplificación fue visualizado mediante electroforesis en gel de agarosa. Esta labor fue realizada por el Laboratorio de Genética Molecular del hospital. Mediante esta técnica se estudiaron los siguientes polimorfismos con sus diferentes alelos y genotipos (Tabla II).

Sistema renina-angiotensina

- AGT (M235T): genotipos CC, CT y TT.
- ECA (I/D): genotipos II, ID, DD.
- AT1R (A1166C): genotipos AA, AC, CC.
- AT2R (A/C): genotipos AA, AC, CC (mujer), A, C (varón).
- EcNOs4 (a/b): genotipos aa, ab, bb.
- MTHFR (C677T): genotipos CC, CT, TT.

Tabla I. Características antropométricas del grupo de pacientes con enfermedad aterosclerótica periférica y agrupación por sectores de afectación arterial.

Enfermedad aterosclerótica periférica	
Edad media	43±2 años
Sexo	45/5 (h/m)
Tabaquismo	49/50 (98%)
Diabetes	7/50 (14%)
Hipertensión	9/50 (18%)
Hipercolesterolemia	14/50 (28%)
Hipertrigliceridemia	4/50 (8%)
Afectación de extremidades inferiores	27/50 (54%)
Extr. inferiores + Aorta	11/50 (22%)
Extr. inferiores + Aorta + Carótidas	12/50 (24%)

Se comparó el grupo de pacientes con patología aterosclerótica arterial periférica con el grupo control de sujetos sanos, en primer lugar en conjunto y posteriormente agrupados por sectores afectados (extremidades inferiores; extremidades inferiores más afectación aórtica; extremidades inferiores más afectación aórtica y carotídea). Se compararon de la misma forma los pacientes con afectación aterosclerótica arterial periférica (en conjunto y por sectores de afectación arterial) con el grupo de pacientes coronarios. Las diferencias estadísticas entre los grupos se establecieron mediante tablas de contingencia, test estadístico de la ji al cuadrado (utilizando la corrección de Yates cuando fue necesario) y determinación de frecuencia mínima esperada. Se consideraron estadísticamente significativos valores de $p \leq 0,05$. Igualmente, cuando fue posible por ser grupos suficientemente numerosos, se estableció

Tabla II. Genes y polimorfismos (señalados entre paréntesis) estudiados, con los diferentes genotipos de cada uno de ellos (ver abreviaturas en el texto).

Genes y polimorfismos	Genotipos		
ECA (I/D)	II	ID	DD
AT1R (A1166C)	AA	AC	CC
AT2R (A/C) (cromosoma X)			
Femenino	AA	AC	CC
Maculino	A	C	
ANG (M235T)	CC	CT	TT
EcNOs4 (a/b)	aa	ab	bb
MTHFR (C677T)	CC	CT	TT

Tabla III. Diferencias fenotípicas encontradas en el polimorfismo 235 del gen del angiotensinógeno al comparar el grupo de enfermos con afectación de extremidades inferiores, de aorta y carótida frente al grupo de voluntarios sanos.

	CC	TC	TT
MMII + Ao + Carot	3/12 (25%)	1/12 (8,3%)	8/12 (66,6%)
Controles sanos	116/240 (51,6%)	36/240 (15%)	80/240 (33,3%)

p= 0,06. Ao: aorta; Carot: sector carotídeo; MMII: miembros inferiores.

el riesgo relativo (OR) (Odds ratio) de cada eventualidad para un intervalo de confianza (IC) del 95%. Los cálculos se realizaron mediante el programa informático SSPS por el departamento de estadística de la Universidad de Oviedo.

Resultados

Analizando las frecuencias de presentación de los polimorfismos, al comparar el grupo de pacientes con aterosclerosis arterial pe-

riférica en conjunto (50 pacientes) y el grupo control de sujetos sanos (240 voluntarios) no se encuentran diferencias estadísticamente significativas. Al agrupar los enfermos por sectores de afectación arterial, en el correspondiente a afectación de extremidades inferiores más aorta y carótida, se observa mayor presencia del genotipo TT del gen AGT235 en el grupo de enfermos frente a controles sanos: 8/12 (66,6%) frente a 80/240 (33%) (Tabla III), con tendencia a la significación estadística (p= 0,07).

Al comparar el grupo de enfermos con aterosclerosis periférica en conjunto frente al grupo de enfermos con aterosclerosis coronaria, se observa diferencia estadísticamente significativa en el genotipo DD del gen ECA: 90/181 (50%) en coronarios frente a 14/50 (28%) del grupo de estudio (p= 0,0063 OR 2,54; 95% IC= 1,28-5,00) (Tabla IV). En el análisis por sectores, se mantiene esta diferencia al comparar el grupo de enfermos coronarios –90/181 (50%)– frente al grupo de afectación de extremidades inferiores más aorta –2/11 (18,1%) p< 0,01– y el grupo de afectación de extremidades inferiores más aorta más carótidas –2/12 (16,6%) p< 0,01–. Por el contrario, el genotipo ID de dicho gen es mucho menos frecuente en coronarios –58/181 (32%)– que en los grupos de afectación periférica referidos –9/11 (81,8%) p< 0,01 y 10/12 (83,3%) p< 0,01 (Tabla V). Obsérvese que no se encuentran diferencias estadísticamente significativas respecto del sector de extremidades inferiores aisladas.

Discusión

Los resultados del estudio aquí presenta-

do son preliminares, dado el limitado número de pacientes incluidos. Esto hace que dichos resultados no alcancen en ocasiones significación estadística por las bajas frecuencias de presentación de los polimorfismos. No obstante, lo novedoso del estudio y de alguno de los resultados obtenidos puede ser suficientemente interesante para reflexionar sobre ellos.

El SRA desempeña un papel fundamental en la regulación del equilibrio salino y en el mantenimiento del tono vascular, fundamentalmente a través de la angiotensina II (Ang II). Varios estudios han sugerido su participación en la patogénesis de la enfermedad coronaria [1,2]. El péptido precursor de las angiotensinas es el angiotensinógeno (AGT) que se sintetiza en el hígado y una vez liberado en la sangre es transformado por la renina en angiotensina I (Ang I). Posteriormente, la enzima convertidora de la angiotensina (ECA) convierte la Ang I en angiotensina II (Ang II), principal molécula efectora del SRA, que se une a los receptores de la angiotensina tipo 1 y 2 de la membrana de las células diana (AT1R y AT2R, respectivamente), distribuidos en los distintos órganos y tejidos (Fig. 1).

El AGT se encuentra codificado por un gen polimórfico. Entre los polimorfismos de este gen, los más estudiados son el T174M y M235T. Se ha descrito la relación entre alguno de estos polimorfismos y los niveles elevados de angiotensinógeno en plasma [3,4] e hipertensión esencial [5].

Se han descrito numerosos polimorfismos del gen de la ECA. El más estudiado consiste en la presencia (inscripción: alelo I) o ausencia (deleción: alelo D) de una secuencia de 287 pares de bases en el

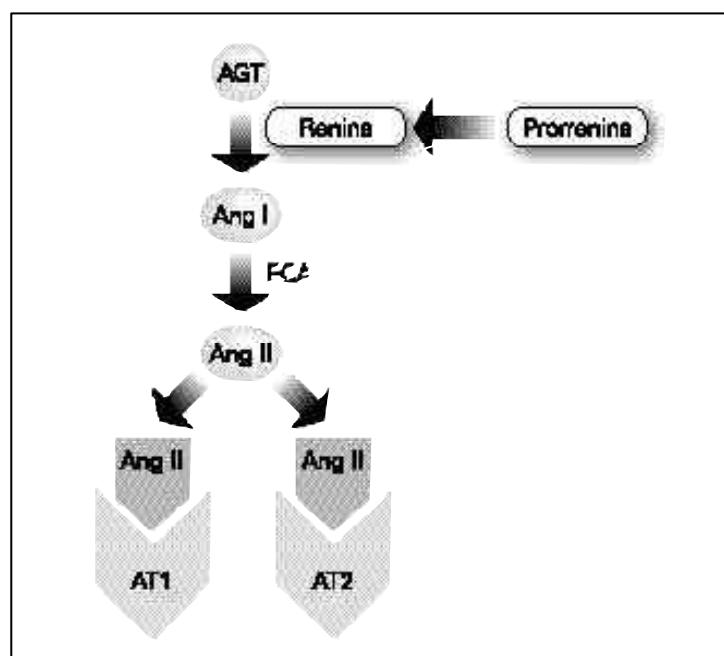


Figura 1. Esquema del sistema renina-angiotensina. AGT: angiotensinógeno; Ang I: angiotensina I; Ang II: angiotensina II; AT1: receptor tipo 1 de la angiotensina; AT2: receptor tipo 2 de la angiotensina; ECA: enzima convertidora de la angiotensina.

Tabla IV. Resumen de las diferencias fenotípicas encontradas en el polimorfismo del gen de la ECA al comparar el grupo de enfermos con afectación aterosclerótica periférica de forma global frente al grupo de enfermos coronarios.

	DD	ID	II	p
Coronarios	90/181 (50%)	58/181 (32%)	33/181 (18%)	p= 0,0063
Arteriopatía periférica global	14/50 (28%)	33/50 (66%)	3/50 (6%)	

Tabla V. Resumen de las diferencias fenotípicas encontradas en el polimorfismo del gen de la ECA al comparar cada grupo de enfermos con afectación aterosclerótica periférica por sectores frente al grupo de enfermos coronarios.

	DD	ID	II	p
Coronarias	90/181 (50%)	58/181 (32%)	33/181 (18%)	
EEII	10/27 (37%)	14/27 (52%)	3/27 (11%)	0,12
EEII + Aorta	2/11 (18%)	9/11 (82%)	0	0,0031
EEII + Aorta + Carot	2/12 (17%)	10/12 (83%)	0	0,0014

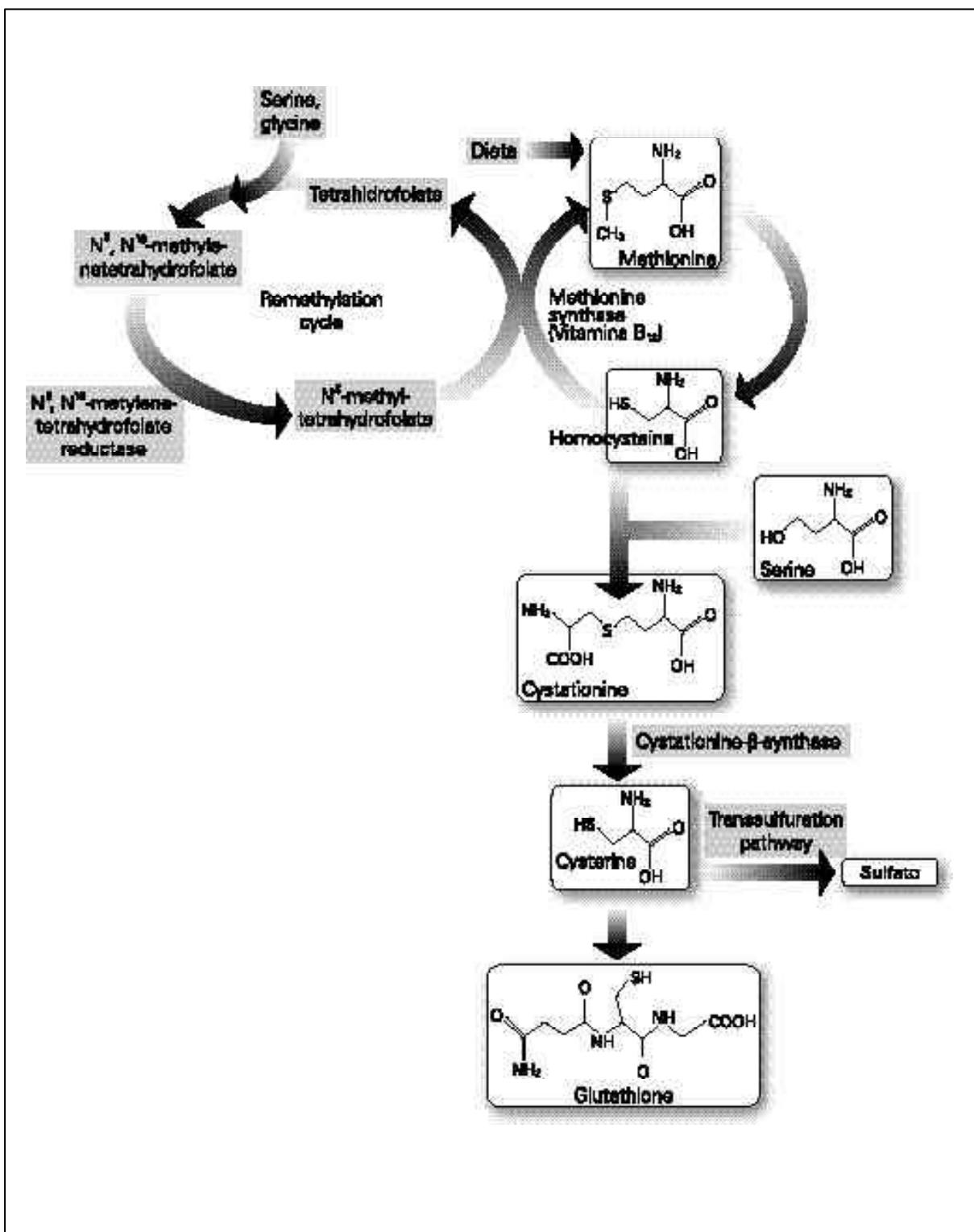


Figura 2. Esquema del sistema de metabolismo de la homocisteína, al que pertenece la metilentetrahidrofolato reductasa (tomado de [38]).

intrón 16 de este gen. Las frecuencias de estos alelos I y D varían de unas poblaciones a otras [6].

La Ang II es uno de los vasoconstrictores más importantes y desempeña un papel importante en la regulación de la presión arterial y la homeostasis hidrosalina a través de sus actuaciones en el músculo liso, corazón, riñón, corteza suprarrenal, sistema nervioso central y terminaciones nerviosas adrenérgicas. La mayor parte de las acciones de la Ang II conocidas se ejercen a través del AT1R, que se halla presente en gran variedad de tejidos adultos (p. ej., en el músculo liso vascular, el miocardio, riñón, glándulas suprarrenales, hígado y cerebro). Se considera que es el mediador de los efectos cardiovasculares de la Ang II, como la contracción del músculo liso, la secreción de aldosterona y catecolaminas, la respuesta renal y taquicardizante y la proliferación de la musculatura vascular y cardíaca. Se han descrito varios polimorfismos del gen que codifica este receptor [7]; de entre ellos se ha estudiado el cambio de una adenina por guanina en la posición 1166 (A1166C) en la región 3' no traducida. Se tiene menos información del AT2R, aunque se sabe que se localiza en tejidos en desarrollo o crecimiento, teniendo una menor distribución en los tejidos del adulto [8], apareciendo en útero, cerebro, riñón y corteza y médula suprarrenales. Su gen se encuentra en el cromosoma X [9].

El NO es sintetizado durante la transformación de L-arginina en citrulina por la enzima óxido nítrico sintetasa (NOs) [10], que presenta tres isoformas, siendo una de ellas constitutiva del endotelio vascular (ecNOs). El NO así formado en

el endotelio difunde las células musculares lisas provocando la vasodilatación y relajación de las mismas [10], y disminuyendo su proliferación. También se piensa que disminuyen la adhesión leucocitaria, la adhesión y agregación plaquetaria y la formación de colágeno en la pared vascular [11,12]. Se ha detectado un polimorfismo en el intrón 4 del gen que codifica el ecNOs que consiste en la repetición de 27 pares de bases [13].

La MTHFR es una enzima implicada en el ciclo de remetilación de la homocisteína a metionina (Fig. 2). Existe una mutación en su gen C677T [14]. El alelo 677T codifica una variante termolábil de la enzima y los individuos homocigotos para este polimorfismo parecen tener niveles plasmáticos superiores de homocisteína.

En la revisión bibliográfica realizada no hemos encontrado referencias acerca de la asociación de las variaciones polimórficas y la enfermedad aterosclerótica arterial periférica.

Sí existen, por el contrario, diversos estudios en la literatura acerca de la asociación de variaciones en la carga genética y enfermedad aterosclerótica coronaria. Así, se han implicado distintos polimorfismos de genes en la génesis o desarrollo de esta enfermedad.

Existen estudios que implican el gen del AGT en la enfermedad coronaria [15,16]; otros, por el contrario, no encuentran tal asociación [17]. En nuestro estudio existe mayor presencia del genotipo TT en el grupo de afectación aterosclerótica arterial periférica frente a controles sanos, pero no llega a alcanzar significación estadística.

El polimorfismo I/D del gen del ECA, fuertemente relacionado con los niveles

sanguíneos del ECA [18,19], se ha considerado en diversos trabajos como factor de riesgo para infarto de miocardio e hipertrrofia ventricularizquierda, especialmente entre pacientes considerados de bajo riesgo [20-28]. Sin embargo, existen otros trabajos que no encuentran asociación [29-32]. En nuestro caso, no hemos encontrado relación entre patología aterosclerótica arterial periférica y este polimorfismo al compararlo con controles sanos.

Algunos autores refieren una relación significativa entre el polimorfismo A1166C del gen del AT1R y el infarto de miocardio [32,33], si bien otros autores no han encontrado tal relación [34]. En nuestro estudio no se manifiesta una asociación estadísticamente significativa en enfermos con aterosclerosis arterial periférica frente a controles sanos.

No se tiene referencia de estudios que pongan en relación el polimorfismo del gen del AT2R con patología aterosclerótica. Como ya se ha comentado, es poca la información que se tiene sobre este receptor. En este trabajo no se aprecian diferencias significativas entre los grupos estudiados.

Se ha descrito mayor frecuencia de presentación del alelo a del polimorfismo a/b del gen de la ecNOs en pacientes con cardiopatía coronaria frente a controles sanos [35]. En el presente estudio no se observa tal asociación.

Existen en la literatura trabajos que refieren que, si bien los homocigotos para el polimorfismo C677T de la MTHFR tienen concentraciones de homocisteína plasmática más elevadas que el resto de individuos, este hallazgo no parece estar relacionado con el desarrollo de trombo-

sis arteriales [36,37]. En este estudio no se han encontrado diferencia entre las frecuencias de presentación del polimorfismo en el grupo de pacientes con afectación aterosclerótica arterial periférica y el grupo de controles sanos.

Cuando comparamos el grupo de pacientes con afectación aterosclerótica arterial periférica frente al grupo de pacientes coronarios, se encuentran diferencias en las frecuencias de presentación de los genotipos del gen de la ECA. Así, en el grupo de enfermos con aterosclerosis periférica, tomado globalmente, hay un predominio claro del genotipo ID (66%), más del doble que en coronarios (32%), sucediendo lo contrario con el genotipo DD, presente en el 28% de los enfermos con aterosclerosis arterial periférica, frente al 50% de coronarios, adquiriendo significación estadística ($p=0,0063$ OR 2,54; 95% IC= 1,28-5,00).

Esta diferencia es mucho más manifiesta al comparar los coronarios con los enfermos con aterosclerosis arterial periférica en dos o más sectores, es decir, con una aterosclerosis difusa (afectación de extremidades inferiores y aorta, afectación de extremidades inferiores, aorta y carótidas). En estos últimos, el genotipo ID está presente en torno al 80% (en coronarios 32%), mientras que el genotipo DD aparece sólo en torno al 18% (en coronarios 50%), presentando significación estadística ($p<0,01$). Esta diferencia no se observa en el grupo de afectación de extremidades inferiores tomado aisladamente.

Cabe recordar que los dos grupos de pacientes se han tomado del mismo grupo poblacional (Principado de Asturias) y que por lo tanto mantienen unas carac-

terísticas geográficas, demográficas y ambientales homogéneas, lo que añade una mayor significación a las diferencias encontradas [32].

Conclusiones

A pesar de la limitación del reducido número de pacientes, las diferencias encontradas al enfrentar el grupo con patología aterosclerótica periférica frente a pacientes coronarios, siendo pacientes del mismo grupo poblacional (con características

geográficas, demográficas y ambientales homogéneas), nos lleva al planteamiento como hipótesis de la existencia de un factor genético que podría determinar el sector del territorio vascular (coronario o periférico en sus diversas localizaciones) en que se produciría el inicio de la patología aterosclerótica.

El conocimiento de este factor genético impulsaría a realizar en estos pacientes una profilaxis, temprana y estricta, de factores de riesgo, y a desarrollar estrategias encaminadas a minimizar el efecto de dicho factor.

Bibliografía

1. MacGregor GA, Markandu ND, Roulston JE, Jones JC, Morton JJ. Maintenance of blood pressure by the renin-angiotensin system in normal man. *Nature* 1981; 291: 329-31.
2. Cusi D. Genetic renal mechanisms of hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1997; 6: 192-8.
3. Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevstev Y, Lifton RP, Williams CS, Charru A, et al. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell* 1992; 71: 169-78.
4. Bloem LJ, Manatunga AK, Tewksbury DA, Pratt HJ. The serum angiotensinogen concentration of the angiotensinogen gene in white and black children. *J Clin Invest* 1995; 95: 948-53.
5. 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: 1786-97.
6. Barley J, Blackwood A, Carter ND, Crews DE, Cruickshank JK, Jeffery S, et al. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism: association with ethnic origin. *J Hypertens* 1994; 12: 955-7.
7. Bonnardeaux A, Davies E, Jeunemaitre X, Fèry I, Charru A, Claußer E, et al. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension. *Hypertension* 1994; 24: 63-9.
8. Yamada T, Horiuchi M, Dzau VJ. Angiotensin II type 2 receptor mediates programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 156-60.
9. Tsuzuki S, Ichiki T, Nakakubo H, Kitami Y, Guo DF, Shirai H, Inagami T. Molecular cloning and expression of the gene encoding human angiotensin II type 2 receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 20: 1449-54.
10. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002-13.
11. Hansson GK, Holm J, Jonasson L. Detection of activated T lymphocytes in human atherosclerotic plaque. *Am J Pathol* 1989; 135: 169-75.
12. Salomon RN, Hughes CC, Schoen FJ, Payne DD, Pober JS, Libby P. Human coronary transplantation-associated atherosclerosis: evidence for a chronic immune reaction to activated graft endothelial cells. *Am J Pathol* 1991; 138: 791-8.
13. Tsukada T, Yokoyama K, Arai T, Takemoto F, Hara S, Yamada A, et al. Evidence of association of the ecNOS gene polymorphism with plasma NO metabolite levels in humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 245: 190-3.
14. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995; 10: 111-3.
15. Ishigami T, Umemura S, Iwamoto T, Tamura K, Hibi K, Yamaguchi S, et al. Molecular variant of angiotensinogen gene is associated with coronary atherosclerosis. *Circulation* 1995; 91: 951-4.
16. Katsuya T, Koike G, Yee TW, Sharpe N, Jackson R, Norton R, et al. Al. Association of angiotensinogen gene t235 variant with increa-

- sed risk of coronary heart disease. *Lancet* 1995; 345: 1600-3.
17. Rotimi C, Morrison L, Cooper A, Oyejide C, Effing E, Ladipo M, et al. Angiotensinogen gene in human hypertension: lack of an association of the T235 allele among African Americans. *Hypertension* 1994; 24: 591-4.
 18. 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) controls plasma ACE. *Am J Hum Genet* 1992; 51: 197-205.
 19. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I converting gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990; 86: 1343-6.
 20. Cambien F, Poirier O, Lecerf L, et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359: 641-4.
 21. Evans AE, Poirier O, Kee F, Lecerf L, McCrum E, Falconer T, et al. Polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene in subjects who die from coronary heart disease. *Q J Med* 1994; 87: 211-4.
 22. Ruiz J, Blanché H, Cohen N, Velho G, Cambien F, Cohen D, et al. Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene is strongly associated with coronary heart disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Proc Natl Acad U S A* 1994; 91: 3662-5.
 23. Schunkert H, Hense HW, Holmer SR, Stender M, Perz S, Keil U, et al. Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med* 1994; 330: 1634-8.
 24. Montgomery HE, Clarkson P, Dollery CM, Prasad K, Losi MA, Hemingway H, et al. Association of angiotensin-converting enzyme gene I7D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training. *Circulation* 1997; 96: 741-7.
 25. Iwai N, Ohmichi N, Nakamura Y, Kinoshita M. DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1994; 90: 2622-8.
 26. Anderson JL, Carlquist JF, King GJ, Morrison L, Thomsom MJ, Ludwig EH, et al. Angiotensin-converting enzyme genotypes and risk for myocardial infarction in women. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 790-6.
 27. Raynolds MV, Bristow MR, Bush EW, Abraham WT, Lowes BD, Zisman LS, et al. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet* 1993; 342: 1073-5.
 28. Marian AJ, Yu QT, Workman R, Greve G, Roberts R. Angiotensin-converting enzyme polymorphism in hypertrophic cardiomyopathy and sudden cardiac death. *Lancet* 1993; 342: 1085-6.
 29. Friedl W, Krempler F, Paulweber B, Pichler M, Sandhofer F. A deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme is not associated with coronary heart disease in an Austrian population. *Atherosclerosis* 1995; 112: 137-43.
 30. 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: 706-11.
 31. Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Steffensen R, Sorensen TI, Jensen G, Tybjaerg-Hansen A. ACE gene polymorphism: ischemic heart disease and longevity in 10150 individuals. *Circulation* 1997; 95: 2358-67.
 32. 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: 375-9.
 33. 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: 910-3.
 34. Berge KE, Bakken A, Bohn M, Eriksson J, Berg K. A DNA polymorphism at the angiotensin II type 1 receptor (AT1R) locus and myocardial infarction. *Clin Genet* 1997; 52: 71-6.
 35. Wang XL, Sim AS, Badenhop RF, McCredie RM, Wilcken DE. A smoking-dependent risk of coronary artery disease associated with a polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene. *Nat Med* 1996; 2: 41-5.
 36. Wilken DEL, Wang XL, Sim AS, McCredie RM. Distribution in healthy and coronary populations of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T mutation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 878-82.
 37. Tosetto A, Missaglia E, Frezzato M, Rodighiero F. The VITA project: C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and risk of venous thromboembolism. *Br J Haematol* 1997; 97: 804-6.
 38. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherosclerosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 1042-50.

**VARIACIÓN GENÉTICA Y ENFERMEDAD ARTERIAL PERIFÉRICA:
ESTUDIO PRELIMINAR**

Resumen. Objetivo. Definir la asociación entre variaciones de genes específicos y enfermedad aterosclerótica periférica en pacientes jóvenes. Pacientes y métodos. Estudio prospectivo observacional. Tres grupos: 50 pacientes menores de 50 años con enfermedad aterosclerótica periférica objetivada mediante exploración física, índices tobillo/brazo y ecografía Doppler; grupo control de 240 voluntarios sanos, y grupo control de 181 pacientes coronarios (ambos menores de 50 años, con exploración vascular periférica normal). Análisis genético de polimorfismos de los genes de la enzima convertidora de angiotensina, receptores tipo I y II de la angiotensina, angiotensinógeno, óxido nítrico-sintetasa y metilentetrahidrofolato-reductasa; se comparan sus frecuencias en los pacientes con enfermedad aterosclerótica periférica en conjunto y por sectores (extremidades inferiores; extremidades inferiores + aorta; extremidades inferiores + aorta + carótidas) respecto a los grupos control. Resultados. No se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre controles sanos y enfermos periféricos. Por sectores se observa diferencia en el gen del angiotensinógeno (sector extremidades inferiores + aorta + carótidas mayor presencia del genotipo TT: 66,6% frente a 33,3%; p = 0,06). Con la comparación de la afectación periférica y coronaria se observan diferencias estadísticamente significativas en el polimorfismo del gen de la enzima convertidora de la angiotensina, global (DD 50% en coronario frente a 28% en periférico; p = 0,0063 OR 2,54; 95% IC = 1,28-5,00) y por sectores (ID 85,7% en extremidades inferiores + aorta y 87,5% en extremidades inferiores + aorta + carótida frente a 14,3 y 12,5%, respectivamente, en coronarios; p < 0,01). Conclusiones. Se trata de un estudio preliminar con un número reducido de pacientes. Sugerimos que el sector de aparición de enfermedad aterosclerótica (coronario o arterial periférico en sus diversas localizaciones) podría estar predeterminado genéticamente. [ANGIOLOGÍA 2001; 53: 310-20]

Palabras clave. Enfermedad arterial periférica. Variación genética.

**VARIAÇÃO GENÉTICA E DOENÇA ARTERIAL PERIFÉRICA:
ESTUDO PRELIMINAR**

Resumo. Objectivo. Definir a associação entre variações de genes específicos e doença aterosclerótica periférica em doentes jovens. Doentes e métodos. Estudo prospectivo observacional. Três grupos: 50 doentes com idade inferior aos 50 anos com doença aterosclerótica periférica objectivada por exame físico, índices maléolo/braço e eco-Doppler; grupo de controlo de 240 voluntários saudáveis; grupo de controlo de 181 doentes coronários (ambos com idades inferiores aos 50 anos, com exame vascular periférico normal). Análise genética de polimorfismos dos genes da enzima conversor da angiotensina, receptores tipo I e II da angiotensina, angiotensinógeno, óxido nítrico-sintetase e metilente-trahidrofolato-reductase, compararam-se as respectivas frequências nos doentes com doença aterosclerótica periférica em conjunto e por sectores (membros inferiores; membros superiores + aorta; membros inferiores + aorta + carótidas) em relação aos grupos de controlo. Resultados. Não se apreciam diferenças estatisticamente significativas entre controlos saudáveis e doentes com doença periférica. Por sectores observa-se diferença no gene do angiotensinogénio (no sector membros inferiores + aorta + carótidas observa-se maior presença do genotípo TT: 66,6% versus 33,3%; p = 0,06). Na comparação do envolvimento periférico e coronário observam-se diferenças estatisticamente significativas no polimorfismo do gene da enzima conversor da angiotensina, global (DD 50% no coronário em relação a 28% no periférico; p = 0,0063 OR 2,54; 95% IC = 1,28-5,00) e por sectores (ED 85,7% nos membros inferiores + aorta e 87,5% nos membros inferiores + aorta + carótidas em relação a 14,3 e 12,5%, respectivamente, nos coronários; p < 0,01). Conclusões. Estudo preliminar com número reduzido de doentes. Sugere que o sector de aparecimento da doença aterosclerótica (coronária ou arterial periférica nas suas diversas localizações) poderia estar geneticamente predeterminado. [ANGIOLOGÍA 2001; 53: 310-20]

Palavras chave. Doença arterial periférica. Variação genética.