

Polimorfismos genéticos del sistema renina-angiotensina e hipertensión arterial esencial en la población española

Vicente Giner^a, Dolores Corella^b, Felipe Javier Chaves^c, José María Pascual^d, Olga Portolés^b, Pablo Marín^c, José Vicente Lozano^a, María Eugenia Armengod^c y Josep Redón^{a,c}.

^aUnidad de Hipertensión Arterial. Servicio de Medicina Interna. Hospital Clínico de Valencia. Universidad de Valencia. ^bUnidad de Epidemiología Genética. Universidad de Valencia.

^cInstituto de Investigaciones Citológicas. Fundación Valenciana de Investigaciones Biomédicas. Servicio de Medicina Interna. Hospital de Sagunto.



FUNDAMENTO: Analizar la asociación entre los principales polimorfismos genéticos descritos en el sistema renina-angiotensina y la hipertensión arterial (HTA) esencial en una muestra de población española.

PACIENTES Y MÉTODO: Estudio de casos y controles con 185 hipertensos esenciales (edad [DE] 39,6 [7,5] años, 52% mujeres, presión arterial sistólica [PAS] de 151,2 [17,4] mmHg, presión arterial diastólica [PAD] de 96,0 [9,4] mmHg) y 350 controles normotensos apareados por edad y sexo de una muestra de población general de la Comunidad Valenciana (edad 39,4 [8,0] años, 51,7% mujeres, PAS de 116,0 [12,0] mmHg, PAD de 69,6 [8,5] mmHg). Se realizó PCR para la determinación de los polimorfismos I/D del gen de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), A-6G y M235T del gen del angiotensinógeno y A1166C del gen del receptor AT1 de la angiotensina II.

RESULTADOS: No hubo diferencias en las distribuciones genotípicas ni alélicas entre casos y controles. En hipertensos tampoco hubo diferencias al comparar genotipos y distribución alélica según terciles de valores de presión arterial o presencia/ausencia de antecedentes familiares de HTA. Sólo en mujeres se detectó un mayor riesgo de hipertensión en las pacientes con haplotipos que contenían el alelo C del polimorfismo A1166C con los alelos A del polimorfismo A-6G ($p = 0,007$) o T del polimorfismo M235T ($p = 0,007$).

CONCLUSIONES: No se halló relación entre la HTA esencial y los polimorfismos I/D del gen de la ECA, M235T y A-6G del gen del angiotensinógeno, ni A1166C del gen del receptor AT1. En la población de mujeres jóvenes se observa un efecto epistático entre polimorfismos del receptor AT1 y del angiotensinógeno.

Palabras clave: Hipertensión arterial esencial. Polimorfismos genéticos. Sistema renina-angiotensina.

Renin-angiotensin system genetic polymorphisms and essential hypertension in the Spanish population

BACKGROUND: The goal of this study was to analyse the association between essential hypertension and the main genetic polymorphisms at the renin-angiotensin system in the Spanish population.

PATIENTS AND METHOD: Case-control study including 185 essential hypertensive subjects (age [SD] 39.6 [7.5] years, 52% women, systolic blood pressure 151.2 [17.4] mmHg, diastolic blood pressure 96.0 [9.4] mmHg) and 350 sex- and age-matched normotensive individuals selected from a sample of the general population of the Comunidad Valenciana, Spain (age 39.4 [8.0] years, 51.7% women, systolic blood pressure 116.0 [12.0] mmHg, diastolic blood pressure 69.6 [8.5] mmHg). A PCR was performed to determine I/D angiotensin converting enzyme (ACE) gene polymorphism, A-6G and M235T angiotensinogen gene polymorphism and A1166C polymorphism of the angiotensin II type 1 receptor.

RESULTS: There were no differences between cases and controls with regard to genotypic and allelic distributions. In hypertensive patients, there were no differences in genotypic or allelic distributions after considering the presence or absence of a familial history of hypertension or comparing tertiles of systolic and diastolic blood pressure values. Only in women, the combination of a C allele of A1166C polymorphism with an A-6G angiotensinogen polymorphism A allele ($p = 0.007$), or an M235T angiotensinogen polymorphism T allele ($p = 0.007$), was associated with a higher risk of hypertension.

CONCLUSIONS: We found no association between essential hypertension risk and I/D ACE gene, M235T and A-6G angiotensinogen gene, or A1166C angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms. An epistatic effect was observed in young women between angiotensin II type 1 receptor polymorphisms and angiotensinogen polymorphisms.

Key words: Essential hypertension. Genetic polymorphisms. Renin-angiotensin system.

Med Clin (Barc) 2001; 117: 525-529

Correspondencia: Dr. J. Redón i Mas.
Unidad de HTA. Servicio de Medicina Interna.
Hospital Clínico Universitario de Valencia.
Avda. Blasco Ibáñez, 17. 46010 Valencia.

Correo electrónico: josep.redon@uv.es

Recibido el 8-3-2001; aceptado para su publicación el 10-7-2001.

La hipertensión arterial esencial (HTAE) es una enfermedad consecuencia de la interacción de factores genéticos y ambientales, estimándose a partir de estudios epidemiológicos y familiares que el componente genético sería la causa de cerca del 40% de la variabilidad interindividual de sus valores¹. El patrón de herencia es de los considerados de «rasgos complejos», en los que se hereda la predisposición al desarrollo de la enfermedad como consecuencia de la interacción de varios genes².

El papel central que en la homeostasis del sistema cardiovascular y renal tiene el sistema renina-angiotensina (SRA)³ justifica que, en la búsqueda de genes candidatos que pudiesen participar en el desarrollo de la HTAE, aquellos que codifican para las proteínas de este sistema hayan sido extensamente analizados⁴. La atención ha sido máxima en aquellos polimorfismos relacionados con modificaciones funcionales de las proteínas que codifican. El alelo T del polimorfismo M235T del gen del angiotensinógeno (AGT) se ha asociado a mayores concentraciones de angiotensinógeno⁵, y el alelo A del polimorfismo A-6G de la región promotora de este mismo gen a una mayor tasa de transcripción⁶, estando ambos polimorfismos en un desequilibrio de unión completo⁷. El alelo D del polimorfismo inserción/delección (I/D) del gen de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA) se ha relacionado con mayores títulos circulantes de la enzima⁸, mientras que el alelo C del polimorfismo A1166C del gen del receptor AT1 para la angiotensina II (rAT1) se ha relacionado con mayores respuestas vasoconstrictoras a la infusión de angiotensina⁹. Sin embargo, los estudios que han analizado el valor de estos polimorfismos como marcadores de riesgo para el desarrollo de HTAE han dado resultados muy dispares, cuando no opuestos¹⁰, aunque los alelos T y A del gen del AGT^{11,12} y el C del rAT1¹³ parecen relacionarse con el riesgo de desarrollar HTAE.

Los estudios realizados en la población española analizando la asociación entre HTAE y el polimorfismo I/D del gen de la ECA¹⁴⁻¹⁸, los polimorfismos del angiotensinógeno M235T^{14,15,19,20}, T174M^{14,19} y A-6G²⁰ del gen del angiotensinógeno, no han hallado ninguna relación significativa. Por ello, nuestro objetivo es estudiar la asociación entre los principales polimorfismos genéticos del SRA con expresión funcional y el riesgo de HTAE en la población española, empleando para ello un diseño de casos y controles con un tamaño de muestra amplio y criterios estrictos en la elección de los grupos a comparar. Los controles proceden de la población general, apareándolos con los casos según edad y sexo, tomando dos controles por cada caso para minimizar posibles errores sistemáticos y aleatorios. De este modo intentamos comprobar los hallazgos de estudios previos añadiendo nuevos polimorfismos a los estudiados con anterioridad, y analizar el posible efecto epistático entre estos genes.

Pacientes y método

Pacientes

La muestra de hipertensos se seleccionó a partir de sujetos visitados de forma ambulatoria en la Unidad de Hipertensión del Hospital de Sagunto y del Hospital Clínico Universitario de Valencia. Los criterios de inclusión fueron: HTA según criterios de la WHO-ISH²¹, y edad entre 25 y 50 años. Se excluyeron aquellos pacientes con diabetes mellitus, gestantes o hipertensión arterial secundaria. A lo largo de tres años se incluyó un total de 185 casos que cumplieron los criterios de inclusión y de los que fue posible obtener el ADN genómico. Aunque se trata de un grupo de pacientes seleccionados en el ámbito hospitalario, no presentan rasgos especiales de gravedad o de resistencia al tratamiento que pudieran hacerlos diferir significativamente de otros pacientes hipertensos. El grupo control se seleccionó a partir de una muestra de población general, con las consideraciones que más adelante se especifican. Teniendo en cuenta el número prefijado de 185 controles, para el cálculo de los parámetros relacionados con el tamaño de la muestra se ha aplicado la fórmula:

$$n = 2p(1 - p) / (D^*D),$$

donde $p = (p_1 + p_2) / 2$. p_1 es la proporción de controles expuestos (portadores del genotipo de interés), y p_2 la proporción de casos expuestos. $D = p_2 - p_1$. F depende de los errores alfa y beta que se establezcan para el estudio. Para un alfa de 0,05 y un poder del 80% ($\beta = 0,2$), considerados ambos como valores estándar, el valor de F es igual a 7,84. Con estos valores, y para una proporción de casos expuestos superior al 20%, se puede detectar como estadísticamente significativa una *odds ratio* (OR) mayor de 2 con 185 casos y 185 controles. Para detectar como estadísticamente significativa una OR inferior a 2, como el número de casos está prefijado, se decide aumentar el número de controles duplicándolo como alternativa más eficiente. Con esta estrategia y según los datos anteriores, se pueden detectar como estadísticamente significativas OR mayores de 1,8 para las variantes menos prevalentes, y OR superiores a 1,4 para las variantes más prevalentes. Para evitar sesgos de selección (sesgo de Berkson) por la procedencia de los controles de población hospitalaria, se optó por elegir controles procedentes de población general. Para ello se contactó con la Unidad de Epidemiología Genética de la Universitat de València, donde se está elaborando una base de datos representativa de la población general de la Co-

TABLA 1

Características demográficas, antropométricas y bioquímicas de los casos y de los controles

	Casos (n = 185)		Controles (n = 350)		p
	Media (DE)	Extremos	Media (DE)	Extremos	
Sexo (varón/mujer)	88/97		169/181		0,911
Edad (años)	39,6 (7,5)	13-54	39,4 (8,0)	16-58	0,671
Peso (kg)	69,4 (15,1)	46-133	65,6 (12,4)	45-130	< 0,001
Talla (m)	1,64 (0,10)	1,4-1,9	1,66 (0,09)	1,4-2,0	< 0,001
IMC (kg/m ²)	28,2 (4,4)	15,8-42,7	24,9 (4,0)	17,2-45,5	< 0,001
Colesterol total (mg/dl)	211,2 (39,5)	125-333	200,9 (39,6)	113-390	0,003
Triglicéridos (mg/dl)	126,5 (71,3)	33-475	105,4 (81,4)	28-530	0,003
Presión arterial sistólica (mmHg)	151,2 (17,4)	101-242	116,0 (12,0)	80-135	< 0,001
Presión arterial diastólica (mmHg)	96,0 (9,4)	72-118	69,6 (8,5)	40-85	< 0,001

DE: desviación estándar; IMC: índice de masa corporal.

munidad Valenciana. La participación inicial de la población fue de un 75% en mujeres, y un 55% en varones. Para cada caso de hipertensión ($n = 185$), se eligieron dos controles ($n = 370$) sanos normotensos y que no estuvieran tomando ningún fármaco antihipertensivo, apareados por sexo y edad (± 3 años). Esta selección se realizó de manera aleatoria mediante una utilidad del SPSS diseñada al efecto. Posteriormente sólo fue posible disponer del ADN de 350 controles, con los que se realizó el estudio. Antes de su inclusión en el estudio se obtuvo el consentimiento informado de cada participante. Los valores de presión arterial se obtuvieron con esfigmomanómetro de mercurio siguiendo las recomendaciones de la British Hypertension Society²². Los valores plasmáticos de glucemia, perfil lipídico y creatinina se determinaron a primera hora de la mañana tras al menos 8 h de ayuno. A partir de las medidas del peso y de la talla, se calculó el índice de masa corporal (IMC; kg/m²).

Determinación de los polimorfismos del sistema renina-angiotensina

Se obtuvieron muestras de ADN a partir de leucocitos de sangre periférica según el procedimiento descrito por Leadon y Cerutti²³. El polimorfismo I/D del gen de la ECA se determinó detectando la presencia (alelo inserción, I) o ausencia (alelo deleción, D) de una secuencia de 287 pares de bases en el intrón 16 del gen, situado en el cromosoma 17, aplicando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) descrita por Rigat et al²⁴, seguida de una segunda PCR específica para el alelo I en los sujetos heterocigotos para evitar errores por la amplificación preferencial del alelo de deleción²⁵. Para la determinación del polimorfismo M235T del gen del angiotensinógeno se aplicó PCR para la amplificación de un segmento de 303 pares de bases en el exón 2, seguido de digestión enzimática por la endonucleasa de restricción *Sfa*NI. En presencia del codón ATG la enzima produce un fragmento de 266 pares de bases correspondientes al alelo M. En ausencia de producto de la digestión enzimática, el alelo identificado es T²⁶. También se aplicó amplificación mediante PCR de la región promotora 3' para el análisis del polimorfismo A-6G²⁶. Para el estudio de los genotipos del polimorfismo A1166C del gen del receptor AT1 de angiotensina II se aplicó la PCR al extremo 3' del cromosoma 3 según el procedimiento descrito por Bonnardeaux et al²⁷.

Análisis estadístico

Se comprobó la normalidad de las variables cuantitativas, y se realizó una transformación logarítmica para normalizar los triglicéridos. Se aplicó el test de la t de Student para comparar las medias de las variables cuantitativas entre los casos y los controles. Se comprobó el equilibrio de Hardy-Weinberg de las distribuciones genotípicas obtenidas mediante la prueba de la χ^2 . La distribución de genotipos y la frecuencia alélica entre grupos se compararon también utilizando la prueba de la χ^2 . Para estimar el riesgo de HTA en función de los polimorfismos considerados se realizó un análisis de regresión logística simple y múltiple, utilizando como genotipo de referencia el considera-

do de menor riesgo. Se estimó así la OR (bruta y ajustada) y su intervalo de confianza (IC) del 95% para cada variante genética analizada. Para la comparación múltiple de medias de presión arterial según los distintos genotipos estudiados, se aplicó el análisis de la variancia (ANOVA) considerando el ajuste por las posibles variables de confusión (edad, sexo e IMC) a través de un modelo lineal generalizado (GLM). Este mismo modelo permite estimar la significación estadística de la prueba de tendencia lineal entre genotipos, así como incorporar la corrección por múltiples comparaciones a través del test de Bonferroni. La existencia de epistasis se abordó mediante la prueba de la χ^2 , así como a través de la prueba de diferencias de medias. Se consideró significativo un valor de $p < 0,05$. Los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa informático SPSS versión 9.1.

Resultados

Se incluyó a 185 pacientes hipertensos y 350 controles normotensos de ambos sexos, cuyas características generales se exponen en la tabla 1. Por diseño no existían diferencias en la edad y el sexo entre hipertensos y controles. Los hipertensos, además de valores de presión arterial sistólica/presión arterial diastólica (PAS/PAD) significativamente mayores, presentaron mayor IMC, colesterol total y triglicéridos respecto de los controles (tabla 1).

Las distribuciones genotípica y alélica para cada uno de los polimorfismos estudiados aparecen recogidas en las tablas 2 y 3. La distribución genotípica tanto en el grupo de casos como en el de controles no presentó diferencias significativas respecto de las esperables según el equilibrio de Hardy-Weinberg. Entre casos y controles no hubo diferencias significativas al considerar la distribución genotípica de los polimorfismos A-6G y M235T del gen del AGT, I/D del gen de la ECA y A1166C del gen del rAT1. Al considerar la distribución alélica, los alelos A/G y M/T de los polimorfismos A-6G y M235T presentaron igual frecuencia de presentación tanto para los casos como para los controles, mientras que para los polimorfismos I/D de la ECA y A1166C del rAT1 los alelos D y A tuvieron mayor prevalencia que sus respectivos I y C tanto para casos como para controles. No hubo diferencias al comparar las frecuencias alé-

licas entre hipertensos y controles para ninguno de los polimorfismos considerados. En el grupo de hipertensos tampoco hubo diferencias en las distribuciones genotípicas y alélicas al comparar aquellos pacientes con antecedentes familiares de HTAE con los que no los tenían, o al comparar el subgrupo de hipertensos del tercil superior de los valores de PAS/PAD respecto de los del tercil inferior. Cuando se estimó el riesgo de hipertensión (OR) asociado a cada uno de los polimorfismos estudiados (tabla 4), tanto en un análisis de regresión logística univariante (OR bruta) como multivariante (OR ajustada por sexo, edad, IMC y lípidos plasmáticos), en ningún caso se obtuvo una asociación estadísticamente significativa entre los polimorfismos analizados y el riesgo de desarrollar HTAE. De todas las variantes analizadas, la que presentó un mayor riesgo de hipertensión fue el genotipo TT del polimorfismo M235T, en com-

TABLA 4

Asociación entre los polimorfismos genéticos y el riesgo de padecer hipertensión. Análisis de regresión logística simple y múltiple

	Regresión logística simple		Regresión logística múltiple	
	OR _{bruta} (IC del 95%)	p	OR _{ajustada} * (IC del 95%)	p
AGT/A(-6)G		0,426		0,501
GG	Referencia		Referencia	
AG	1,20 (0,78-1,83)	0,373	1,11 (0,72-1,74)	0,640
AA	1,38 (0,84-2,27)	0,203	1,38 (0,80-2,36)	0,242
AGT/M235T		0,293		0,205
MM	Referencia		Referencia	
MT	1,31 (0,87-1,99)	0,201	1,23 (0,78-1,94)	0,372
TT	1,44 (0,87-2,04)	0,155	1,65 (0,95-2,86)	0,075
ACE/I-D		0,625		0,625
II	Referencia		Referencia	
ID	1,30 (0,73-2,32)	0,367	1,28 (0,71-2,28)	0,407
DD	1,13 (0,63-2,05)	0,673	1,11 (0,61-2,02)	0,720
AT1/-1166		0,969		0,864
AA	Referencia		Referencia	
AC	0,95 (0,51-1,78)	0,884	0,98 (0,49-1,97)	0,969
CC	1,03 (0,71-1,50)	0,874	1,12 (0,73-1,69)	0,611

*Estimaciones ajustadas por sexo, edad, índice de masa corporal, colesterolemia y triglicéridos. OR: *odds ratio*; IC: intervalo de confianza.

TABLA 5

Valores medios de presión arterial ajustados por edad, sexo e índice de masa corporal según genotipos analizados. Análisis en casos y controles

	Casos		Controles	
	PAS (DE) (mmHg)	PAD (DE) (mmHg)	PAS (DE) (mmHg)	PAD (DE) (mmHg)
AGT/A-6G				
AA	150,6 (2,6)	96,8 (1,4)	117,3 (1,4)	71,4 (0,9)**
AG	152,2 (1,8)	95,9 (1,2)	115,7 (0,9)	69,6 (0,6)
GG	150,1 (2,3)	95,5 (1,2)	115,4 (1,1)	68,8 (0,7)**
p*	0,753	0,530	0,513	0,087
AGT/M235T				
MM	150,5 (2,4)	95,7 (1,2)	115,1 (1,0)	68,4 (0,7)**
MT	152,1 (1,8)	96,0 (0,9)	116,2 (0,9)	69,7 (0,6)
TT	151,1 (2,7)	97,1 (1,4)	116,9 (1,3)	71,4 (0,9)***
p*	0,884	0,777	0,537	0,039
ACE/I-D				
II	149,1 (3,3)	96,5 (1,7)	116,8 (1,4)	69,6 (1,2)
ID	150,5 (1,9)	95,1 (0,9)	116,1 (0,8)	69,7 (0,7)
DD	152,9 (2,0)	96,8 (1,1)	115,5 (1,0)	69,5 (0,9)
p*	0,568	0,509	0,767	0,989
AT1/-1166				
AA	152,4 (1,9)	96,2 (1,2)	116,7 (0,6)	70,1 (0,6)
AC	150,1 (1,7)	95,8 (1,1)	115,0 (1,1)	69,5 (0,8)
CC	153,9 (3,3)	96,4 (2,1)	118,1 (2,3)	69,7 (1,6)
p*	0,280	0,841	0,452	0,927

PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica; DE: desviación estándar. p: valor de p en la comparación entre genotipos; **p < 0,05 en la comparación entre homocigotos; ***p < 0,05 en la prueba de tendencia lineal.

TABLA 2

Distribución genotípica de los polimorfismos del sistema renina-angiotensina (SRA) en los casos y en los controles

	Casos n (%)	Controles n (%)	p*
AGT/A(-6)G			
AA	44 (23,8)	69 (20,2)	0,424
AG	87 (47,0)	156 (45,6)	
GG	59 (29,2)	117 (34,2)	
AGT/M235T			
MM	52 (28,7)	121 (35,3)	0,292
MT	88 (48,6)	156 (45,5)	
TT	41 (22,7)	66 (19,2)	
ACE/I-D			
II	26 (14,0)	60 (17,1)	0,608
ID	86 (46,8)	162 (46,3)	
DD	73 (39,2)	128 (36,6)	
AT1/-1166			
AA	96 (50,5)	168 (50,9)	0,969
AC	76 (40,0)	129 (39,1)	
CC	18 (9,5)	33 (10,9)	

*Prueba de la χ^2 para la diferencia de la distribución de porcentajes entre casos y controles.

TABLA 3

Frecuencias alélicas* para los polimorfismos del sistema renina-angiotensina (SRA) en los casos y los controles

	Casos	Controles
AGT/A(-6)G		
Alélo A	0,47 (0,42-0,52)	0,43 (0,39-0,47)
Alélo G	0,53 (0,48-0,58)	0,57 (0,53-0,61)
AGT/M235T		
Alélo T	0,53 (0,48-0,58)	0,58 (0,54-0,62)
Alélo M	0,47 (0,42-0,52)	0,42 (0,38-0,46)
ACE/I-D		
Alélo I	0,38 (0,33-0,43)	0,41 (0,37-0,47)
Alélo D	0,62 (0,57-0,67)	0,59 (0,55-0,63)
AT1/-1166		
Alélo A	0,71 (0,65-0,75)	0,71 (0,67-0,74)
Alélo C	0,29 (0,25-0,33)	0,29 (0,26-0,33)

*Frecuencias alélicas expresadas como frecuencia (intervalo de confianza del 95%).

paración con los homocigotos MM (OR = 1,65; IC del 95%, 0,95-2,86). Posteriormente, se llevó a cabo un nuevo análisis considerando la presión arterial como una variable continua en cada uno de los grupos, y estudiando su asociación con los genotipos estudiados. En los hipertensos, no se encontraron diferencias de medias de PAS o de PAD en función de los genotipos estudiados (tabla 5). Sin embargo, entre los controles normotensos, los portadores del genotipo AA del polimorfismo A-6G y del genotipo TT del polimorfismo M235T presentaron valores superiores de PAD al compararlos con los GG (71,4 [0,9] mmHg y 68,8 [0,7] mmHg, respectivamente; p < 0,05) y MM (71,4 [0,9] mmHg y 68,4 [0,7] mmHg, respectivamente; p < 0,05). Además, en

este último polimorfismo, la prueba de tendencia lineal fue estadísticamente significativa (p = 0,039).

Por último, para analizar la posible existencia de epistasis entre los polimorfismos, se consideraron los haplotipos con combinaciones de genotipos dos a dos. En el total de la población no hubo diferencias significativas en la distribución de haplotipos al comparar casos y controles. Sin embargo, al considerar el subgrupo de mujeres se observó que tenían mayor riesgo de ser hipertensas aquellas con la presencia simultánea del genotipo CC del polimorfismo A1166C del gen del rAT1 y los genotipos AA o TT de los polimorfismos A-6G y M235T del gen del AGT, asociación que alcanzaba significación estadística para ambas combinaciones (p = 0,007).

Discusión

En el presente estudio, llevado a cabo en 535 individuos, no se ha encontrado una asociación estadísticamente significativa entre los polimorfismos I/D del gen de la ECA, M235T y A-6G del gen del angiotensinógeno ni el A1166C del gen del receptor AT1 de la angiotensina II, de manera aislada, y un mayor riesgo de HTAE en la población española. Sin embargo, sí se observa una tendencia a valores de presión arterial más elevados entre los sujetos normotensos con el genotipo AA o TT del angiotensinógeno, así como un efecto epistático entre polimorfismos del gen del AGT y del rAT1 para el riesgo de HTAE en mujeres.

Estos resultados están en la línea de los publicados hasta la fecha en la población española. Fernández Llama et al^{14,19} informan de la ausencia de asociación entre los polimorfismos I/D del gen de la ECA y los polimorfismos M235T y T174M del gen del angiotensinógeno y un mayor riesgo de hipertensión tras comparar a 75 hipertensos con antecedentes familiares de HTA y 75 normotensos, hallazgo que se repite al considerar aquellos pacientes con HTA grave o con edad de inicio reciente de su proceso hipertensivo. En el trabajo de Pamies et al¹⁵ se analiza la asociación entre los polimorfismos I/D del gen de la ECA y M235T del gen del angiotensinógeno comparando un grupo de hipertensos ligeros con un grupo de pacientes normotensos, y diversos factores de riesgo cardiovascular incluyendo HTAE. En este trabajo, a pesar de describirse una mayor presencia de antecedentes familiares hipertensivos con el alelo D para el total de los participantes, tampoco se encontró distinta distribución genotípica entre hipertensos y controles. En el único estudio realizado sobre una muestra de población general no se halló relación entre los valores de presión arterial y el polimorfismo I/D del gen de la ECA¹⁶. Por último Rodríguez-Pérez et al²⁰ tampoco encuentran relación con el polimorfismo M235T del angiotensinógeno, y amplían esta afirmación al polimorfismo A-6G del mismo gen. El presente estudio confirma los hallazgos hasta la fecha publicados para la población española sobre distribuciones genotípicas y alélicas de los principales polimorfismos del SRA y su asociación con el desarrollo de hipertensión arterial ampliando estas conclusiones al polimorfismo A1166C del gen del receptor AT1.

El carácter de «entidad compleja» de la HTAE^{2,4} ha hecho de los estudios de asociación la metodología mayoritariamente empleada en el análisis de sus determinantes genéticos²⁸, si bien este tipo de estudios en ocasiones lleva al establecimiento de asociaciones falsas²⁹. Para mi-

nimizar este riesgo es necesaria una adecuada caracterización fenotípica de los casos y controles, lo que ha hecho que muchos autores hayan optado por el estudio de «fenotipos intermedios»³⁰, si bien esta estrategia lleva aparejada la reducción del tamaño muestral y la consiguiente pérdida de potencia estadística. En nuestro estudio, la consideración de los fenotipos intermedios «hipertensos de mayor gravedad» o «con antecedentes familiares de HTA» confirma los hallazgos del estudio general y es coincidente con estudios previos¹⁴. La distinta distribución genotípica interracial exige que los grupos a comparar tengan un mismo origen. Todos los estudios en la población española publicados hasta la fecha cuentan con la suficiente homogeneidad racial. Sin embargo, sólo en el estudio de Rodríguez-Pérez et al²⁰ y el nuestro se obtuvo un grupo control a partir de población general apareada por edad y sexo; además, en nuestro trabajo el apareamiento de cada caso con dos controles aumenta el poder de la comparación. El efecto que en el desarrollo de HTAE tienen la edad y el sexo³¹⁻³³ obliga a su control. La inclusión de pacientes jóvenes en los grupos control facilita la inclusión de futuros hipertensos, así como la inclusión de pacientes mayores en el grupo de casos favorece mayor representatividad de determinantes no genéticos³³. Al tratarse la enfermedad hipertensiva de una entidad poligénica cuya expresión depende de factores ambientales, el efecto individual de cada gen relacionado queda diluido. Es lógica la búsqueda de haplotipos, esto es, asociaciones entre diversos genes cuyo efecto combinado se relaciona con la expresión fenotípica estudiada. Fernández-Llama et al¹⁴ no hallaron efecto sinérgico al considerar los polimorfismos M235T e I/D. En el presente estudio sí observamos tal efecto entre el alelo C del polimorfismo A1166C del receptor AT1 y los alelos T y A de los polimorfismos M235T y A-6G del gen del angiotensinógeno, aunque sólo para el grupo de mujeres con HTAE. Este resultado es coherente en tanto en cuanto se ha demostrado la existencia de un equilibrio de unión completo entre los polimorfismos M235T y A-6G⁷, así como de los alelos A y T con mayores valores de angiotensinógeno, lo que da un sustrato biológico plausible a la asociación descrita^{5,6}. No existe una clara explicación para el hecho de que este hallazgo sólo afecte a la población femenina, salvo el que todas las mujeres incluidas son premenopáusicas, situación en la cual los factores hormonales y ambientales como el sobrepeso son menos prevalentes, lo que hace de las mujeres premenopáusicas un grupo en el que el desarrollo de HTAE sería dependiente en mayor grado de factores genéticos.

Nuestro estudio confirma la ausencia de relación entre los principales polimorfismos descritos en el SRA y el desarrollo de HTAE en la población española, ampliando esta conclusión al polimorfismo A1166C del gen del receptor AT1 de la angiotensina II. Aun reconociendo las limitaciones impuestas por la propia naturaleza de los estudios de asociación, el nuestro cuenta con un grupo control altamente depurado, lo que unido a la comparación de cada hipertenso con dos controles minimiza el riesgo de establecer falsas asociaciones. Sería necesaria la realización de estudios más extensos y con fenotipos de cuidadosa determinación para acabar de caracterizar diversos aspectos genéticos de la HTAE en la población española.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ward R. Familial aggregation and genetic epidemiology of blood pressure. En: Laragh JH, Brenner BM, editores. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management*. Nueva York: Raven Press Ltd., 1995; 67-68.
2. Lander ES, Schork NJ. Genetic dissection of complex traits. *Science* 1994; 265: 2037-2048.
3. Weir MR, Dzau VJ. The renin-angiotensin-aldosterone system: a specific target for hypertension management. *Am J Hypertens* 1999; 12: 205S-213S.
4. Lifton RP. Genetic determinants of human hypertension. *Proc Natl Acad Sci* 1995; 92: 8545-8551.
5. Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevtsev YV, Lifton RP, Williams CS, Charru A et al. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell* 1992; 71: 169-180.
6. Inoue I, Nakajima T, Williams CS. A nucleotide substitution in the promoter of human angiotensinogen is associated with essential hypertension and affects basal transcription. *J Clin Invest* 1997; 99: 1786-1797.
7. Onipinla A, Barley J, Carter N, MacGregor G, Sagnella G. Relationships between M235T and G (-6) A polymorphism of the angiotensinogen gene. *J Human Hypertens* 1999; 13: 865-866.
8. Tiret L, Rigat B, Visvikis S, Breda C, Corvol P. Evidence from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Human Genet* 1992; 51: 197-205.
9. Van Geel PP, Pinto YM, Voors AA, Buikema H, Oosterga M, Crijns HJ et al. Angiotensin II type 1 receptor A1166C gene polymorphism is associated with an increased response to angiotensin II in humans arteries. *Hypertension* 2000; 35: 717-721.
10. Pamies E, Palmero C, Carneado de la Fuente J. Polimorfismos del sistema renina angiotensina y enfermedad hipertensiva. *Hipertensión* 1998; 15: 272-278.
11. Kunz R, Kreutz R, Beige J, Distler A, Sharma AM. Association between the angiotensinogen 235-T variant and essential hypertension in whites. A systematic review and methodological appraisal. *Hypertension* 1997; 30: 1331-1337.
12. Ishigami T, Tamura K, Fujita T, Kobayashi I, Hibi K, Kihara M et al. Angiotensinogen gene polymorphism near transcription start site and blood pressure: role of a T-to-C transition at intron I. *Hypertension* 1999; 34: 430-434.
13. Wang WY, Zee RY, Morris BJ. Association of angiotensinogen II type 1 receptor gene polymorphism with essential hypertension. *Clin Genet* 1997; 51: 31-34.
14. Fernández-Llama P, Poch E, Oriola J, Botey A, De la Sierra A, Revert L et al. Polimorfismos genéticos del sistema renina-angiotensina e hipertensión arterial esencial. *Med Clin (Barc)* 1999; 112: 561-564.

15. Pamies E, Palmero C, García R, Stiefel P, Miranda ML, Martín V et al. Influencia de los polimorfismos M235T del angiotensinógeno e I/D de la enzima convertidora de la angiotensina sobre la hipertensión arterial y otros factores de riesgo cardiovascular. *Med Clin (Barc)* 1999; 113: 164-168.
16. Martínez E, Puras A, Escibano J, Sanchis C, Carrión L, Artigao M et al. Angiotensin-converting enzyme (ACE) gene polymorphisms, serum ACE activity and blood pressure in a Spanish-Mediterranean population. *J Hum Hypertens* 2000; 14: 131-135.
17. Espinosa JS, Rueda E, Muñoz E, Montiel A, Martínez S, Diéguez JL et al. Asociación entre polimorfismo inserción/delección del gen codificador de la enzima convertidora de angiotensina e infarto agudo de miocardio en pacientes jóvenes. *Med Clin (Barc)* 1998; 110: 488-491.
18. Fernández-Llama P, Poch E, Oriola J, Botey A, Coll E, Darnell A et al. Angiotensin converting enzyme gene I/D polymorphism in essential hypertension and nephroangiosclerosis. *Kidney Int* 1998; 53: 1743-1747.
19. Fernández-Llama P, Poch E, Oriola J, Botey A, Rivera F, Revert L. Angiotensinogen gene M235T and T174M polymorphisms in essential hypertension: relation with target organ damage. *Am J Hypertens* 1998; 11: 439-444.
20. Rodríguez-Pérez JC, Rodríguez-Esparragón FJ, Hernández-Perera O, Pérez MD, Anabitarte-Prieto A, Losada-Cabrera A. Effect of the angiotensinogen gene M235T and A (-6) G variant blood pressure and other vascular risk factors in a Spanish population. *J Hum Hypertens* 2000; 14: 789-793.
21. Guidelines Subcommittee. 1999 World Health Organization-International Society of Hypertension guidelines for the management of hypertension. *J Hypertens* 1999; 17: 151-183.
22. Petrie JC, O'Brien ET, Littler WA, De Swiet M. Recommendations on blood pressure measurement. British Hypertension Society. *Br Med J* 1986; 293: 611-615.
23. Leadon SA, Cerutti PA. A rapid and mild procedure for the isolation of DNA from mammalian cells. *Annal Biochem* 1982; 120: 282-288.
24. 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.
25. Shanmugan V, Sell KW, Saha BK. Mistyping ACE heterozygotes. *PCR Methods Appl* 1993; 3: 120-121.
26. Province MA, Boerwinkle E, Chakravarti A, Cooper R, Fornage M, Leppert M et al. Lack of association of the angiotensinogen -6 polymorphism with blood pressure levels in the comprehensive NHLBI Family Blood Pressure Program. National Heart, Lung and Blood Institute. *J Hypertens* 2000; 18: 867-876.
27. Bonnardeaux A, Davies E, Jeunemaitre X, Féry I, Cahru A, Clauser E et al. Angiotensin II Type 1 receptor gene polymorphism in human essential hypertension. *Hypertension* 1994; 24: 63-69.
28. Clerget-Darpoux F. Overview of strategies for complex genetic diseases. *Kidney International* 1998; 53: 1441-1445.
29. Jones HB. The relative power of linkage and association studies for the detection of genes involved in hypertension. *Kidney International* 1998; 53: 1446-1448.
30. Hollenberg NK. Genes, hypertension, and intermediate phenotypes. *Curr Op Cardiol* 1996; 11: 457-463.
31. Keavney B. Genetic association studies in complex diseases. *J Hum Hypertens* 2000; 14: 361-367.
32. Burt VL, Cutler JA, Higgins M, Horan MJ, Labarthe D, Whelton P et al. Trends in the prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in the adult US population. Data from the health examination surveys, 1960 to 1991. *Hypertension* 1995; 26: 60-69.
33. August P, Oparil S. Hypertension in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 1862-1866.