

Caracterización del sistema polimórfico inserción/delección del gen de la enzima convertidora de angiotensina en una muestra poblacional cubana*

Characterization of the angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism in a sample of Cuban population

Dra. Karina Casanueva Calero, Lic. Raúl Ferreira Capote

Hospital Clínicoquirúrgico "Hermanos Ameijeiras". La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: El polimorfismo de inserción/delección del gen de la enzima convertidora de angiotensina es uno de los marcadores de predisposición a enfermedades más estudiados del eje renina-angiotensina. Los hallazgos contradictorios de estudios de su asociación con diversas afecciones hacen necesario tipificar previamente las poblaciones de interés.

Objetivos: Caracterizar el comportamiento de este polimorfismo en los principales grupos raciales cubanos: caucasoide y negroide.

Métodos: Mediante un método basado en la reacción en cadena de la polimerasa se genotipificaron 93 muestras de sangre periférica obtenidas de adultos aparentemente sanos (49 caucasoides y 44 negroides). Se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas grupales.

Resultados: Los genotipos ID y DD predominaron en los grupos caucasoide y negroide, respectivamente. La comparación de las frecuencias genotípicas entre ambos grupos evidenció diferencias significativas para el genotipo ID. El alelo D resultó el más frecuente en las 2 subpoblaciones estudiadas. Ambas se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg para este polimorfismo. Las comparaciones de las distribuciones alélicas y genotípicas entre los grupos y poblaciones foráneas similares, no arrojaron diferencias significativas.

Conclusiones: Los resultados permiten considerar los valores de frecuencias genotípicas y alélicas obtenidos como referencia para posteriores estudios de asociación con enfermedades en la población cubana e indican la necesidad de tener en cuenta las características particulares de este polimorfismo en cada grupo racial.

Palabras clave: Enzima convertidora de angiotensina, polimorfismo de inserción/delección, reacción en cadena de la polimerasa, estudio poblacional.

ABSTRACT

Introduction: The insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme is one of the more studied markers of predisposition to diseases of the renin-angiotensin axis. The contradictory findings from the studies of its association with diverse affection make necessary to typify previously the interesting population.

Objectives: To characterize the behavior of this polymorphism in the main Cuban racial groups: Caucasoid and Negroid.

Methods: By means of the polymerase chain reaction-based on method the genotyping was made in 93 samples of peripheral blood obtained from adults apparently healthy (49 Caucasoid and 44 Negroid). The allelic and genotypical-group frequencies were estimated.

Results: The ID and DD genotypes were predominant in the Caucasoid and Negroid, respectively. The comparison of the genotype frequencies among both groups showed significant differences for the ID genotype. The D allele was more frequent in the two study subpopulations. Both are in balance of Hardy-Weinberg for this polymorphism. The comparisons of the allelic and genotypical distributions among similar foreign populations and groups had not significant differences.

Conclusions: Results allows us to consider the values of genotypical and allelic frequencies obtained as reference for further studies on the association with diseases in Cuban population and suggest the need of to take into account the own features of this polymorphism in each racial group.

Key words: Angiotensin-converting enzyme, insertion/deletion polymorphism, polymerase chain reaction, demographic study.

INTRODUCCIÓN

El sistema renina-angiotensina-aldosterona tiene una función primordial en la regulación de la presión sanguínea y en el balance electrolítico del organismo. Uno de sus componentes es la enzima convertidora de angiotensina (ECA), una dipeptidil carboxil zinc metalopeptidasa que convierte el decapeptido angiotensina I en el octapéptido angiotensina II, un potente vasoconstrictor. Otro sustrato importante de la ECA lo constituye el vasodilatador bradicinina, al cual inactiva, y de esta forma, la ECA refuerza la acción de la angiotensina II y produce un efecto vasoconstrictor general.¹

En el hombre, el gen que codifica a la ECA comprende 21 000 pares de bases, se localiza en el cromosoma 17 (17q23) y está compuesto por 26 exones y 25 intrones.¹ El gen de la ECA presenta un polimorfismo de inserción/delección (I/D), el cual se debe a la presencia o no, en el intrón 16, de una secuencia Alu repetitiva que comprende 287 pares de bases.² Al sistema polimórfico I/D se le atribuye el 47 % de la varianza fenotípica de las cifras plasmáticas de ECA con un patrón de herencia codominante. Los individuos homocigóticos para el alelo de delección (genotipo DD) poseen niveles circulantes de ECA incrementados, y constituyen el doble de los encontrados en los

individuos homocigóticos para el alelo de inserción (genotipo II). Los sujetos heterocigóticos (genotipo ID) presentan niveles intermedios de ECA.²

De acuerdo con las funciones de la ECA y la dependencia de sus concentraciones plasmáticas del polimorfismo I/D del gen que la codifica, es lógico pensar que el tipo de genotipo puede influir en el riesgo de presentar determinada condición fisiológica o enfermedad. Así, el genotipo DD, responsable de la mayor actividad de la enzima, debe relacionarse, por ejemplo, con mayor incidencia de trastornos circulatorios. En ese sentido, se han realizado numerosos estudios buscando posibles asociaciones del polimorfismo I/D del gen de la ECA con diversas enfermedades y/o cambios fisiológicos, la mayoría han correspondido a las cardiovasculares.³

Otras enfermedades y condiciones para las cuales se ha evaluado la asociación con el polimorfismo I/D de la ECA son: insuficiencia renal, asma bronquial, diabetes mellitus tipo 2, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, sarcoidosis, aterosclerosis, longevidad, rendimiento físico, hábito de fumar y respuesta al tratamiento con medicamentos como inhibidores de la ECA y diuréticos tiazídicos.^{3,4} Los resultados reportados al evaluar estas correlaciones son contradictorios, algunos estudios son indicadores de su existencia y otros, no.

Son varios los factores que pueden justificar estas contradicciones, entre los que se destacan las diferencias en la estructura genética de las poblaciones evaluadas, la conformación y tamaño de la muestra de estudio y el método de genotipificación del polimorfismo utilizado.⁵ Por eso se recomienda que estas presuntas asociaciones sean evaluadas en cada población particular y precedidas de estudios que demuestren la estabilidad de las frecuencias alélicas y la efectividad del método empleado para la genotipificación.

En este trabajo nos propusimos caracterizar el sistema polimórfico I/D del gen de la ECA en un sector de la población cubana, estimar las frecuencias alélicas y genotípicas y evaluar si este sistema se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg, en los grupos caucasoide y negroide de la población estudiada, así como determinar si existen diferencias en las distribuciones alélicas y genotípicas observadas, entre ambas subpoblaciones estudiadas y entre cada una de ellas y poblaciones similares de otros países.

MÉTODOS

Muestra

Se obtuvieron muestras de sangre periférica de 93 individuos aparentemente sanos que residían en Ciudad de La Habana y acudían al banco de sangre del hospital "Hermanos Ameijeiras", seleccionados según criterios étnicos (50 clasificados como caucasoides y 44, como negroides). Todos expresaron su aprobación a participar en la investigación mediante su consentimiento informado por escrito.

Extracción y purificación del ADN

Se colectaron muestras de 5 mL de sangre periférica obtenidas por venopunción antecubital. Se extrajo y purificó el ADN siguiendo el protocolo basado en la precipitación salina propuesto por *Bunce* y otros.⁶ Los ADN obtenidos fueron

cuantificados por medición espectrofotométrica de la absorbancia a 260 nm y las concentraciones resultantes fueron ajustadas a 200 ng/ μ L. La pureza de todas las muestras fue garantizada ($A_{260}/A_{280} \geq 1,8$). Se verificó la integridad del ADN obtenido mediante electroforesis en gel de agarosa al 0,8 % en tampón 0,5 X TBE (0,045 M Tris, 0,045 M borato, 1,25 mM EDTA pH 8,2), teñido con bromuro de etidio (0,5 μ g/mL) y posterior visualización bajo luz ultravioleta.

Genotipificación del polimorfismo I/D en el gen ECA

Se utilizó el método *stepdown* propuesto por *Chiang* y otros, basado en la amplificación de un fragmento del gen ECA que comprende el sitio de I/D de la secuencia *Alu* mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) con cebadores que originan un fragmento de 190 pb en presencia del alelo D y de 490 pb en presencia del alelo I.⁷

Las secuencias de los cebadores utilizados para la genotipificación fueron: oligonucleótido en sentido 5': 5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3', oligonucleótido antisentido: 5'-AT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA-3'.

Las condiciones para la reacción de amplificación fueron: Tris-HCl 10 mM (pH 8,4), KCl 50 mM, MgCl₂ 2,0 mM, 0,2 mM de cada desoxirribonucleótido (dATP, dCTP, dGTP y dTTP), Tritón X 100 0,1 %, 1 μ M de cada cebador, 2 unidades de la enzima Taq DNA Polimerasa (Promega, EUA) y volumen de reacción de 20 μ L. En todas las amplificaciones se utilizaron aproximadamente, 200 ng de ADN.,

El programa de PCR *stepdown* utilizado es: desnaturalización inicial a 95° C/5 min; 5 ciclos de: 95° C/1 min, 70° C/1 min y 72° C/1 min; 5 ciclos de: 95° C/1 min, 65° C/1 min y 72° C/1 min; 30 ciclos de: 95° C/1 min, 60° C/1 min y 72° C/1 min; elongación final a 72° C/10 min.

Los fragmentos producidos en las reacciones de amplificación se identificaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 2 % a voltaje constante (3 V/cm) en tampón TBE 0,5 X y visualización mediante tinción con bromuro de etidio y exposición a luz ultravioleta.

Confirmación del genotipo DD

Para verificar la ausencia del alelo I en todos los individuos con genotipo DD se empleó el método confirmatorio propuesto por *Lindpaintner* y otros,⁸ modificado por *Schut* y otros,⁹ se consideró la amplificación de un fragmento de ADN de 335 pb como indicativa de la presencia del alelo I.

En el método confirmatorio, la reacción de amplificación se realizó en las mismas condiciones que en el método de genotipificación, con la adición de DMSO al 10 % y el programa de PCR utilizado fue el recomendado por *Lindpaintner* y otros,⁸ con ligeras modificaciones: desnaturalización inicial a 94° C/3 min; 35 ciclos de 94° C/30 s, 67° C/45 s y 72° C/60 s y una elongación final a 72° C/10 min.

Se usaron los cebadores: oligonucleótido en sentido 5': 5'-TGG GAC CAC AGC GCC CGC CAC TAC-3', oligonucleótido antisentido: 5'-TCG CCA GCC CTC CCA TGC CCA TAA-3'.

Análisis de los resultados

La determinación de las frecuencias alélicas y genotípicas y el análisis del equilibrio de Hardy-Weinberg en cada grupo poblacional se realizó mediante el programa *GENEPOP* (<http://genepop.curtin.edu.au/>) y se utilizó el algoritmo de enumeración completa descrito por *Louis y Dempster*.¹⁰

El mismo programa se utilizó para comparar los grupos poblacionales, tanto al nivel de distribución alélica, usando la prueba exacta de Fisher,¹¹ como de distribución genotípica, mediante la prueba exacta de Goudet.¹²

Las frecuencias de cada genotipo en ambos grupos raciales se compararon mediante la prueba de chi-cuadrado, usando el programa SPSS v. 11.

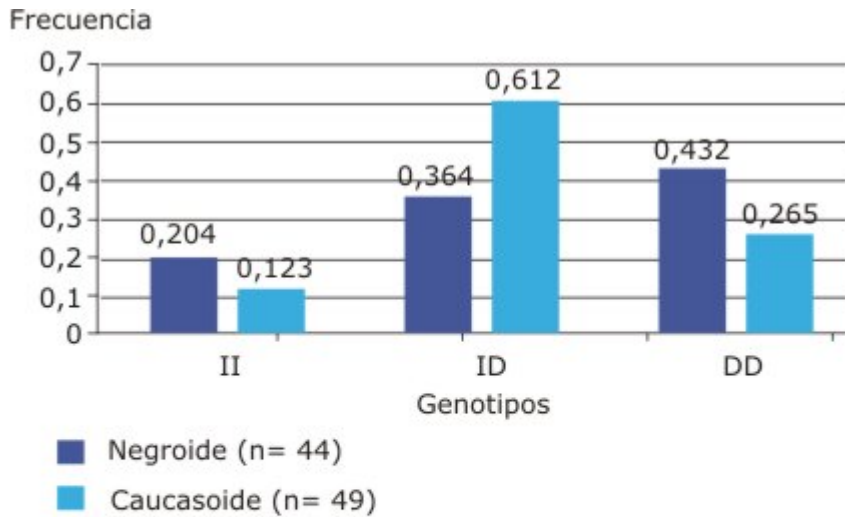
RESULTADOS

Fueron genotipificadas las 93 muestras de sangre periférica, para 100 % de eficiencia. Veinticinco de las muestras fueron genotipificadas por, al menos, 2 momentos diferentes y en todos los casos coincidieron los genotipos.

Luego del cálculo de las frecuencias génicas y genotípicas, se observó mayor frecuencia del genotipo DD en negroides ($f=0,432$) que en caucasoide ($f= 0,265$), aunque esta diferencia no tuvo significación estadística ($p=0,091$). Sin embargo, el genotipo ID presentó mayor frecuencia en caucasoide ($f=0,612$) que en negroides ($f= 0,364$), esta diferencia sí fue estadísticamente significativa ($p=0,016$). En ambas subpoblaciones se evidenció un predominio del alelo D, se obtuvo un valor discretamente superior de su frecuencia en negroides ($f=0,614$) que en caucasoide ($f=0,571$). En las figuras 1 y 2 se muestran las frecuencias genotípicas y alélicas, en ese orden, de ambos grupos poblacionales. Las distribuciones genotípicas y alélicas no se diferenciaron significativamente entre ambas subpoblaciones, $p=0,643$ y $p=0,664$, respectivamente. Ambos grupos raciales se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$) para el polimorfismo analizado (tabla 1).

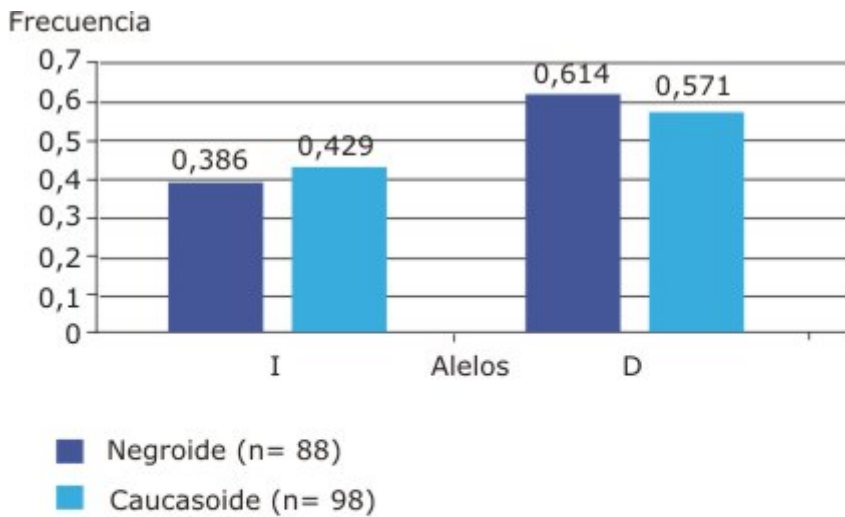
Tabla 1. Análisis del equilibrio de Hardy-Weinberg en los subgrupo poblacionales estudiados respecto al polimorfismo I/D del gen ECA

Grupo poblacional	Genotipo	Frecuencia observada	Frecuencia esperada	Valor de P
Negroide	DD	0,432	0,377	0,122
	ID	0,364	0,474	
	II	0,204	0,149	
Caucasoide	DD	0,265	0,326	0,143
	ID	0,612	0,490	
	II	0,123	0,184	



n: Número de individuos estudiados (número de genotipos comprendidos). Los valores específicos de las frecuencias aparecen sobre las barras correspondientes.

Fig. 1. Frecuencias genotípicas del polimorfismo I/D del gen ECA en 2 subgrupos poblacionales cubanos.



n: Número de alelos comprendidos. Los valores específicos de las frecuencias aparecen sobre las barras correspondientes.

Fig. 2. Frecuencias alélicas del polimorfismo I/D del gen ECA en los subgrupos poblacionales estudiados.

Por otra parte, 87,8 % (43/49) de los individuos caucasoides genotificados son portadores del alelo D, ya sea en estado homocigoto o heterocigoto, mientras que 79,6 % (35/44) de los negroides porta dicho alelo, diferencia que no representa una significación estadística ($p= 0,282$).

No se hallaron diferencias significativas cuando se compararon las distribuciones alélicas y genotípicas de los subgrupos negroide y caucasoide cubanos con las de 2 subpoblaciones negroides y 4 caucasoides extranjeras seleccionadas, respectivamente (tablas 2 y 3). Tampoco se observaron diferencias significativas al comparar las subpoblaciones foráneas del mismo origen étnico entre ellas (tabla 3).

Tabla 2. Frecuencias alélicas y genotípicas del sistema polimórfico I/D de la ECA en las subpoblaciones estudiadas y las homólogas extranjeras

Población	n	Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas		Referencia
		II	ID	DD	I	D	
Negroide							
Cuba	44	0,204	0,364	0,432	0,386	0,614	El presente estudio
EE. UU.	95	0,210	0,430	0,360	0,426	0,574	<i>Lanfean, 2004</i>
Nigeria	135	0,220	0,470	0,310	0,460	0,540	<i>Rotimi, 1996</i>
Caucasoide							
Cuba	49	0,123	0,612	0,265	0,429	0,571	El presente estudio
Madrid, España	106	0,08	0,717	0,255	0,380	0,620	<i>Mata-Belaguer, 2004</i>
Canarias, España	315	0,146	0,419	0,435	0,356	0,644	<i>Hernández, 2002</i>
Valencia, España	185	0,140	0,468	0,392	0,373	0,627	<i>Giner, 2001</i>
Sevilla, España	269	0,123	0,465	0,412	0,355	0,645	<i>López-Haldón, 1999</i>

Tabla 3. Comparación de las distribuciones genotípicas y alélicas del sistema polimórfico I/D de la ECA entre las subpoblaciones estudiadas y las homólogas extranjeras

Poblaciones comparadas	Valor de p para la comparación entre distribuciones	
	Genotípica	Alélica
Negroides		
Cuba vs. EE. UU.	0,628	0,601
Cuba vs. Nigeria	0,295	0,269
EE. UU. vs. Nigeria	0,595	0,575
Caucasoides		
Cuba vs. Madrid	0,415	0,545
Cuba vs. Valencia	0,320	0,344
Cuba vs. Canarias	0,176	0,187
Cuba vs. Sevilla	0,150	0,176
Madrid vs. Valencia	0,768	0,784
Madrid vs. Canarias	0,433	0,423
Madrid vs. Sevilla	0,413	0,450
Valencia vs. Canarias	0,607	0,587
Valencia vs. Sevilla	0,638	0,624
Canarias vs. Sevilla	1,000	1,000

DISCUSIÓN

La influencia de un marcador genético sobre la patogenia de una enfermedad puede presentar un efecto dominante (basta la presencia de un solo alelo para que se ejerza la influencia) o un efecto recesivo (solo en los individuos homocigotos para el alelo se expresa la influencia genética). También se presenta frecuentemente un efecto de dosificación génica sobre parámetros cuantitativos, es decir, los homocigotos para el alelo "predisponente" presentan mayor afectación fenotípica que los heterocigotos para dicho alelo.¹³

Respecto a la consideración del sistema polimórfico I/D del gen de la ECA como marcador de predisposición a enfermedades, por lo general se estima que tiene un posible efecto dominante y su influencia sobre parámetros cuantitativos se considera de dosificación génica.¹⁴ Pero no se puede descartar la importancia clínica de un efecto recesivo en algunas enfermedades en las que el efecto del heterocigoto tenga una manifestación subclínica.

Además, se han reportado diferencias en las frecuencias del polimorfismo genético I/D de la ECA y en sus asociaciones con enfermedades comunes del adulto, dependiendo del origen étnico de las poblaciones estudiadas. Eso evidencia la importancia de incluir el factor racial en los estudios de caracterización poblacional.

Los resultados de la caracterización de este polimorfismo en la subpoblación cubana evaluada en el presente trabajo pudieran tener implicaciones en el tratamiento epidemiológico, en ambos grupos poblacionales, de las afecciones en las que se encuentre una asociación con este marcador genético. Si tenemos en cuenta un patrón dominante en la interacción de este polimorfismo con una enfermedad particular, entonces la población caucasoide presentaría mayor tendencia que la negroide a desarrollarla.

En cambio, si se demuestra un patrón recesivo en la asociación de este marcador genético con alguna enfermedad, entonces la población negroide presentaría mayor tendencia que la caucasoide a padecerla por la mayor frecuencia del genotipo DD. No obstante, debe tenerse en cuenta que estos valores de frecuencias genotípicas particulares en cada grupo poblacional pueden deberse al azar, por el muestreo realizado.

Ambos grupos raciales estudiados se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg. Esto implica que sus frecuencias genotípicas pueden ser consideradas como estables en la población que representan y servir de referencia para estudios de asociación con diferentes enfermedades.

La comparación entre las subpoblaciones cubanas estudiadas y otras de distintos países, relacionadas genéticamente, permitió obtener más información sobre el nivel de confiabilidad de nuestros resultados, así como evaluar si en nuestro país este polimorfismo presenta características particulares de importancia para enfoques antropológicos y epidemiológicos futuros.

Las frecuencias genotípicas y alélicas de los negroides cubanos no resultaron significativamente diferentes a las de los afronorteamericanos estudiados por *Lanfear* y otros¹⁵ ni a las reportadas por *Rotimi* y otros en la población nigeriana,¹⁶ dichas frecuencias se correspondieron con las de los grupos utilizados como controles en ambos trabajos.

Asimismo, no se hallaron diferencias significativas cuando se compararon las frecuencias alélicas y genotípicas de los caucasoides cubanos con aquellas de los individuos controles de 4 estudios de asociación desarrollados en las regiones españolas de Madrid,¹⁷ Canarias,¹⁸ Valencia¹⁹ y Sevilla.²⁰

La ausencia de diferencias estadísticas entre las distribuciones genotípicas y alélicas de cada subgrupo racial cubano y las de sus similares de referencia, así como entre estos últimos cuando se compararon entre ellos, indica tanto la homogeneidad de este sistema polimórfico a través de las poblaciones comparadas, como la adecuada selección, en nuestro trabajo, de las subpoblaciones caucasoide y negroide cubanas, componentes de una población general marcada por la mezcla de genes españoles y africanos.

Los datos internacionales usados en las comparaciones poseen la limitante de provenir de estudios de tipo caso-control, o sea, los grupos controles seleccionados respecto a la enfermedad o condición, en relación con la cual tales trabajos exploran la asociación con el polimorfismo genético, por lo que pueden no representar adecuadamente las poblaciones generales respectivas.

En conclusión, este primer (hasta donde conocemos) estudio de prevalencia del sistema polimórfico I/D del gen de la ECA en población general cubana, particularmente en sus 2 principales grupos raciales, puede emplearse como base para posteriores investigaciones de su prevalencia y relación con padecimientos

multifactoriales de importante impacto en nuestro país. Los resultados obtenidos indican que en estos estudios se deberá realizar el análisis particular de los grupos raciales de la subpoblación cubana que se caracterice.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sayed-Tabatabaei FA, Oostra BA, Isaacs A, van Duijn CM, Witteman JC. ACE polymorphisms. *Circ Res*. 2006;98:1123-33.
2. Rigat B, Hubert C, Alheno-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.
3. Castellon R, Hamdi HK. Demystifying the ACE polymorphism: from genetics to biology. *Curr Pharm Des*. 2007;3:1191-8.
4. Taverne K, de Groot M, de Boer A, Klungel O. Genetic polymorphisms related to the renin-angiotensin-aldosterone system and response to antihypertensive drugs. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2010;6:439-60.
5. Norton GR, Brooksbank R, Woodiwiss AJ. Gene variants of the renin-angiotensin system and hypertension: from a trough of disillusionment to a welcome phase of enlightenment? *Clin Sci (Lond)*. 2010;118:487-506.
6. Bunce M. PCR-SSP typing. En: Bidwell JL, Navarrete C, eds. *Histocompatibility testing*. London: Imperial College Press; 2000:362-90.
7. Chiang F, Hsu K, Chen W, Tseng Ch, Tseng Y. Determination of angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms: stepdown PCR increases detection of heterozygotes. *Clin Chem*. 1998;44:1353-6.
8. Lindpaintner K, Pfeffer MA, Kreutz R. 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.
9. Schut AF, Sayed-Tabatabaei FA, Witteman JC. Smoking-dependent effects of the angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism on blood pressure. *J Hypertens*. 2004;22:313-9.
10. Louis EJ, Dempster ER. An exact test for Hardy-Weinberg and multiple alleles. *Biometrics*. 1987;43:805-11.
11. Raymond M, Rousset F. An exact test for population differentiation. *Evolution*. 1995;49:1280-3.
12. Goudet J, Raymond M, De Meeus T, Rousset F. Testing differentiation in diploid populations. *Genetics*. 1996;144:1933-40.
13. Lalouel JM. From genetics to mechanism of disease liability. *Adv Genet*. 2001;42:517-33.

14. Bleumink GS, Schut AF, Sturkenboom MC, van Duijn CM, Deckers JW, Hofman A, et al. Mortality in patients with hypertension on angiotensin-I converting enzyme (ACE)-inhibitor treatment is influenced by the ACE insertion/deletion polymorphism. *Pharmacogenet Genomics*. 2005;15:75-81.
15. Lanfear DE, Marsh S, Cresci S, Spertus JA, McLeod HL. Frequency of compound genotypes associated with α -blocker efficacy in congestive heart failure. *Pharmacogenomics*. 2004;5:553-8.
16. Rotimi C, Puras A, Cooper R, Mc-Farlane-Anderson N, Forrester T, Ogunbiyi O, et al. Polymorphisms of renin-angiotensin genes among nigerians, jamaicans, and african americans. *Hypertension*. 1996;27:558-63.
17. Mata-Balaguer T, de la Herran R, Ruiz-Rejon C, Ruiz-Rejon M, Garrido-Ramos MA, Ruiz-Rejon F. Angiotensin-converting enzyme and p22 (phox) polymorphisms and the risk of coronary heart disease in a low-risk Spanish population. *Int J Cardiol*. 2004;95:145-51.
18. Hernández E, Medina A, Rodríguez FG, Hernández O, Melian F, Delgado A, et al. The involvement of the renin-angiotensin system gene polymorphisms in coronary disease. *Rev Esp Cardiol*. 2002;55:92-9.
19. Giner V, Corella D, Chaves FJ, Pascual JM, Portoles O, Marin P, et al. Renin-angiotensin system genetic polymorphisms and essential hypertension in the Spanish population. *Med Clin (Barc)*. 2001;117:525-9.
20. López-Haldon J, García-Lozano JR, Martínez A, Núñez-Roldán A, Burgos J. The effect of polymorphisms of the angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen genes on the phenotypic expression of Spanish patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Med Clin (Barc)*. 1999;113:161-3.

Recibido: 14 de abril de 2011.

Aprobado: 12 de mayo de 2011.

Dra. *Karina Casanueva Calero*. Hospital Clínicoquirúrgico "Hermanos Ameijeiras", San Lázaro No. 701 entre Belascoaín y Marqués González, Centro Habana, Ciudad de La Habana, Cuba. CP 10 300. kcasanv@infomed.sld.cu

* Premio anual de salud al nivel nacional en la categoría de Mejor Tesis de Terminación de la Especialidad o Maestría (2006).