

## CAPÍTULO 14

### Identificación del polimorfismo inserción/delección del gen de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) en sujetos con y sin hipertensión en población de Yucatán

Identification of the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme (ACE) gene in subjects with and without hypertension in the Yucatan population

**Axel García-Burgos**

axelgb1@hotmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-7362-3928>

Departamento de Geriatria, Unidad de Medicina Especializada,  
Servicio de Cuidados Cronicos

Facultad de Medicina, Centro Médico Nacional 20 de Noviembre del  
ISSSTE, Ciudad de México

**Lizbeth J. González Herrera**

lizbeth@correo.uady.mx

<https://orcid.org/0000-0002-8620-3954>

Centro de Investigación Regional Dr. Hideyo Noguchi, Universidad  
Autónoma de Yucatán, México

### RESUMEN

La hipertensión es un padecimiento crónico-degenerativo, la cual es definida por la OMS en 2012, como un "trastorno en el que los vasos sanguíneos tienen una tensión persistentemente alta", el cual ha ido surgiendo con mayor frecuencia en un rango de población, cada vez en poblaciones más jóvenes principalmente en edad productiva de 25 a 45 años a nivel mundial. Existen factores genéticos como el polimorfismo ins/del del gen de convertidora angiotensina influye en la hipertensión arterial y una inserción/delección puede modificar la condición del paciente hipertenso. Se encuentran en las células endoteliales e influye, tanto en fluidos como el plasma, fluido cerebro espinal, líquido amniótico y líquido seminal. En el estudio se tiene el objetivo de determinar la frecuencia del polimorfismo ins/del del gen ACE y su asociación con la hipertensión en población de Yucatán. En el desarrollo de la investigación se desarrolló un procedimiento de 4 semanas del mes de septiembre a octubre, con la extracción del gen ACE en pruebas de electroforesis y gel de agarosa al 2% para ver verificar la existencia o ausencia de dicho gen.

**Palabras clave:** hipertensión, gen ACE, tensión arterial, PCR, inserción, delección.

### ABSTRACT

Hypertension is a chronic-degenerative condition, defined by the WHO in 2012 as a "disorder in which blood vessels have persistently high blood pressure", which has been emerging more frequently in a population range. Each time in younger populations mainly in productive age from 25 to 45 years worldwide. There are genetic factors such as the ins / polymorphism of the angiotensin converting gene influences arterial hypertension and an insertion / deletion can modify the condition of the hypertensive patient. They are found in endothelial cells and influence both fluid and plasma, spinal brain fluid, amniotic fluid and seminal fluid. The objective of this study was to determine the frequency of the ins / polymorphism of the ACE gene and its association with hypertension in the population of Yucatan. In the development of the research a procedure of 4 weeks of the month of September to October was developed, with the extraction of ACE gene in electrophoresis tests and 2% agarose gel to verify the existence or absence of this gene..

**Keywords:** hypertension, ACE gene, blood pressure, CRP, insertion, deletion.

### INTRODUCCIÓN

La presión sanguínea es la **fuerza** de la sangre que ésta ejerce **contra los vasos sanguíneos** cuando el corazón late; si se encuentra muy elevada, se ejerce una presión adicional sobre las arterias, lo que puede conducir a enfermedades cardiacas. Esta presión se determina tanto por la **cantidad de sangre** que bombea el corazón como por la **cantidad de resistencia al flujo sanguíneo** en las arterias (Resistencia Vascolar). A mayor cantidad de sangre bombeada y por tanto mayor estrechamiento de las arterias, se produce mayor presión arterial. Cuando la presión arterial se encuentra elevada de manera persistente, se considera que la persona tiene **Hipertensión Arterial (HTA)**.<sup>1, 2</sup> La prevalencia mundial de la hipertensión va en aumento; el número de casos pasó de 600 millones en 1980 a 1 billón en 2008. Además, las complicaciones de la hipertensión causan 9.4 millones de muertes cada año.<sup>3</sup>

La hipertensión afecta a 3 de cada 10 adultos mexicanos. Pese a la tendencia creciente en la prevalencia de HTA en

las últimas dos décadas, en los últimos seis años se ha estabilizado.<sup>4</sup> La hipertensión arterial generalmente se desarrolla por años y puede afectar a cualquier persona. No obstante, una persona puede presentar esta condición sin manifestar algún síntoma, por lo cual se le ha considerado como la **“asesina silenciosa”**. Entre los factores de riesgo con mayor peso en el desarrollo de la enfermedad, son tanto intrínsecos como extrínsecos. Los factores extrínsecos son los siguientes:

El alcohol: puede producir una elevación aguda, por **activación simpática central**. Ahora si llegase a consumirse de manera persistente; la hipertensión entra a una fase crónica.

La falta de actividad física: la falta de actividad física, produce un **incremento de la estimulación simpática** al potenciar el efecto de los barorreceptores. Además, que aumentan las lipoproteínas de baja densidad (LDL), y disminuye las lipoproteínas de alta densidad (DHL).

Ingesta de sodio: el mecanismo por el cual la restricción de sodio disminuye la presión arterial, tiene una relación directa con la **circulación de catecolaminas**. En guías de nutrición, e incluso la FAO recomienda que el consumo normal de sodio “debe de ser de 100 mol/día equivalente a **dos gramos de sodio o seis gramos de sal de mesa**”.

Ingesta de potasio: se incluye un **aumento en la natriuresis**, así como un efecto vasodilatador, debido a la hiperactividad de la bomba sodio/ potasio.

Tabaquismo: aceleración del proceso aterosclerótico y daño vascular, aunado a niveles altos de colesterol sérico, obesidad y por tanto agrava la **resistencia a la insulina**. Todo sumado a un cuadro metabólico de pronóstico crónico grave.

Consumo de cafeína: puede tener una incidencia predominante en el curso de la enfermedad, dependiendo del estado patológico del organismo.

Peso: al no existir un control del peso, aumenta el riesgo de desarrollar, un cuadro metabólico y en ello, está presente la hipertensión. Además, que el desarrollo de la enfermedad es un cuadro de evolución respecto al consumo de grasas monoinsaturadas. Esto asociado a cambios del estilo de vida y actividad física. La fisiopatología de una manera simple consiste que, al existir una **mayor presión del área visceral** y al ir disminuyendo, el flujo arterial y venoso ocurre como consecuencia un menor flujo sanguíneo, pueden ocasionar en últimas instancias **cuadros isquémicos de hipoxia y hemorrágicos**.

En el mismo contexto se citan los siguientes factores intrínsecos de riesgo o también llamados no modificables:

Historia familiar: es un factor relacionado con el tópico de este artículo, ya que, en diversos estudios genéticos y clínicos, en los Archivos de Cardiología de México en 2010, la “línea familiar de primera generación puede tener una mayor incidencia en el desarrollo de la enfermedad.” Como se hablará más adelante del **gen ACE puede tener una asociación en el desarrollo de hipertensión tanto esencial, como no esencial**. Ahondando en el tema genético, también las costumbres y hábitos alimenticios y de vida se “heredan” y puede incidir en mayor riesgo para el paciente probablemente hipertenso.

Sexo: el sexo masculino, resulta un factor de riesgo para desarrollar patologías cardiovasculares, en el rango de **35 y 40 años**, se presenta una mortalidad de cuatro a cinco veces, más que en la mujer. Así como factores relacionados con un deterioro en el perfil de lípidos, dando como resultado un aumento de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y triglicéridos.

Raza: este punto resulta controversial respecto al tópico de la hipertensión, debido a que algunas literaturas como Harrison (Medicina Interna 19e), se menciona que las personas de raza negra son más propensas a desarrollar hipertensión y cardiopatías posteriormente. Sin embargo; a raíz del proceso de occidentalización esto deja en tela de duda, si solo afecta a un sector de la población, o prácticamente se hablaría de una epidemia global como tal.

El desarrollo de los factores tanto intrínsecos como extrínsecos, tienen un papel importante en la historia natural de la enfermedad. No obstante, se debe de agregar un factor de riesgo especial como, son los polimorfismos en el gen ACE.<sup>5</sup>

Este gen se encuentra localizado **en el cromosoma 17**, y los polimorfismos contenidos en este gen, se encontraron una **asociación de inserción/delección del par de base 287.6**

La función principal de este gen, se basa principalmente en ser un marcador para la regulación de la actividad del tejido endotelial relacionado con el desarrollo de la hipertensión. Principalmente, una modificación en la estructura puede aumentar la incidencia a desarrollar los signos y síntomas de la hipertensión. Además, que la asociación puede tener mayor peso que los factores tanto extrínsecos como intrínsecos del paciente afectado.

La asociación de este gen con un polimorfismo, **el genotipo (D/D) (delección/delección)**,<sup>7</sup> tiene niveles mayores en pacientes con disección aórtica, una condición en la cual se produce una separación de la pared arterial, y se ha reportado que la inserción del polimorfismo, está asociada también en el desarrollo de la **distensión abdominal y la hipertensión.8**

En casos específicos de nefropatía diabética, **la frecuencia de delección de un alelo, estaba incrementada en**

**pacientes con nefropatía diabética.**<sup>9</sup> En pacientes mexicanos, no existieron diferencias significativas en la inserción/delección en pacientes sin albuminuria. En adición con el estudio de la patología vascular y renal, este gen se ha visto implicado en condiciones psiquiátricas y neurológicas, **el uso de los inhibidores de la ACE para tratar la hipertensión se ha visto asociada con la disminución de la depresión y un mejoramiento del conocimiento.**<sup>10</sup> La asociación encontrada entre el gen ACE, la depresión y el suicidio ha sido investigada recientemente, debido a que se ha sugerido que la depresión y la demencia es el resultado de un proceso tanto externo, como interno. Un ejemplo es de la encefalopatía, la cual es un padecimiento crónico de mayor incidencia en el adulto mayor.

### **Objetivo.**

“Determinar la asociación del polimorfismo inserción/delección del gen de la enzima convertidora de angiotensina ACE con la hipertensión arterial en población de Yucatán”.

### **Objetivos específicos.**

“Estimar las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo ins/del del gen ACE en sujetos con hipertensión de la población yucateca”.

“Estimar las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo ins/del del gen ACE en sujetos sin hipertensión de la población yucateca”.

### **Hipótesis.**

La manifestación del gen ACE propicia la alteración en el sistema renina/angiotensina y por tanto la aparición de la hipertensión en la población de Xcunya en un rango de edad entre 35 a 65 años de edad.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

- Gradillas
- 2 Pipetas de 10-100 ul.
- 2 Pipetas de 20-60 ul.
- 10x Dream Taq Buffer. 2.5 ul x 5= 12.5 ul.
- dNTP mix, 2 mM. 2.5 ul x 5 = 12.5 ul.
- Forward primer 1 ul x 5= 5 ul.
- Reverse primer 1 ul x 5= 5 ul.
- Dream Taq DNA Polym. 0.125 ul x 5= 0.625 ul.
- Agua 16.87 x 5= 84 ul.
- DNA: 1 ul.
- Bromuro de etidio.
- - 5X TBE titulación 1 con pH 8.0 se usa: 27.5g de ácido bórico, 54g de Tris y 20ml de EDTA 0.5M.
- - 5X TAE titulación 1 con pH 8.0 se usa: base Tris (24.2g), ácido glacial (5.7ml) y 10ml de EDTA 0.5M.
- - EDTA (0.5M, pH 8.0, 100ml).
- - Solución de bromuro de etidio (disolver 10mg/ml en agua, envolver con papel aluminio y almacenar a 4°C).
- - 6X gel-bromuro con carga IX (90.15% de azul de bromofenol, 0.15% de cianol, 30% (v/v) de glicerol en agua)

El tipo de estudio desarrollado en esta investigación, es de asociación genética de casos y controles, a los cuales, los pacientes se le han diagnosticado con hipertensión, no se les tiene especificado si es hipertensión esencial o no esencial, a todos ellos fueron evaluados con las pruebas del esfigmomanómetro, específicamente en edad productiva de 35 a 65 años. Las muestras sanguíneas fueron extraídas de los pacientes control. Posteriormente, se tiene cuatro muestras identificadas con los números: 67, 30, 68, 48 y un control negativo por lo cual, son sometidas a un proceso de lavado de ADN. Las cuales llevan los siguientes pasos:

- I. Se separan las muestras que contienen líquido, de las que no tienen el gen.
- II. Se colocan en gradillas.

- III. Se calienta el agua a temperatura de 65° C, para hidratarlas por diez minutos en un recipiente de metal.
- IV. Se retiran las muestras, para blanquearlas, por medio de un raspado para que no se contenga en el recipiente.
- V. Son colocadas en gradillas.
- VI. Una semana después, se escogen cinco tapones, las cuales son marcadas con los números: 67,30,68,48 y el control negativo.
- VII. Con la pipeta de 10-100 ul, se toma la sustancia Buffer y dNTP se mezclan con las muestras ya hidratadas.
- VIII. De la misma manera, se agregan 5 ul de Forward Primer y posteriormente otros 5 ul de Reverse Primer.
- IX. Por último, las muestras son colocadas en un termociclador por 1 hora y 30 minutos.

**Figura 1.** Parte de la bitácora que se usaron en los procedimientos



Fuente: elaboración propia con datos de la investigación

Posteriormente, después de este proceso las cuatro muestras, as los controles negativos deben se ser colectadas y puestas a proceso identificación de I/D en el procedimiento de electroforesis en gel de agarosa al 2%.

**Figura 2.** Las cinco muestras y control negativo son recolectadas

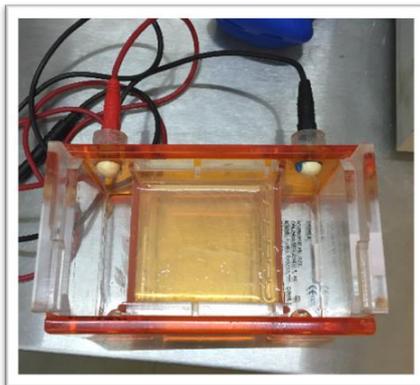


Fuente: elaboración propia con datos de la investigación

Disolver 0.8g de agarosa en 100 ml de TRE IX con calentamiento suave sobre un agitador magnético en un plato caliente (o microondas). Esto dará un gel de agarosa del 0.8%.

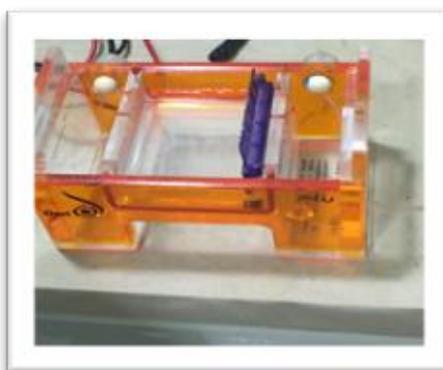
Enfriar el contenido anterior hasta 60°C y adicionar bromuro de etidio hasta obtener una concentración final de 0.5 µg/ml, mezclando apropiadamente.

**Figurea3.** Son colocadas las muestras para la electroforesis



Fuente: elaboración propia con datos de la investigación

**Figura 4.** Se usa el peine para que pueda formarse el canal y corra el gel para completar el proceso



Fuente: elaboración propia con datos de la investigación

Usar una cinta que tape o cubra ambos lados de la bandeja que mantendrá el gel.

Inserte el aparato similar a un peine de tal manera que haga un espacio entre el diente y la superficie de la bandeja de 1mm.

Obtener un espesor del gel de 4-5mm, agregar la solución de agarosa en la bandeja. Cuidar de no generar burbujas en el gel. Mantenerlo por 30-40 minutos.

**Figura 5.** Se corren las muestras.



Fuente: elaboración propia con datos de la investigación

Remover suavemente el peine cuando el gel se ha solidificado. Remover las cintas y mantener la bandeja en el tanque de electroforesis.

Agregar TRE en las muestras de ADN en las ranuras del gel sumergido. Las muestras debe ponerse en el fondo de la

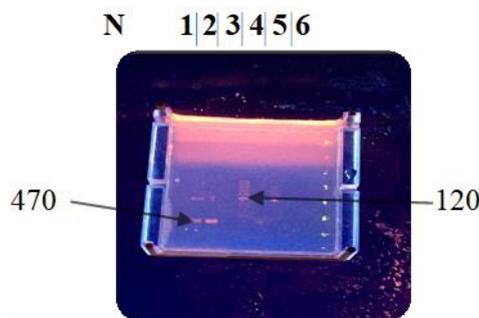
ranura.

Conectar la línea eléctrica de tal manera que el terminal negativo debe estar en el extremo donde la muestra se ha cargado.

Iniciar la electroforesis a 60-100v hasta que el azul de bromofenol migre hasta el otro extremo del gel.

Apagar y desconectar las líneas eléctricas. Retirar el gel de agarosa del tanque de electroforesis.

Figura 6. Son colocadas en transiluminador



Fuente: elaboración propia con datos de la investigación

Observar la muestra en un transiluminador ultravioleta. La secuencia de ADN separado como bandas son fluorescentes bajo la luz UV, el cual hace que se compruebe su presencia (detección).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los resultados finales, se demostró la inclusión del gen ACE, en cuatro de los cinco pocillos donde se corrió el gel después de los 40 minutos de procesamiento del material genético, incluyendo más el tiempo adicional para observar en el transiluminador los carriles. Las muestras 67,30,68,48 expresaron el gen, las cuales **modifican el curso del sistema angiotensina-aldosterona**, tomando en cuenta que los sujetos fueron entre el rango de edad de 35 a 65 años, no solamente se habla de un factor de peso como el genético, si no que existen más que conforman las enfermedades del síndrome metabólico, como se comentará más adelante en la discusión.

La hipertensión como tal es definido como un proceso **crónico y multisistémico**. La manera en cómo éste proceso se comporta es predecible hasta cierto punto. Factores mayoritarios como la dieta, peso, talla, actividad física, la carga de estrés y trabajo **pueden modificar el comportamiento y curso de la enfermedad**. Al momento de la extracción de las muestras, se tomaron como parámetros: la edad de los sujetos entre 35 a 65 años, es cuando existe mayor incidencia y predominio de la hipertensión. De éste punto se desprenden tres factores más: dieta, actividad física y estrés. Primero el estrés como factor tiene un desarrollo importante que tiene un punto destacable, las actividades contemporáneas conllevan un estrés constante y por tanto episodios de ansiedad, los cuales llevan a dos acciones el consumir alimentos de una manera desmesurada, los cuales en su mayoría el **80% tienen índice glucémico mayor y concentrado de grasas aumentando la probabilidad de padecer obesidad y diabetes mellitus tipo 2**. Éstos mismos episodios de ansiedad, pueden aumentar la presión y la frecuencia cardíaca, llevando al músculo cardíaco y a sus adyacentes, en una **hipertrofia ventricular de predominio mayormente izquierdo y desgaste del organismo a largo plazo**. La dieta ha ido disminuyendo su calidad de producción por tanto ha ido afectando la salud de los pacientes a nivel general, el proceso de la globalización ha ido modificando la dieta haciéndola más industrializada y con valores nutrimentales menores, tomando en cuenta que los organismos son totalmente diferentes y reaccionan de manera distinta. Por último, la actividad física, volviendo al tema ha afectado y ha **tenido una disminución en el gasto energético**, al no haber un gasto energético y por tanto la transformación de la glucosa a reservas de lípidos en hígado y posteriormente en circulación y por tanto en las arterias, provocando una acumulación de éstas placas, llamadas **placas de ateroma**. Todos estos factores juegan un factor importante en el desarrollo de la hipertensión arterial. El gen ACE, tiene dos roles de suma importancia en el desarrollo de la enfermedad. El primero **causa una disfunción en las paredes arteriales** y por tanto un **debilitamiento de éstas mismas**. Este mecanismo funciona de la manera siguiente: debilita las paredes arteriales, posteriormente como cualquier mecanismo muscular, **se hipertrofia y por tanto aumenta su grosor, disminuyendo el diámetro y como resultado causando el**

**aumento de la presión arterial.** Mecanismo 2: éste intercambio entre los líquidos provenientes del sistema renina-angiotensina, dan como **resultado un desequilibrio y una fuga del potasio y sodio** por la bomba, modificando los niveles de líquido, esto causa la salida de líquido y por tanto la diuresis excesiva, patrón observado en pacientes con padecimientos como hipertensión arterial y diabetes tipo 2 y la entrada de electrolitos como sodio, incrementando aún más la presión en el paciente. El gen ACE modifica la conducta y curso de la enfermedad, causando alteraciones mayores, los sujetos de experimentación fueron en su totalidad **pacientes masculinos y con un IMC mayor de 30**, esto aunado con las malas prácticas alimenticias con un predominante consumo glucémico y de lípidos. Ahora, esto tiene que tomarse en cuenta en sujetos de experimentación en poblaciones en Yucatán y, por tanto, no es una situación generalizada en la población mexicana.

## CONSIDERACIONES FINALES

La hipertensión arterial secundaria es un padecimiento que ha tenido un predominio incidental desde comienzos de la vida adulta hasta la adultez mayor, por lo que es considerada como una enfermedad sistémica y crónica. El paciente acude con el personal de salud, con los síntomas de dolor precordial, la presión arterial mayor sistólica mayor a 140 y diastólica mayor a 90. Posteriormente se tiene el conocimiento general que es causado por factores de riesgo como dieta desequilibrada, obesidad e inactividad física. El factor genético se deja de lado, se considera que el paciente al tener dos o más parientes de primera línea con hipertensión arterial tanto primaria como secundaria, tiene una probabilidad de más del 70% de sufrir de éste cuadro. Agregando, no es solo, el cuadro hipertensivo, si no que engloba a otras entidades pertenecientes al síndrome metabólico como obesidad y diabetes mellitus. Por lo tanto, es importante que los pacientes, tomen en cuenta que el tratamiento debe ser integral como los ya vistos y practicados en la clínica y reconocer si son candidatos a presentar esta inserción del gen ACE, resultando en un cuidado integral con el fin de mejorar la calidad de vida del paciente en un plazo de 20 a 25 años. Las principales limitaciones teóricas son que además del proceso realizado en el laboratorio se deben de tomar en cuenta los criterios clínicos del paciente valorando si la presión arterial se encontraba elevada en ese momento, si el paciente ha mantenido un control estricto en su dieta (alimentación y ejercicio), el estudio de esta enzima se encuentra actualmente en desarrollo. Principalmente a que la muestra del estudio es muy poca, sin embargo se pueden realizar nuevos estudios principalmente tomando en cuenta el desarrollo de las nuevas indicaciones farmacológicas de los pacientes, además del desarrollo de nuevas indicaciones alimenticias los cuales pueden mejorar de manera significativa la salud del paciente.

## REFERENCIAS

1. Blood Pressure : What is blood pressure? [Internet]. Bloodpressureuk.org. 2016 <http://www.bloodpressureuk.org/BloodPressureandyou/Thebasics/Bloodpressure>
2. High blood pressure (hypertension) - Mayo Clinic. (2015). [Mayoclinic.org](http://www.mayoclinic.org).
3. Kjeldsen S, Feldman R, Lisheng L, Mourad J, Chiang C, Zhang W et al. Updated National and International Hypertension Guidelines: A Review of Current Recommendations. *Drugs*. 2014;74(17):2033-2051.
4. High blood pressure (hypertension) Treatments and drugs - Mayo Clinic. (2015).
5. Ber 4 gene promoter polymorphism in young Turkish basketball players. *JNBS*. 2014;1(2):37-40.
6. Yang N, MacArthur DG, Gulbin JP, et al. ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. *Am J Hum Genet*. 2003;73(3):625-631.
7. Ulucan K, Göle S, Altindas N, Güney AI. Preliminary findings of  $\alpha$ -actinin-3 gene distribution in elite Turkish wind surfers. *Balkan J Med Genet*. 2013;16(1): 69-72.
8. Holdys J, Stanisławski D, Kryściak J, Groniek P. Polymorphism of the  $\alpha$ -ACTN3 gene in individuals practising different sports disciplines. *Biol Sport*. 2011;28(1): 101-106.
9. North KN, Yang N, Wattanasirichaigoon D, Mills M, Easteal S, Beggs AH. A common nonsense mutation results in alpha-actinin-3 deficiency in the general population. *Nat Genet*. 1999;21:353-354.
10. Cięszczyk P, Eider J, Ostanek M, et al. Association of the ACTN3 R577X polymorphism in Polish power-orientated athletes. *J Hum Kinet*. 2011;28:55-61.
11. Ahmetov II, Popov DV, Missina SS, Vinogradova OL, Rogozkin VA. Association of mitochondrial transcription factor (TFAM) gene polymorphism with physical performance in athletes. *Hum Physiol*. 2010;36:229-233.
12. Pokrywka A, Kaliszewski P, Majorczyk E, Zembroń-Łacny A. Genes in sport and doping. *Biol Sport*. 2013;30:155-161.
13. Wang G, Mikami E, Chiu LL, et al. Association analysis of ACE and ACTN3 in elite Caucasian and east Asian swimmers. *Med Sci Sports Exerc*. 2013;45:892-900.