

Polimorfismos del gen de la enzima convertidora de angiotensina (Inserción/Delección) y factores de riesgo asociados en pacientes con infarto agudo del miocardio

Lizbeth Salazar Sánchez^{a,✉}, Andrea Hidalgo Rodríguez^a, Jorge Arauz Chavarría^b, Max Méndez López^a, Mayra Cartín Brenes^{a,c}, Victoria Ramos Alfaro^a

a. Centro de Investigación de Hemoglobinas Anormales y Trastornos Afines (CIHATA), Universidad de Costa Rica.

b. Servicio de Cardiología, Hospital San Juan de Dios, Caja Costarricense de Seguro Social.

c. Escuela de Salud Pública, Universidad de Costa Rica.

✉ Correspondencia: Lizbeth Salazar-Sánchez. Centro de Investigación de Hemoglobinas Anormales y Trastornos Afines (CIHATA). Hospital San Juan de Dios, Paseo Colón, San José Costa Rica. Tel.: (506) 2223-1385; Fax: (506) 2222-1581; lizbeth.salazar@gmail.com

Recibido el 30-01-09. Aceptado el 21-03-09.

RESUMEN

Introducción. Los factores clásicos de riesgo cardiovascular están ampliamente estudiados y estrechamente vinculados con el desarrollo de infarto agudo del miocardio, accidente vascular cerebral y enfermedad vascular periférica. Entre los factores genéticos que subyacen a estas condiciones están las mutaciones en el gen de la enzima convertidora de angiotensina. El principal objetivo de este estudio fue establecer la relación entre polimorfismos Inserción/Delección de la enzima convertidora de angiotensina en un grupo de pacientes con cardiopatía isquémica.

Métodos: Se realizó un estudio prospectivo de casos y controles en un grupo de pacientes con infarto agudo del miocardio referidos para coronariografía. Se obtuvo información clínica a partir de los expedientes clínicos y la entrevista personal. La obtención de ácido desoxirribonucleico y el análisis del polimorfismo de la enzima convertidora de angiotensina (Inserción / Delección), se realizaron con técnicas de biología molecular previamente descritas.

Resultados: Se incluyeron en el estudio 33 casos y 67 controles. El 87.7% de los pacientes fueron de sexo masculino y el índice de masa corporal fue mayor en los casos (35.6) que en los controles (24.8). En el grupo de casos, el fumado ($p < 0.001$), hipertensión ($p < 0.001$) e hiperfibrinogenemia ($p < 0.001$) fueron factores significativamente asociados a la presencia de enfermedad cardiovascular (OR: 16.78; OR: 5.63; y OR: 16.8, respectivamente). No se encontró asociación del genotipo DD entre los casos y controles, ni su asociación con la hipertensión arterial en los individuos estudiados; en cambio, sí se encontró asociación entre los niveles del fibrinógeno y del genotipo II ($p < 0.005$). Angiográficamente, la arteria descendente anterior fue el vaso coronario más frecuentemente afectado en este grupo.

Conclusión: No se encontró asociación entre el genotipo DD de la enzima convertidora de angiotensina y la presencia de enfermedad cardiovascular. Este primer reporte ofrece la posibilidad de analizar otros polimorfismos de la enzima convertidora de angiotensina en enfermedades trombóticas y tromboembólicas.

Descriptores: polimorfismo, genotipo, enzima convertidora de angiotensina, sistema renina-angiotensina, fibrinógeno, enfermedad cardiovascular.

Key words: polimorfismo, genotipo, enzima convertidora de la angiotensina, sistema renina-angiotensina, enfermedades cardiovasculares, fibrinógeno.

ABSTRACT

Angiotensin converting enzyme gene polymorphisms Insertion/Deletion and cardiovascular risk factors in patients with acute myocardial infarction

Introduction Traditional cardiovascular risk factors are widely studied and closely linked with the development of acute myocardial infarction, stroke and peripheral vascular disease. The underlying genetic background includes the angiotensin converting enzyme gene mutations. The main objective of this study is to establish an association between the polymorphism Insertion/Deletion of angiotensin converting enzyme in a group of patients with coronary artery disease.

Methods. We performed a prospective, case-control study, in a group of patients with acute myocardial infarction referred to our center for coronary angiogram. Clinical information was obtained from medical records and personal interviews. DNA collecting and analysis of angiotensin converting enzyme I / D polymorphism, were done by molecular biology techniques as previously described.

Results. We included 100 individuals, 33 cases and 67 controls. The average age was 43.16 years old; 87.7% were male. Body mass index was higher in cases (35.6) than in controls (24.8). Smoking ($p < 0.001$), hypertension ($p < 0.001$) and high

fibrinogen levels ($p < 0.001$) were significant factors associated with cardiovascular disease (OR 16.78, OR 5.63 and OR: 16.8, respectively). No association was found in the DD genotype between cases and controls, nor with hypertensive patients. An association was found between the levels of fibrinogen and II genotype ($p < 0.005$). Angiographically, the anterior descending coronary artery was the most frequently affected vessel in this group.

Conclusion. There was no association between the DD angiotensin converting enzyme genotype and the presence of the cardiovascular disease. This first report opens the possibility of analyzing other angiotensin converting enzyme polymorphisms in other thrombotic and thromboembolic diseases.

Key words: polymorphism, genotype, angiotensin-converting enzyme, renin-angiotensin system, cardiovascular disease, fibrinogen.

Abreviaturas: ECA: Enzima convertidora de angiotensina; ECV: enfermedad cardiovascular; SRA: sistema renina-angiotensina; IAM: Infarto agudo de miocardio; ADN: ácido desoxirribonucleico.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad cardiovascular (ECV) es una de las mayores causas de muerte en los países desarrollados. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), este tipo de enfermedades causa 12 millones de muertes en el mundo cada año y representan la mitad de todas las muertes en los Estados Unidos y otros países desarrollados¹. La ECV constituye una de las principales causas de muerte en los costarricenses desde 1970, tanto en hombres como en mujeres mayores de 30 años y la tasa de mortalidad por dicha enfermedad se ha mantenido constante a través del tiempo¹. En nuestro país, en la última década, se ha presentado un cambio epidemiológico importante, caracterizado por una disminución de la mortalidad asociada a enfermedades transmisibles, adquisición de estilos de vida sedentarios e incremento de la esperanza de vida de 75 a 79 años con el consecuente aumento de la prevalencia de enfermedades crónicas².

Los factores de riesgo clásicos asociados al desarrollo de la ECV son el estilo de vida, tabaquismo, hipertensión arterial, dislipidemias y diabetes mellitus; sin embargo, al ser una enfermedad multifactorial, el estudio del componente genético es de importancia para comprender las diferencias alélicas entre los grupos poblacionales, y la información disponible sobre la interacción entre la herencia y los factores de riesgo comunes es limitada. Es por este motivo que el estudio de algunos marcadores moleculares en este grupo de pacientes costarricenses puede ser de valor desde el punto de vista diagnóstico y terapéutico, sin dejar de lado la prevención, en especial para individuos con factores de riesgo hereditarios y por ende con mayor posibilidad de sufrir eventos cardiovasculares a edades tempranas.

El sistema renina-angiotensina (SRA) es fundamental en la regulación del tono vasomotor y de la función endotelial, y como tal, en el desarrollo de hipertensión arterial. El tratamiento con bloqueadores del SRA, así como antagonistas de los receptores de angiotensina, reduce los riesgos de ECV^{3,4}, lo que confirma su relación patogénica con la enfermedad vascular. De la misma forma, se ha relacionado este sistema con la patogénesis de algunos aspectos del síndrome

metabólico tales como la aterosclerosis³, y en la actualidad, el péptido de mayor actividad de este sistema, la angiotensina II, es reconocido como un regulador del crecimiento celular y fibrosis, además de su conocido rol fisiológico en el mantenimiento de la integridad del sistema circulatorio⁴.

La enzima convertidora de angiotensina (ECA) es una serinoproteasa, cuyo gen está localizado en el cromosoma 17q23⁷. Este gen codifica para 2 isoenzimas, una somática que se expresa en las células endoteliales y otra de tipo germinal que solo se expresa en los testículos^{6,7}. Se han identificado un total de 78 variantes moleculares para este gen, pero el más estudiado es la inserción (I) o delección (D) de una secuencia *Alu* de 287 pb en el intron 16^{7,8}. La inserción de la secuencia *Alu* en el gen de la ECA se ha relacionado con un efecto protector frente al riesgo de padecer infarto agudo de miocardio (IAM), ya que su presencia (alelo I) disminuye los niveles de angiotensina II. El polimorfismo I/D del gen ECA ha sido extensamente investigado y es un *locus* genético candidato para afecciones cardiovasculares, como la enfermedad coronaria, reestenosis postangioplastia^{5,10}, infarto de miocardio⁸, hipertensión y la enfermedad cerebrovascular⁹.

En el presente estudio se analiza la prevalencia de los polimorfismos de la ECA, junto con los factores de riesgo clásicos, en una población de pacientes jóvenes con historia de IAM.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio es prospectivo, de casos y controles, inscrito en la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica (VI-807-A4307) y apoyado por el Consejo Nacional de Investigación en Ciencia y Tecnología (CONICIT, FI-2004-04).

Casos y Controles

Los casos son pacientes costarricenses con IAM diagnosticados en los últimos 24 meses, de uno u otro sexo y de cualquier etnia, con o sin historia familiar de este tipo de enfermedad, de 18 a 50 años, procedentes de hospitales públicos y privados donde fueron

inicialmente atendidos y de donde fueron referidos para realizarles coronariografía. En todos se confirmó el diagnóstico de IAM con los síntomas tóxicos característicos, electrocardiograma con cambios típicos y elevación de la creatin kinasa y de la isoenzima MB a más de 2 veces del nivel normal. Todos los pacientes incluidos debieron consentir por escrito su participación.

Se consideraron como controles personas de 18 años a 50 años, tanto hombres como mujeres, conocidos sanos que no hubieran sufrido ninguna enfermedad cardiovascular y sin ninguna relación de parentesco con los sujetos de estudio. Este grupo fue constituido por personal de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica, personal del Centro de Investigación de Hemoglobinas Anormales y Trastornos Afines y del Hospital San Juan de Dios. Todos los sujetos accedieron a participar por medio de la fórmula de consentimiento, según las normas de bioética institucionales.

A cada individuo se le tomó una muestra de 5 ml de sangre venosa en un tubo que con anticoagulante (K_3 EDTA), la cual se centrifugó a 5000 r.p.m por 10 minutos y se almacenó a -20°C .

Análisis de Biología Molecular

El ácido desoxirribonucleico (ADN) se extrajo de las muestras de sangre con K_3 EDTA según el método de Miller *et al*¹¹. Para la determinación del polimorfismo ECA I/D se realizó una reacción en cadena de polimerasa (RCP), de acuerdo a la presencia o ausencia del intrón 16 según el protocolo descrito por Rigat *et al*¹². Se utilizaron para cada determinación 2 μl de ADN. El producto de la RCP es un fragmento de 190 pb en ausencia de la inserción (alelo D) y un fragmento de 490 pb en presencia de la inserción (alelo I). Los individuos heterocigotos presentan ambas bandas (I/D)¹¹. A las muestras que presentaron un genotipo heterocigoto (I/D) se les aplicó una segunda RCP, con otro conjunto de iniciadores, según lo descrito por Odawara *et al*, para evitar el diagnóstico de falsos negativos¹³. Se observa una banda de 300 pb para el genotipo heterocigoto (I/D) y para el homocigoto del alelo deleción (D/D), una banda de aproximadamente 200 pb (**Fig. 1**).

Dosificación de fibrinógeno

Se realizó dosaje de fibrinógeno, considerándose hiperfibrinogenemia como un nivel mayor o igual a 400mg/dl.

Análisis Estadístico

Los datos se analizaron con el programa Epi.info.6.4b del Center for Disease Control de Atlanta. El equilibrio de Hardy-Weinberg fue obtenido por medio de la prueba Chi cuadrado (χ^2). Se realizaron frecuencias simples para describir las variables de más relevancia de la población de casos y controles, se compararon los porcentajes y media para describir los grupos. Se usaron pruebas de asociación para evaluar su existencia entre las variables en la población y el efecto. La asociación para las variables cualitativas se evaluó por medio del OR, equivalente al riesgo relativo para los estudios de casos y controles; en este caso se estima la asociación entre un factor de riesgo y las enfermedades mencionadas.

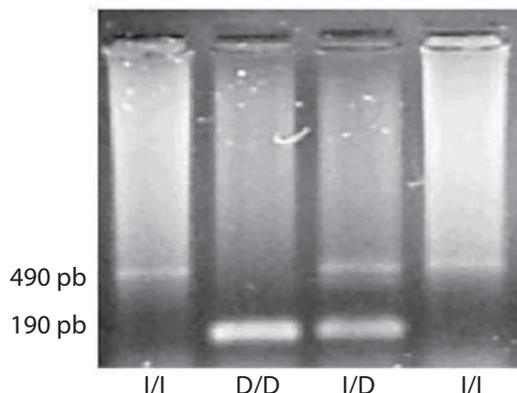


Figura 1. Corrida electroforética de la mutación inserción (II) o deleción (DD) de la secuencia de Alu 298 pb en el intrón 16 del gen de la enzima convertidora de angiotensina. Gel de Agarosa al 3%; se puede apreciar la migración de las bandas.

RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio 33 casos y 67 controles. Las características de la población estudiada se presentan en los **cuadros 1 y 2**. El 87.7% de los pacientes fueron de sexo masculino y el índice de masa corporal fue mayor en los casos (35.6) que en los controles (24.8). En el grupo de casos, el fumado ($p < 0.001$), la hipertensión ($p < 0.001$) y la hiperfibrinogenemia ($p < 0.001$) fueron factores significativamente asociados a la presencia de enfermedad cardiovascular (OR: 16.78; OR: 5.63; y OR: 16.8, respectivamente). Sin embargo, en el mismo grupo, la diabetes mellitus no mostró cifras significativas como factor asociado al desarrollo de la enfermedad cardiovascular.

El genotipo DD se encontró en 45,7% de los casos y 25,4% de los controles y no se encontró diferencia significativa, al igual que para el genotipo II, el cual estaba presente en el 40,0% de los casos y 35,8% de los controles. Al realizar la comparación estadística entre sexos, polimorfismos y factores de riesgo cardiovascular, no se encontró asociación entre el genotipo DD y la hipertensión arterial en los grupos estudiados, sin embargo, si se encontró asociación entre el promedio de los niveles de fibrinógeno y el genotipo II ($p < 0.005$, promedio mayor: 403,18 mg/dL). Encontramos también una prevalencia mayor, estadísticamente significativa del polimorfismo II en hombres al compararla con las mujeres (**cuadro 3**).

Se realizó coronariografía en 31 pacientes (**cuadro 4**); se observó que el 37.5% tenía lesión obstructiva $\geq 85\%$ de la arteria descendente anterior y un 53.1% (17 de 31) con afectación de cualquier grado en esa arteria, siendo entonces el vaso coronario más afectado en el grupo. La afeción de la arteria circunfleja fue del 34.4% y de estos, 10 individuos presentaron obstrucción $\geq 70\%$, lo que corresponde al 31.25% del total de pacientes. La arteria coronaria derecha estaba

Cuadro 1
Características demográficas y prevalencia de factores de riesgo cardiovascular en la población estudiada

	Casos	Controles	OR	p
N	33	67		
Edad, años	43,16	43,16		n.s
Sexo (%)				
Hombres	87.5	87.5		
Mujeres	12.5	12.5		
IMC (kg/m ²)	35.6	24.8	2.19 (1.11– 4.32)	<0.001
Fumado (%)				<0.001
Si	52.5	56	16.78	
No	47.5	11		
Fibrinógeno (mg/dL)	401.8	261.6	5.63 (2.09-15.44)	<0.001
Hipertensión (%)			16.8 (5.0-62.98)	<0.001
Si	57.5	7.5		
No	42.5	92.5		
Diabetes Mellitus (%)				
Si		7.5		
No	15	7.5		n.s
	85	92.5		

P <0.05 es significativa; n.s.= no significativo.

Cuadro 2
Prevalencia de los genotipos del polimorfismo I/D de la ECA analizados

Polimorfismo (I/D)ECA	Casos (%)	Controles (%)	OR (95% IC)	P
Fenotipo				
DD	45,7	25,4	1,01 (0,45-2,29)	0,980
ID	14,3	35,8	0,399 (0,13-1,20)	0,109
II	40,0	35,8	1,83 (0,79-4,19)	0,160
Frecuencia Alélica				
D	0,528	0,576	1,07 (0,66-1,74)	0,777
I	0,472	0,433		

p < 0.05 es significativa.

Cuadro 3
Prevalencia de los factores de riesgo y polimorfismos por sexo

	Masculino	Femenino	OR (95% IC)	p
Fibrinógeno mg/dl	420	437.7	0.959 (0.58-1.59)	0.870
IMC	28	22	0.786 (0.38-1.64)	0.526
Hipertension	14.2%	54.1%	3.25 (1.01-10.48)	<0.05
Fumado	57.1%	62.5%	3.75 (1.17-11.92)	0.020
Frecuencia Alélica				
D	32.2%	14.2%	2.25 (0.25-5.47)	0.078
I	42.9%	10.7%	0.25 (0.09-0.64)	<0.004

Polimorfismos del gen de la enzima convertidora de angiotensina (Inserción/Delección) y factores de riesgo asociados en pacientes con infarto agudo del miocardio
Lizbeth Salazar-Sánchez, Andrea Hidalgo Rodríguez, Jorge Arauz Chavarría, Max Méndez Lopez, Mayra Cartín Brenes, Victoria Ramos Alfaro

Cuadro 4
Hallazgos angiográficos en los pacientes y su asociación con el polimorfismo de la ECA I/D

VASO AFECTADO	Pacientes (n=31) %	Grado de Obstrucción (%)
Arteria Descendente anterior (ADA)	12 (37.5%)	> 85
Arteria Circunfleja (ArtCx)	11 (34.4%)	> 70
Arteria Coronaria Derecha (ACD)	8 (25.0%)	>50
Polimorfismo (Fenotipo) / (n=27)	Lesión de un vaso (n=13) %	Lesión de 2 o + vasos (n=14) (%)
DD/ (n=11) (100%)	7 (63.7%)	4 (36.3%)
ID/ (n=13) (100%)	4 (36.4%)	9 (63.6%)
II/ (n=3) (100%)	2 (66.7%)	1 (33.3%)

afectada en un 25% de los pacientes (con un grado de obstrucción $\geq 50\%$). El 45% de los pacientes presentó además enfermedad multi-vaso. No se encontró asociación entre la presencia de los fenotipos de la ECA con el grado, número de lesiones obstructivas angiográficas ni el número de vasos afectados ($\chi^2=0.196$, $p=0.657$, **cuadro 4**).

DISCUSIÓN

La variabilidad genética individual puede desempeñar un papel determinante en la enfermedad coronaria, especialmente en aquellos pacientes que asocian también los factores de riesgo clásicos. Siendo la ECV multicausal, el componente genético debe analizarse como potenciador, favoreciendo su aparición a edades tempranas. Los polimorfismos de la ECA (I/D) fueron descritos por primera vez en 1992¹², y uno de los estudios pioneros sobre este tema fue publicado por Cambien *et al*¹⁴. Desde entonces, han sido motivo de intensa investigación; numerosas publicaciones han establecido la implicación del polimorfismo D en la patogenia de la enfermedad coronaria y el IAM^{3,8,14,15}, en enfermedad isquémica cerebral⁹, el remodelado postinfarto¹⁰, la dispersión del QT-muerte súbita¹⁷, la restenosis postintervención coronaria percutánea, resistencia a la insulina-diabetes mellitus⁶, la hipertensión arterial¹⁸ y la hipertrofia de ventrículo izquierdo^{5,15,21}. Por ejemplo, el estudio ECTIM¹⁹, basado en el registro MONICA, comprobó que el genotipo DD es un poderoso factor de riesgo, de tal forma que se triplica en pacientes diabéticos tipo 2 que presentan este alelo. Sin embargo, existen también resultados contradictorios²², donde se niega tal relación.

Si bien existe una gran cantidad de documentación que vincula íntimamente los polimorfismos de la ECA con el desarrollo de ECV, otra gran proporción de estudios ha fallado al encontrar dicha relación. Se conoce, que los niveles séricos de la ECA están relacionados con el genotipo²⁰, y aunque un estudio observacional como el nuestro no puede ser utilizado para establecer los mecanismos fisiopatológicos que originan una entidad específica, es razonable aceptar que el SRA ejerce un efecto deletéreo en mayor o menor grado que

se conjuga con los factores de riesgo conocidos para ocasionar ECV. En nuestro estudio, no fue posible encontrar una asociación directa del genotipo DD del polimorfismo ECA con el IAM en la población estudiada ni con la hipertensión arterial, lo cual ha sido también reportado en otras investigaciones^{12,19}. Sí se encontró asociación entre los factores de riesgo clásicos y el IAM, lo cual está descrito y concuerda con la literatura universal, así como también su asociación con los valores aumentados del fibrinógeno; cabe mencionar la relación de hiperfibrinogenemia en fumadores con relación a no fumadores: se encontró en niveles aumentados estadísticamente significativos con el genotipo II ($p<0.004$). A este respecto, en los pacientes diabéticos se ha descrito la asociación entre el genotipo II, ID, albuminuria y niveles aumentados de fibrinógeno^{6,16}, donde el polimorfismo ECA II es un sinergista de la ECV.

En esta investigación no se pudo establecer asociaciones entre los fenotipos y las lesiones obstructivas coronarias, probablemente por el reducido número de pacientes.

CONCLUSIÓN

Actualmente, los estudios se enfocan hacia los sinergismos entre los diferentes polimorfismos, factores de riesgo y el desarrollo de estas enfermedades. Tal y como se analizó en el presente estudio, se confirma la importancia de disminuir la exposición a ciertos hábitos y factores de riesgo de la ECV, en especial en individuos que presentan polimorfismos o variantes genéticas que predisponen su desarrollo. Es primordial señalar la necesidad de aumentar el número de pacientes estudiados para obtener conclusiones estadísticamente válidas para nuestra población y así fortalecer las medidas preventivas que ya se desarrollan en el país.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Araya M, Guzmán S. Evolución de la mortalidad por enfermedad isquémica del corazón e infarto agudo del miocardio en Costa Rica, 1970-2001. *Rev Panam Sal Public* 2004; 16: 295-301

2. Campos H, Mata L, Siles X. Prevalence of cardiovascular risk factors in rural and urban Costa Rica. *Circulation* 1992; 85: 213-215
3. Niu T, Chen Xiu, Xu X. Angiotensin Converting Enzyme gene Insertion/Deletion Polymorphism and Cardiovascular Disease. *Drugs* 2002; 62: 977-993
4. Suzuki Y, Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Ruperez M, Esteban V, Egido J. Inflammation and Angiotensin II. *Int J Biochem Cel B* 2003; 35: 881-900
5. Hernández D, Lacalzada J, Salido E, Linares J, Barragán A, Lorenzo V, Higuera L, Martín B et al. Regression of left ventricular hypertrophy by lisinopril after renal transplantation: Role of ACE gene polymorphism. *Kidney Int* 2000; 58: 889-97
6. Thomas N, Tomlinson B, Chan J. Renin-Angiotensin System gene polymorphisms, blood pressure, dyslipidemia, and Diabetes in Hong Kong Chinese. A significant association of the ACE insertion/deletion polymorphism with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 24:356:361, 2001
7. Coates D. Molecules in focus: The angiotensin-converting enzyme (ACE). *Int J Biochem Cel B* 2003; 35:769-73
8. Carluccio M, Soccio M, De Caterina R. Aspects of gene polymorphisms in cardiovascular disease: the renin-angiotensin system. *Eur J Clin Invest* 2001; 31: 476-488
9. Sharma P. Meta-analysis of the ACE gene in ischaemic stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 64: 227-230
10. Ledru F, Blanchard D, Battaglia S, Jeunemaitre X, Courbon D, Guize L, Guernonprez J, Ducimetiere P, Diebold B. Relation Between severity of Coronary Artery Disease, Left Ventricular function, and Myocardial Infarction, and influence of the ACE I/D Gene Polymorphism. *Am J Cardiol* 1998; 82: 160-165
11. Miller M, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:121
12. Rigat B, Humbert C, Corvol P, Soubrier F. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP 1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucl Acids Res* 1992; 20: 1433
13. Odawara M, Matsunuma A, Yamashita K. Mistyping frequency of the Angiotensin-Converting Enzyme Gene Polymorphism and an improved method for its avoidance. *Hum Genet* 1997; 100: 163-166
14. Cambien, Poirier O, Lecert L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D, et al. Deletion polymorphism and the angiotensin-converting enzyme gene is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359:641-4
15. Lindpainter K, Pfeffer MA, Kreutz R, Stampfer MJ, Grodstein F. A prospective evaluation of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and the risk of ischaemic heart disease. *N Engl J Med* 1995; 332: 706-11
16. Jastrzebska M, Widecka K. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 4G/5G and the angiotensin-converting enzyme (ACE) I/D gene polymorphism and the fibrinolytic activity in patients with essential hypertension and dyslipidemia. *Pol Arch Med Wewn* 2005; 113 (1):7-20
17. Tsung-Hsien Lin, Heng-Chia Chiu, Ho-Ming Su, Suh-Hang Hank Juo, Ya-Ting Lee, Wen-Chol Voon, Wen-Ter Lai and Sheng-Hsiung Sheu D-Allele of ACE Polymorphism is Associated With Increased Magnitude of QT Dispersion Prolongation in Elderly Chinese. *Circ J* 2007;71: 39-45
18. Pontremoli R, Ravera M, Viazzi F, Nicoletta C, Berruti V, Leoncini G, Giacomelli F, Bezante G P, Sacchi G, Ravazzolo R, Deferrari G. Genetic Polymorphism or the renin-angiotensin system and organ damage in essential hypertension. *Kidney Int* 2000; 57: 561-69
19. Poirier O, Georges JL, Ricard S, Arveiler D, Ruidavets JB, Luc G, Evans A, Cambien F, Tiret L. New polymorphisms of the angiotensin II type 1 receptor gene and their associations with myocardial infarction and blood pressure: the ECTIM study. Etude Cas-Temoin de l'Infarctus du Myocarde. *J Hypertens* 1998;10: 1443-7
20. Paul M, Poyan Mehr A, Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev* 2006; 86: 747-803
21. Lechin M, Quiñones M A, Omran A, Hill, R, Qun-Tao Yu, MD, Rakowski H, Wigle D, Liew C.C, Sole M, Roberts R, Marian A J. Angiotensin-I Converting Enzyme Genotypes and Left Ventricular Hypertrophy in Patients With Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation* 1995;92: 1808- 1812
22. Bautista LE, Vargas CI, Oróstegui M, Gamarra G. Population-based case-control study of renin-angiotensin system genes polymorphisms and hypertension among Hispanics. *Hypertens Res* 2008;31(3):401-08