POLIMORFISMOS GENETICOS DEL SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA COMO FACTORES DE RIESGO PARA HIPERTENSIÓN ARTERIAL ESENCIAL EN UNA POBLACIÓN DE ESTRATOS DOS Y TRES DE BUCARAMANGA

CLARA INÉS VARGAS CASTELLANOS. MD. MSc.

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

ESCUELA DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE SALUD PÚBLICA

MAESTRÍA EN EPIDEMIOLOGÍA

BUCARAMANGA, COLOMBIA

2006

POLIMORFISMOS GENETICOS DEL SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA COMO FACTORES DE RIESGO PARA HIPERTENSIÓN ARTERIAL ESENCIAL EN UNA POBLACIÓN DE ESTRATOS DOS Y TRES DE BUCARAMANGA

CLARA INÉS VARGAS CASTELLANOS. MD. MSc.

TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL TITULO DE MAGISTER EN EPIDEMIOLOGÍA

Directora: MYRIAM OROSTEGUI ARENAS. ENF. MSc.

Asesor: GERMÁN GAMARRA HERNÁNDEZ MD. MSC. EPIDEMIOLOGÍA

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

ESCUELA DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE SALUD PÚBLICA

MAESTRÍA EN EPIDEMIOLOGÍA

BUCARAMANGA, COLOMBIA

2006

TABLA DE CONTENIDO.

CAPITULO		**PAG.**
i.	DEDICATORIA	
ii.	AGRADECIMIENTOS	
iii.	GLOSARIO	
iv.	RESUMEN	
1.	INTRODUCCION	1
2.	OBJETIVOS	3
2.1	OBJETIVO GENERAL	3
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3.	MARCO TEÓRICO	4
3.1	INTRODUCCION	4
3.2	SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA	4
3.3	EPIDEMIOLOGIA DE LA HIPERTENSION ARTERIAL	6
3.4	GENETICA DEL SRA	10
3.4.1	GENETICA DE ECA	11
3.4.2	GENETICA DEL ANGIOTENSINOGENO	13
3.4.3	GENETICA DEL RECEPTOR TIPO 1 DE LA ANGIOTENSINA II	14
3.5	EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DE LA HIPERTENSION ESENCIAL	16
3.5.1	EFECTO DE LA RAZA	17
3.5.2	PRINCIPIO DE HARDY-WEINBERG	21
3.5.3	COEFICIENTE DE ENDOGAMIA O ESTADISTICO Fst	22
4.	PREGUNTA E HIPÓTESIS DE INVESTIGACION	24
4.1	PREGUNTA	24
4.2	HIPOTESIS	24
5.	METODOLOGIA	25
5.1.	DISEÑO DEL ESTUDIO	25
5.2.	POBLACIÓN	25

5.2.1	DEFINICION DE CASOS	26
5.2.2	DEFINICION DE CONTROLES	26
5.3.	MEDIDA DE EXPOSICIÓN	27
5.4	TAMAÑO DE LA MUESTRA	27
5.4.1	FORMA DE MUESTREO	28
5.5	RECOLECCION DE DATOS	29
5.6	VARIABLES	30
5.7	TOMA Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS	31
5.8.	GENOTIPIFICACIÓN	31
5.9.	PROCESAMIENTO DE LOS DATOS	35
5.9.1	RECODIFICACION DE LAS VARIABLES	35
5.10	ANÁLISIS DE LOS DATOS	36
5.10.1	MODELAMIENTO	38
5.10.2	CONSTRUCCIÓN DEL MODELO	38
5.11	ASPECTOS ÉTICOS	44
6.	RESULTADOS	45
6.1	FORMACIÓN DE LA BASE DE DATOS DEFINITIVA	45
6.2	DESCRIPCIÓN DEL GRUPO EN ESTUDIO	46
6.2.1	CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS	47
6.2.2	ANTECEDENTES PERSONALES DE ENFERMEDAD CRÓNICA Y FACTORES DE RIESGO	47
6.2.3	FACTORES DE RIESGO	48
6.2.4	FRECUENCIAS GENOTIPICAS DE LOS POLIMORFISMOS	48
6.2.5	CARACTERÍSTICAS DE LOS INDIVIDUOS ELIMINADOS	49
6.2.6	ANÁLISIS MULTIVARIADO	50
6.2.7	DESCRIPCIÓN DEL MODELO	50
6.2.8	EFECTO SOBRE EL VALOR DE LA RAZÓN RELATIVA DE EXPOSICION DE LA HTA DE LAS VARIABLES ORIGINALES Y RECODIFICADAS PARA MEDIR SOBREPESO Y OBESIDAD	52
6.2.9	MODELO DEFINITIVO	53

6.2.10 EVALUACION DEL MODELO 54
6.3 EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE LOS POLIMORFISMOS DE LOS GENES DEL SRA SOBRE LOS VALORES DE LA PRESIÓN ARTERIAL SISTOLICA Y DIASTOLICA POR MEDIO DE UN MODELO DE REGRESIÓN LINEAL MULTIPLE 59
6.3.1 EVALUACIÓN DEL MODELO DE REGRESION LINEAL PARA LA PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA Y EL POLIMORFISMO DEL SRA 63
6.4 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE INTERACCIÓN ENTRE LOS POLIMORFISMO DEL SRA, EL SEXO, LA OBESIDAD Y LA EDAD 63
6.5 EVALUACIÓN DE LA ESTRUCTURA EN LA POBLACION ANALIZADA 65
7. DISCUSIÓN 67
8. ANALISIS CRÍTICO DE LOS RESULTADOS 79
8.1 POSIBLES SESGOS DEL ESTUDIO 79
9 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 80
9.1 RECOMENDACIONES 81
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 82
11. ANEXOS 94

LISTA DE ANEXOS

		PAG.
11.1	ANEXO A CONSENTIMIENTO INFORMADO	94
	INFORME DE LA EJECUCION PRESUPUESTAL	95
11.2	ANEXO B TABLA 1	96
11.3	ANEXO C TABLA 3	101
11.4	ANEXO D TABLA 4	107
11.5	ANEXO E TABLA 5-8	108
11.6	ANEXO F TABLA 9-14	110
11.7	ANEXO G TABLA 15	116
11.8	ANEXO H TABLA 16	117
11.9	ANEXO I TABLA 17-19	118
11.10	ANEXO J TABLA 23	122
11.11	ANEXO K TABLA 22 Y 24, TABLA 26-28	123
11.12	ANEXO L GRAFICO 6-9	131
11.13	ANEXO LL GRAFICO 10-15	135
11.14	ANEXO M GRAFICO 16-18	141
11.15	ANEXO N TABLA 29-32	144
11.16	ANEXO O GRAFICO 19-25, TABLA 33-40	147

LISTA DE TABLAS

	PAG.
TABLA 1. FACTORES DE RIESGO PARA DESARROLLAR HTA	96
TABLA 2. INTERPRETACIÓN DE LOS VALORES PARA FST.	23
TABLA 3. DESCRIPCION DE LAS VARIABLES SELECCIONADAS PARA EL ANALISIS DE LA ASOCIACION ENTRE EL POLIMORFISMO DEL SRA E HTA	101
TABLA 4. RESUMEN DE DIFERENTES ESCENARIOS EL CÁLCULO DEL TAMAÑO DE MUESTRA	107
TABLA 5. CONDICIONES DE LA MEZCLA PARA LA REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA PARA CADA POLIMORFISMO DEL SRA	108
TABLA 6. CONDICIONES DE AMPLIFICACION DE CADA POLIMORFISMO DEL SRA.	109
TABLA 7. TABLA DE DOS POR DOS PARA CASOS Y CONTROLES PAREADOS	38
TABLA 8. CARACTERIZACION DE EDAD EN CASOS Y CONTROLES	46
TABLA 9. DESCRIPCION DE LAS CARACTERISTICAS SOCIODEMOGRAFICAS DE LA POBLACION EN ESTUDI	110
TABLA 10. CARACTERISTICAS DE LOS ANTECEDENTES FAMILIARES Y PERSONALES DE LOS CASOS Y LOS CONTROLES	111
TABLA 11. DESCRIPCION DE LOS FACTORES DE RIESGO DE LOS CASOS Y LOS CONTROLES	112
TABLA 12. CARACTERISTICAS DE LOS FACTORES DE RIESGO AGRUPADOS	113
TABLA 13. PREVALENCIA DE LOS POLIMORFISMOS DEL SRA	114
TABLA 14. EQUILIBIRIO DE HARDY-WEINBERG DE LOS POLIMORFISMOS DEL SRA	115
TABLA 15. VALORES DE LA PRUEBA Fst	116
TABLA 16. CARACTERISTICAS DE LOS INDIVIDUOS ELIMINADOS DEL ESTUDIO COMPARADOS CON LOS INCLUIDOS	117

TABLA 17. VALORES DE LOS RRE DEL MODELO PAREADO Y DEL MODELO AJUSTADO EN HTA Y POLIMORFISMOS DEL SRA 118
TABLA 18. VALORES DE RRE DE LOS PROMEDIOS DE LOS FACTORES DE RIESGO EN HTA Y POLIMORFISMOS DEL SRA 120
TABLA 19. VALORES DE RRE DE LOS POLIMORFISMOS GENETICOS DEL SRA 121
TABLA 20. VARIABLES DISCRETAS Y CONTINUAS SELECCIONADAS PARA INCLUIRLAS EN ELMODELO EXPLICATIVO DE LA HTA Y LOS POLIMORFISMOS DEL SRA 51
TABLA 21. EFECTO DE LAS MEDIDAS PARA DETERMINAR SOBREPESO Y OBESIDAD EN EL VALOR DE RRE DE LA VARIABLE EXPLICATORIA 52
TABLA 22. VARIABLES INCLUIDAS EN EL MODELO APAREADO DEL EFECTO DE LOS POLIMORFISMO DEL SRA SOBRE HTA 53
TABLA 23. EFECTO DEL POLIMORFISMO GENETICO DEL SRA SOBRE EL VALOR DE RRE PARA HTA AJUSTADO POR OTRAS VARIABLES DE RIESGO 122
TABLA 24 VARIABLES INCLUIDAS EN EL MODELO AJUSTADO POR SEXO Y EDAD DEL EFECTO DE LOS POLIMORFISMOS DEL SRA 126
TABLA 25. NUEVO MODELO APAREADO PARA LA ASOCIACION ENTRE LOS POLIMORFISMOS DE LOS GENES DEL SRA E HTA 55
TABLA 26. VALORES SEGÚN INDIVIDUOS Y VARIABLES DEL MODELO 130
TABLA 27. VALORES ANOMALOS DE dx2 130
TABLA 28. VALORES DEL MODELO APAREADO PARA EVALUAR ASOCIACION ENTTE LOS POLIMORFISMOS DEL SRA E HTA SIN INCLUIR LOS DATOS ANOMALOS 129
TABLA 29. DATOS DEL INDIVIDUO Y VARIABLES DEL MODELO, VALOR ANOMALO PARA dx2 144
TABLA 30. DATOS DEL INDIVIDUO Y VARIABLES DEL MODELO, VALORES ANOMALOS DEL LEVERAGE (hat) 144

TABLA 31. VALORES DEL MODELO AJUSTADO POR EDAD Y SEXO PARA EVALUAR ASOCIACION ENTRE LOS POLIMORFISMOS DEL SRA E HTA SIN INCLUIR EL DATO ANOMALO PARA dx2. 145
TABLA 32. VALORES DEL MODELO AJUSTADO POR EDAD Y SEXO PARA EVALUAR ASOCIACION ENTRE LOS POLIMORFISMOS DEL SRA E HTA SIN INCLUIR EL DATO ANOMALO PARA LEVERAGE 146
TABLA 33. VARIABLES TRANSFORMADAS A PARTIR DE LOS PROMEDIOS DE LA PS Y PD 148
TABLA 34. RESULTADOS DE LA REGRESION LINEAL MULTIPLE DE LA PS PARA CASOS Y CONTROLES 152
TABLA 35. RESULTADOS DE LA REGRESION LINEAL MULTIPLE DE LA PD PARA CASOS Y CONTROLES 152
TABLA 36. RESULTADOS DE LA REGRESION LINEAL MULTIPLE DEL INVERSO DEL PROMEDIO DE LA PS PARA CASOS Y CONTROLES 153
TABLA 37. RESULTADOS DE LA REGRESION LINEAL MULTIPLE DEL INVERSO DEL PROMEDIO DE LA PD PARA CASOS Y CONTROLES 153
TABLA 38. RESULTADOS DE LA REGRESION LINEAL MULTIPLE DEL PROMEDIO DE LA PS PARA CASOS Y CONTROLES POLIMORFISMO T174M 153
TABLA 39. RESULTADOS DE LA REGRESION LINEAL MULTIPLE DEL PROMEDIO DE LA PS PARA CASOS Y CONTROLES POLIMORFISMO A1166C DEL r1AT 154
TABLA 40. RESULTADOS DE LA REGRESION LINEAL MULTIPLE DEL PROMEDIO DE LA PD PARA CASOS Y CONTROLES POLIMORFISMO A1166C DEL r1AT 155
TABLA 41. INTERACCION DEL POLIMORFISMO DD GEN ECA Y DIFERENTES FACTORES DE RIESGO DE LAHTA 64

LISTA DE GRAFICAS

	PAG.
GRAFICO 1. COMPONENTES DEL SRA	5
GRAFICO 2. MODELO CONCEPTUAL DEL MARCO TEORICO	20
GRAFICO 3. DIAGRAMA DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA DE CASOS Y CONTROLES	29
GRAFICO 4. DIAGRAMA DE CONSTRUCCION DE LA BASE DE DATOS HTA Y SRA	36
GRAFICO 5. DISTRIBUCION PORCENTUAL DE LA EDAD EN GRUPOS	47
GRAFICO 6. ELECTROFORESIS PARA EL POLIMORFISMO I / D DEL GEN ECA	131
GRAFICO 7. ELECTROFORESIS PARA EL POLIMORFISMO T174M DEL GEN AGT	132
GRAFICO 8. ELECTROFORESIS PARA EL POLIMORFISMO M235T DEL GEN AGT	133
GRAFICO 9. ELECTROFORESIS PARA EL POLIMORFISMO A1166C DEL GEN r1AT	134
GRAFICO 10. AJUSTE DEL MODELO CONDICIONAL COMPARANDO LOS VALORES dx2 CON LA PROBABILIDAD	135
GRAFICO 11. AJUSTE DEL MODELO CONDICIONAL COMPARANDO LOS VALORES dBETA CONTRA EL PREDICT POR CADA GRUPO ANALIZADO	136
GRAFICO 12. AJUSTE DEL MODELO CONDICIONAL VALORES gdx2 DATOS QUE NO AJUSTAN POR GRUPO ANALIZADO	137
GRAFICO 13. AJUSTE DEL MODELO CONDICIONAL SIN VALORES OUTLIERS COMPARANDO dx2 Y PROBABILIDAD POR GRUPOS	138
GRAFICO 14. AJUSTE DEL MODELO CONDICIONAL SIN VALORES OUTLIERS COMPARANDO DBETA Y PROBABILIDAD POR GRUPOS	139

GRAFICO 15. AJUSTE DEL MODELO CONDICIONAL SIN VALORES OUTLIERS COMPARANDO gdx2 Y PROBABILIDAD POR GRUPOS 140
GRAFICO 16. PRUEBA DE BONDAD DE AJUSTE DEL MODELO NO CONDICIONAL COMPARANDO LOS VALORES dx2 Y LA PROBABILIDAD DE CASO 141
GRAFICO 17. PRUEBA DE BONDAD DE AJUSTE DEL MODELO NO CONDICIONAL COMPARANDO LOS VALORES DEL LEVERAGE (hat) Y LA PROBABILIDAD DE CASO 142
GRAFICO 18. PRUEBA DE BONDAD DE AJUSTE DEL MODELO NO CONDICIONAL COMPARANDO LOS VALORES DEL LEVERAGE (hat) Y LA PROBABILIDAD DE CASO, ELIMINANDO LOS DATOS ANOMALOS 143
GRAFICO 19. DISTRIBUCION DEL PROMEDIO DE LA PAS 147
GRAFICO 20. DISTRIBUCION DEL PROMEDIO DE LA PAD 148
GRAFICO 21. DISTRIBUCION DEL INVERSO DE LOS PROMEDIOS DE LA PAS 149
GRAFICO 22. DISTRIBUCION DEL ln DEL PROMEDIO DE LA PAD 150
GRAFICO 23. DISTRIBUCION DE LA VARIABLE EDAD 151
GRAFICO 24. VALORES RESIDUALES DE LA REGRESION LINEAL PARA PROMEDIO DE PRESION ARTERIAL SISTOLICA Y EL POLIMORFISMO DD 156
GRAFICO 25. VALORES ESTANDAR PARA LA PREDICCION DE LA REGRESION LINEAL PARA PROMEDIO DE PA SISTOLICA Y EL POLIMORFISMO DD. 157

DEDICATORIA

El amor desinteresado de mi familia, en especial de mi esposo Gabriel y de mis tres hijas Clara Juliana, María Alejandra y Daniela, han contribuido de manera generosa a la feliz culminación de este trabajo de investigación, sin su ayuda y apoyo no habría logrado comenzar y menos aún finalizar esta experiencia maravillosa en la que se convirtió esta maestría, en la cual no solo aprendí conocimientos teóricos y manejo de datos, sino también un método eficaz para construir proyectos, desarrollarlos y llevarlos a su culminación aún en contra del tiempo, del cansancio y del sueño.

Gracias familia y gracias a Dios que nos permitió llevar a cabo esta labor investigativa, mi amor y eterno agradecimiento para ti Gabo, July, Ale y Dani, los amo.

Clara Inés

AGRADECIMIENTOS

Para mi querida directora de tesis Myriam Oróstegui, quien con su gran generosidad y dedicación al enseñar, así como con su análisis descarnado de los errores me enseñó a encontrar la verdadera forma en mi trabajo.

Para la Universidad Industrial de Santander mi alma mater que me apoyo.

Para mi querido profesor Luis Carlos que con su pasión, generosidad, dedicación, empeño y afecto me enseño como disfrutar del estudio de la epidemiología.

Para mis profesores Oscar Herrán, Nahir López, Germán Gamarra, María Nelcy Rodríguez; así como para el profesor Leonelo Bautista quien fue un estupendo guía en la construcción de este trabajo.

Para mis queridas compañeras de laboratorio de genética, las bacteriólogas Adriana Gil y Adriana Lucia Pico por el excelente trabajo, hecho sin importar el tiempo que tuvieran que dedicarle; así como para el resto del equipo del laboratorio de genética encabezado por mi compañera y amiga Adriana Castillo, mil y mil gracias.

Para María Lucrecia y Elizabeth mis primeras coequiperas en esta labor mi afecto y agradecimiento.

Para mis compañeros y compañeras de maestría quienes con sus preguntas, interés y apoyo no dejaron que desfalleciera en esos momentos críticos.

Para mi madre, hermanos y otros familiares quienes siempre con sus preguntas e interés renovaron mis fuerzas.

GLOSARIO

DNA: Desoxiribonucleic acid o ácido desoxiribonucleico es el material genético presente en el núcleo celular.

FENOTIPO: conjunto de características físicas y químicas encontradas en un ser vivo, tal como viene determinada por su genotipo y el ambiente dentro del cual se desarrolla

GEN: secuencia de DNA que codifica para partes de una proteína o para una proteína completa.

GENOTIPO: Serie completa de genes contenidos en el material genético presente en un individuo.

HETEROCIGOTO: Individuo que tiene una pareja de alelos diferentes en un determinado locus de un par de cromosomas homólogos.

HOMOCIGOTO: Individuo que posee un par de alelos idénticos en un determinado locus de un par de cromosomas homólogos.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.

RFLP: Fragmentos de restricción polimórfica. Técnica para estudios moleculares de las secuencias del DNA.

RNA: Ribonucleic acid o ácido ribonucleico.

STR: Short tandem repeats. Secuencias polimórficas cortas en tandem.

SNP: Single nucleotid polimorphism, o polimorfismo de secuencia sencilla.

TITLE: GENETIC POLYMORPHISMS OF THE RENNIN ANGIOTENSIN ALDOSTERONE SYSTEM THAT RISK FACTORS BY THE ESSENTIAL BLOOD HYPERTENSION IN A TWO AND THREE STRATUS OF THE POPULATION OF BUCARAMANGA

AUTOR: CLARA INES VARGAS CASTELLANOS

KEY WORDS: essential hypertension, polymorphisms, rennin angiotensin system, ECA, AGT, r1AT, I/D, M235T, T174M, A1166C, case-control, logistic conditional regression.

ABSTRAC

The essential blood hypertensión (EBH), is a public health problem en the world, and Colombia is not foreign to it; among these probable risk to develop this disease, there are the environment factors, the life style, the heritage and the rennin angiotension system polymorphisms.

To establish this risk association in the population of Santander, a sample of the interviewed individuals was taken in the CARMEN survey, in which these was established life style, heritage and the polymorphisms I/D gene of the ECA, M235T and T174M gen of the AGT, A1166C gen of the r1AT was determined; a study case-control of a paired off population by sex and ages was made, and there was analysed if these polymorphisms behave as independent risk factors for EBH.

The prevalence of ebh in this population of 9.8% was established; to detect an exposition relative reason (ERR) of 2.0, with a power of 86% and a reliability of 5%; the sample size that determined was 514 people for a prevalence of the polymorphisms which vary between 5% to 36% in the different populations that have been analysed previously.

The result of the research was to find out that the polymorphism homocigous DD of the gene ECA was acting as an independent risk factor for the EBH, the value of the ERR=1.94 (CI 95%, 1.05, 3.59 p=0.0034), when there was adjusted by race, the family precedent of EBH, sedentarism and obesity; no association with other analyzed

polymorphisms wasn’t found, it wasn’t detected a structure in the population of case and control studied.

RESUMEN

La hipertensión arterial esencial (HTA), es un problema de salud pública en el mundo y Colombia no escapa a este flagelo; dentro de los probables factores de riesgo para desarrollar esta enfermedad se encuentran los factores ambientales, el estilo de vida, la herencia y los polimorfismos del Sistema Renina Angiotensina.

Para establecer esta asociación de riesgo en población santandereana se tomó una muestra de los individuos entrevistados en el programa CARMEN en quienes se estableció estilo de vida, herencia y se genotifipicó el polimorfismo I / D del gen de la ECA, el M235T y el T174M del AGT, y el A1166C del r1AT; se hizo un estudio caso-control de tipo poblacional pareado por sexo y edad, y se analizó si estos polimorfismos se comportaban como factores de riesgo independientes para HTA.

Se estableció la prevalencia de HTA en esta población de 9.8%; para detectar una razón relativa de exposición (RRE) de 2.0, con un poder del 86%, una confiabilidad del 5%, el tamaño de muestra que se determinó fue de 514 personas para una prevalencia de los polimorfismos que varían entre el 13% al 36% en las diferentes poblaciones donde se han analizado previamente.

El resultado de la investigación fue encontrar que el polimorfismo homocigoto DD del gen ECA se comportaba como un factor de riesgo independiente para la HTA, el valor de la RRE=1.94 (I de C 95%, 1.05, 3.59 p=0.0034), cuando se ajustó por la raza, el antecedente familiar de HTA, el sedentarismo y la obesidad; no se encontró asociación con los otros polimorfismos analizados, ni se detectó estructura en la población de casos y controles estudiados.

INTRODUCCION

La Hipertensión Arterial es una enfermedad con una gran incidencia y prevalencia, así como también con alto impacto sobre la morbilidad y mortalidad cardiovascular. Se conoce muy poco sobre los factores de riesgo para desarrollarla y los que se conocen no dan una explicación satisfactoria en un gran porcentaje de sus casos. En los últimos años han tomado gran importancia los factores genéticos y entre ellos los que pertenecen al sistema Renina Angiotensina Aldosterona (SRA) particularmente el polimorfismo DD del gen de la Enzima Convertidora de la Angiotensina (ECA), así como los polimorfismos del gen del Angiotensinogeno (AGT) y los del gen del receptor 1 de la Angiotensina II (r1AT). Los niveles celulares y plasmáticos de la ECA son mayores con el genotipo DD por lo que podría existir asociación entre este polimorfismo y la Hipertensión Arterial esencial. Por el contrario, no se ha establecido esta asociación de los niveles enzimáticos con los polimorfismos de otros genes; sin embargo se ha observado asociación de estos polimorfismos con el fenotipo de hipertensión esencial.

El objetivo principal del estudio fue evaluar la asociación entre los polimorfismos de los genes del sistema Renina Angiotensina Aldosterona, particularmente:

- del gen de la ECA: el genotipo DD
- del gen del Angiotensinogeno: los genotipos M235T y T174M
- de la Angiotensina II: el genotipo A1166C

Se buscó además determinar la prevalencia de los diferentes polimorfismos del gen de la ECA, del AGT y del gen del rAT1 en la población de Bucaramanga y la interacción de estos genes entre si y con otros factores de riesgo para hipertensión arterial.

Se realizó un estudio poblacional de casos y controles pareados por las variables biológicas edad y sexo, tomando como base los sujetos reclutados por el proyecto CARMEN, se definieron los casos de acuerdo a los criterios de inclusión y se incluyeron un total de 257 sujetos, .Para los controles se constituyó un grupo de igual

tamaño al de los casos, escogidos al azar de todos los participantes no casos del estudio original. Se tomaran los datos clínicos de las encuestas ya realizadas, y se hizo la genotipificación a los genes del sistema Renina Angiotensina, el de la ECA, el del AGT y el del rAT1 usando las muestras biológicas previamente obtenidas. El tamaño de la muestra escogido permitió detectar un riesgo relativo igual o mayor a 2.0, con un nivel de confianza del 95% y un poder del 86% para el polimorfismo DD (ECA), M235T (AGT) y A1166C (rAT1).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar si los polimorfismos genéticos de los genes que pertenecen al sistema Renina Angiotensina como el DD del gen de la ECA, el M235T y T174M del gen para el Angiotensinogeno y el A1166C del gen que codifica para el receptor tipo 1 de la Angiotensina II son factores de riesgo independientes para la población santandereana que sufre hipertensión esencial.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Cuantificar la prevalencia de los polimorfismos del gen de la ECA, del gen del AGT y del gen del rAT1, en una muestra de personas con HTAE, identificados en una selección aleatoria de la población de los estratos dos y tres de Bucaramanga (casos); así como en una muestra aleatoria no hipertensa de esta población (controles).

2.2.2 Cuantificar la asociación entre niveles de presión arterial y de los polimorfismos del gen de la ECA (DD), del gen del Angiotensinogeno (M235T, T174M) y del gen del r1AT (A1166C), utilizando un diseño de casos y controles pareado por las variables biológicas sexo y edad.

2.2.3 Evaluar si un posible efecto de los polimorfismos del gen de la ECA (DD), del gen del Angiotensinogeno (M235T, T174M) y del gen del rAT1 (A1166C), interactúa entre si o con otros factores de riesgo para hipertensión arterial (edad, sexo y obesidad), una vez liberado el apareamiento previamente establecido con las variables sexo y edad.

3. MARCO TEORICO

3.1 INTRODUCCION

Los valores de la tensión arterial dentro de una población están sujetos a factores biológicos no modificables tales como los genéticos (marcadores polimórficos de susceptibilidad), la raza, el sexo, y la edad; y a factores modificables como los ambientales, entre los que tenemos los aspectos nutricionales, actividad física, ingesta de alcohol, el cigarrillo, el stress, enfermedades asociadas presentes en los individuos como la diabetes mellitus, la hipercolesterolemia y la obesidad. El componente genético sería responsable hasta en un 40% de la variabilidad interindividual de los valores de la tensión arterial (1); aunque algunos genes candidatos se han asociado con la tensión arterial, el mecanismo de susceptibilidad individual para desarrollar hipertensión esencial permanece sin definirse (2).

Entre los factores que controlan la resistencia vascular periférica y el flujo de salida de la sangre a nivel del corazón tenemos al músculo liso vascular y la pared del vaso sanguíneo, los cuales son controlados a su vez por una serie de metabolitos vasodilatadores producto de las hormonas vasoactivas circulantes del sistema Renina Angiotensina, otros son el mismo proceso de autorregulación y la presencia de sustancias vasoreguladoras producidas por el endotelio o pared del vaso sanguíneo y un sistema de nervios vasomotores reguladores (3).

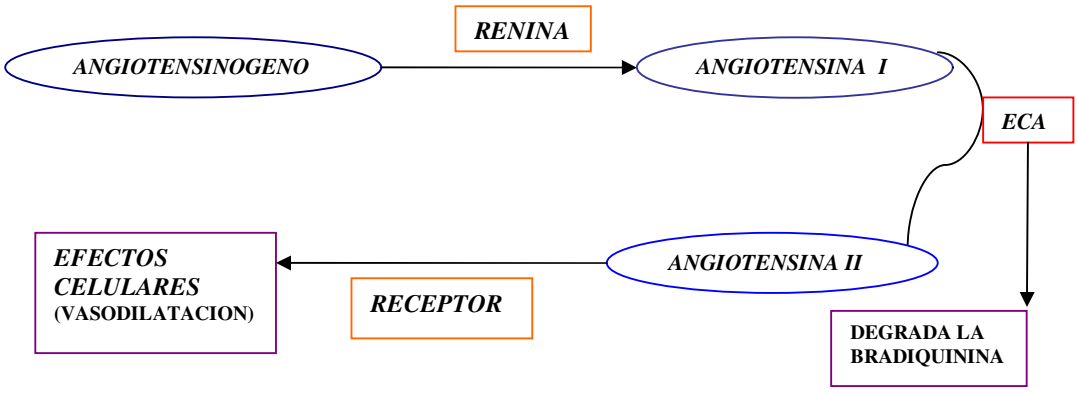
3.2 SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA

El sistema Renina Angiotensina (SRA) regula la presión arterial a través de sus efectos sobre el tono vascular, la hemodinamia renal y el balance de sodio y fluidos corporales. Cuando estos efectos se dan de forma anómala comienza el proceso patológico de la regulación de la presión arterial que lleva a la hipertensión arterial. La función fisiológica normal de la Renina es la de enzima del tipo de la proteasa producida a nivel del Aparato Yuxtaglomerular del glomérulo renal, su función consiste en catalizar la

conversión del Angiotensinogeno del plasma sanguíneo en Angiotensina I; ésta sustancia pasa a la circulación y una enzima producida a nivel de las células endoteliales de los capilares pulmonares, la Enzima Convertidora de la Angiotensina (ECA) la transforma en Angiotensina II, un potente vasoconstrictor que eleva la presión sanguínea e influye indirectamente en el flujo renal ejerciendo el efecto vasoconstrictor a través de su receptor tipo 1 (rAT1); a su vez la ECA degrada una bradiquinina inhibiendo su efecto vasodilatador y también se forma una buena cantidad de Angiotensina II a nivel renal probablemente en las células del Aparato Yuxtaglomerular ejerciendo su efecto sobre las arteriolas eferentes (4).

En el Gráfico 1 se observa la forma como se interrelacionan los componentes del Sistema Renina Angiotensina para producir los cambios de vasodilatación y vasoconstricción sobre los órganos blancos.

GRAFICO 1. Componentes del Sistema Renina Angiotensina



Se conoce que a nivel cardíaco (5) también existe un sistema Renina Angiotensina el cual ha sido demostrado ampliamente mediante técnicas enzimáticas, bioquímicas y de biología molecular. Ocurre igual para la ECA, la cual también es ampliamente conocida a nivel cardíaco desde hace aproximadamente 10 años, donde actúa regulando

el moldeamiento de las paredes ventriculares, y tendría además función vasoconstrictora la que ocurriría a nivel local en las arterias coronarias (4) (5).

3.3 EPIDEMIOLOGIA DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

La hipertensión arterial es una enfermedad que afecta a miles de personas en el mundo, con una gran influencia sobre la morbilidad y mortalidad cardiovascular y cuya patogenia no esta clara.

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la principal causa de muerte tanto en países desarrollados como en la mayoría de los países en vías de desarrollo (6) (7), caso concreto Colombia, Brasil, Trinidad Tobago y Venezuela, donde se constituye en un 20 a 35% de las causas de muerte; este tipo de enfermedades tienen una prevalencia entre el 8 al 40% en la población adulta y la hipertensión arterial representa el 22% de la mortalidad en esta población; sin embargo las prevalencias de este grupo de enfermedades varían mucho entre cada una de las regiones donde se hacen estudios epidemiológicos (8), variaciones que dependen en parte de la forma como se ha medido la hta y posiblemente a reales diferencias en su frecuencia entre poblaciones distintas.

Entre todas las causas de muerte en el mundo a la hipertensión le corresponde entre el 1% y el 4%; esta cifra aumenta hasta un 10% en la enfermedad cerebro vascular indicando posiblemente una falla en el tratamiento de la hipertensión de base que presentaba el paciente (9). En el caso de Colombia la tasa de mortalidad por enfermedad cardiovascular se incrementó de 63.7/100.000 en 1960 a 130.5/100.000 habitantes en 1991 (10), se mantuvo en 129.9 / 100.000 en el 2000 y descendió a 122.1/ 100.000 en el 2003 (91). Dentro de la mortalidad cardiovascular para 1996 en Colombia la hipertensión arterial fue la cuarta causa de muerte (11); para el año 2002 en Santander la tasa de mortalidad por 100.000 habitantes fue de 163.4, midiendo este indicador por nivel de desarrollo de cada departamento, el que presentó la menor tasa fue Vichada con 18.6/100.000 habitantes y el mayor fue Caldas con 176.2/100.000 habitantes (91).

La presión arterial (PA) es un rasgo cuantitativo ampliamente variable (12), en estudios de población la PA tiene una distribución normal que está levemente sesgada a la derecha. Hay una correlación continua y positiva entre la PA y el riesgo de enfermedad cardiovascular (como infarto agudo del miocardio, falla cardiaca y enfermedad cerebro vascular), enfermedad renal y muerte, aún en los rangos de normotensión. Esta correlación es más robusta con la presión sistólica que con la diastólica (13). No hay un nivel específico de PA donde las complicaciones renales o cardíacas ocasionadas por la hipertensión comiencen a ocurrir, así la definición de hipertensión arterial aunque arbitraria es necesaria para la clasificación y el manejo de los pacientes afectados.

El séptimo reporte del Comité Nacional conjunto para la prevención, detección, evaluación y tratamiento de la presión arterial alta, definió y clasificó la hipertensión en adultos como óptima (<120 y <80 mm Hg), normal (<130 y <85 mm Hg), normal alta (130-139 y 85-89 mm Hg), hipertensión estadio 1 (140-159 o 90-99 mm Hg), hipertensión estadio 2 moderado (160-179 o 100-109 mm Hg) e hipertensión estadio 3 (>179 o > 109 mm Hg) (14). Con estas definiciones se estima que en los Estados Unidos 43 millones de personas tienen hipertensión arterial y toman medicamentos antihipertensivos, lo cual es casi un 24% de la población adulta. Esta proporción puede variar dependiendo de la raza, el sexo y la edad: es mayor la prevalencia en adultos negros (32.4%), siendo menor en blancos (23.3%), y en mexicano-americanos (22.6%). En los países industrializados las cifras de presión arterial sistólica aumentan a través de la vida, mientras que los de presión diastólica aumentan a partir de los 55 a 60 años de edad; así el mayor incremento de hipertensión en los adultos mayores se da a expensas de la presión sistólica. La hipertensión es más prevalerte en hombres que en mujeres, después de la menopausia femenina esta diferencia tiende a disminuir hasta casi desaparecer. Otras características tales como el estado socioeconómico y la distribución por patrones geográficos muestras diferencias en la presentación de la hipertensión arterial; en los Estados Unidos la mayor prevalencia de HTA se observa en el sureste. El nivel socioeconómico como indicador del estilo de vida, está inversamente relacionado con la prevalencia, morbilidad y mortalidad de la hipertensión (15).

En Colombia particularmente en Antioquia, en un estudio hecho entre los años 1982-1995, en el cuadro de morbilidad para las enfermedades cardiovasculares, la enfermedad cerebro vascular ocupaba el primer lugar en prevalencia, en segundo lugar estaba la hipertensión arterial y en tercer lugar el infarto agudo del miocardio. En cuanto a la clasificación de la enfermedad hipertensiva por severidad se encontró que el 51% correspondió a la hipertensión leve, 31% a la moderada y 18% a la forma severa. Para 1995 el grupo de hipertensos severos bajó a un 7,5% en pacientes mayores de 45 años de edad (8).

El resultado de la encuesta de autoreporte ENFREC II año 1999 (16), llevado a cabo en población civil no institucionalizada, con edades que oscilaban entre los 18 y los 64 años, residentes en todos los departamentos del país con excepción de las localidades no documentados cartográficamente y las zonas rurales de la Orinoquía y de la Amazonía, población que fue seleccionada mediante muestreo probabilístico, estratificado por conglomerados, mostró que el 12.3% (IC 95%: 11 a 13.6%), de la población refirió presión arterial alta, entre los que reportaban el antecedente de tomarse la presión arterial. Esta información fue mayor en las mujeres en un 13% (IC 95%: 11.4 a 14.7%) que en los hombres con un 11.5% (IC 95%: 10 a 13.1%), estas diferencias sin embargo no fueron estadísticamente significativas. La relación de hipertensión es directamente proporcional con la edad en hombres y en mujeres, e inversamente proporcional con el nivel de escolaridad. En la región Oriental se registró el mayor número de población adulta informada de presión arterial alta con un 15.3% y en la Atlántica y Bogotá las menores cifras con 11.6% y 11.1% respectivamente; así también el 32.2% de la población que refirió hipertensión arterial estaban consumiendo medicamentos antihipertensivos. La prevalencia de hipertensión fue mayor entre los fumadores con un 17.6%; y de 13.3%, en el grupo de los que no practicaban ejercicio; las personas que se percibían con sobrepeso 17.1% refirió HTA; finalmente la hipertensión fue mayor en el grupo con glicemia alta en un 22%, siendo mayor en el grupo de mujeres 25.3%, (16).

El estudio de factores de riesgo asociado a la prevalencia de hipertensión arterial en los derechohabientes de Ecopetrol, hecho en Bucaramanga en 1996, por Bautista LE, y cols (17), mostró que la prevalencia de hipertensión arterial, ajustada por edad y sexo fue del 22.9% (IC 95%: 18.6 a 27.3). Las medias de presión sistólica y diastólica fueron significativamente mayores en hombres al compararlo con las de las mujeres. La presión sistólica ajustada aumentó significativamente con la edad, más en hombres que en mujeres, mientras la presión diastólica no cambió significativamente con la edad. En cuanto al índice de masa corporal se evidenció que por cada aumento de un kg/m^2 la presión sistólica y diastólica aumentó en 0.76 y 0.69 mm Hg, respectivamente. Los participantes del estrato socioeconómico bajo tuvieron una presión sistólica 6.8 y una diastólica 9.8 mm Hg mayor que los del estrato alto. La prevalencia ajustada de hipertensión arterial aumentó con la edad siendo mayor en los individuos de 50 o más años de edad que en los de 20 a 30 años. El sexo no tuvo efecto sobre la prevalencia la hipertensión (p=0.795). En esta misma población se evaluó la Proteína C reactiva como factor de riesgo independiente encontrándose en el cuantil más alto para el valor sérico de la PCR al 58.7% de los hipertensos comparado con el cuantil más bajo que presentó al 34.7% de los individuos analizados (92).

En la evaluación de los factores de riesgo para las enfermedades cardiovasculares en un grupo de individuos sanos trabajadores del área de la salud se encontró que la prevalencia del síndrome metabólico fue del 13.4% con mayor presentación en el grupo de hombres 19.7% (93). Otros factores de riesgo involucrados en el desarrollo de la HTAE y su efecto el cual ha sido analizado por diferentes investigadores en grupos humanos tan diversos como orientales, caucásicos y negros se encuentran relacionados en la tabla Nº 1 anexo B.

En conclusión son factores de riesgo reconocidos para el desarrollo de la HTAE, la raza (negra), la herencia materna o paterna, la obesidad, la hiperlipemia, el estrato socioeconómico bajo y el polimorfismo DD del gen de la ECA (20, 21).

3.4 GENETICA DEL SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA (SRA)

El papel central que juega el SRA en la homeostasis del sistema cardiovascular y del renal, justifica los análisis moleculares hechos hasta el momento en la búsqueda de los genes responsables de las proteínas de este sistema, y que pudieran ser factores causales no modificables del desarrollo de la HTAE (1). La atención se ha centrado sobre el estudio de polimorfismos relacionados con modificaciones funcionales de las proteínas que codifican; un ejemplo es el del gen del Angiotensinogeno (AGT), descrito desde 1979 por Walker quien encontró entre el grupo de pacientes una relación directa de aumento del AGT en plasma y la presencia de HTAE en ellos (18), así el alelo T del polimorfismo M235T se ha asociado con valores altos en sangre del AGT y el alelo A del polimorfismo A-6G de la región promotora de este gen con aumento de su tasa de trascripción (19). El polimorfismo D/I del gen de la Enzima Convertidora de la Angiotensina , la ECA, es el que se ha visto asociado en un gran número de estudios como factor de riesgo independiente de la hipertensión (20) (21), el alelo D del polimorfismo inserción/deleción (I/D) del gen de la ECA se ha relacionado con mayores concentraciones circulantes de la enzima responsable de la conversión de la Angiotensina (22), mientras que el alelo C del polimorfismo A1166C del gen del receptor tipo 1 para la Angiotensina II (rAT1) se ha relacionado con mayores respuestas vasoconstrictoras a la infusión de Angiotensina (23). Sin embargo, los estudios que han analizados el papel de estos polimorfismos en el desarrollo de la HTAE han dado resultados desiguales (24) y a veces totalmente opuestos; aunque los alelos T y M del gen del AGT (25, 26) y el C del rAT1 (27), parecen relacionarse con el riesgo de desarrollar HTAE.

Por otra parte existen varios fenotipos patológicos caracterizados por aumento en los niveles de tensión arterial, los cuales se han encontrado asociados a diferentes genes que siguen un patrón de herencia mendeliana; entre estos tenemos el aldosteronismo remediable con glucocorticoides de herencia autosómica dominante, el síndrome de aparente exceso de mineralocorticoides de herencia autosómica recesiva y el síndrome de Liddle de herencia autosómica dominante (18), los hallazgos moleculares que han

permitido caracterizar genotipicamente estas entidades han sido efectuado por análisis que se han hechos en familias de pacientes afectados, y que además de hermanos son gemelos monocigóticos y dicigóticos (18).

En los casos anteriores el fenotipo de HTA es debido a la mutación en un solo gen; sin embargo en la mayoría de los hipertensos esenciales no se logra identificar un defecto genético específico, inclusive no se logra detectar un patrón de herencia mendeliano, por esta razón la hipertensión esencial se considera una entidad poligénica compleja, con un componente de herencia multifactorial.

Vale la pena aclarar que se puede ser hipertenso por un defecto genético, pero no siempre que haya hipertensión existe una mutación en el material genético, como ocurre en los pacientes con arteriosclerosis, con defectos renales primarios o con defectos del sistema autonómico, entre otros (18).

Las investigaciones recientes a nivel molecular y epidemiológico del SRA en pacientes y sus familiares afectados de HTAE, son las que han detectado los genes candidatos y sus variantes polimórficas involucradas en la patogénesis de la hipertensión esencial.

3.4.1 Genética de la ECA. La Enzima Convertidora de Angiotensina o ECA, es una dipeptidilcarboxipeptidasa I o kininasa II, una metalopeptidasa que convierte a la Angiotensina I un decapéptido inactivo en Angiotensina II, un octapéptido con una poderosa acción vasoconstrictora que estimula la producción de Aldosterona y la retención de sodio y agua, e induce o modula el crecimiento de las células musculares lisas del vaso sanguíneo y de los cardiomiocitos (28-31); además, la ECA corta dos dipéptidos del terminal carboxilo de la bradicinina, suprimiendo sus efectos biológicos (32). La bradicinina es un potente vasodilatador, inhibidor de la proliferación de células musculares lisas arteriolares y es un antiagregante plaquetario que puede actuar directamente o por medio de la liberación de factores endoteliales, particularmente el óxido nítrico y la prostacilina.

Por medio del estímulo a la producción de Angiotensina II y de la degradación de la bradicinina, el aumento de la ECA contribuye a un estado crónico de incremento de la resistencia vascular periférica y de la retención de agua y sodio posiblemente asociado a un aumento de la presión arterial (32).

El gen de la ECA está ubicado en el cromosoma 17q23 y está caracterizado por un polimorfismo basado en la presencia (I: "insertion") o ausencia (D: "deletion") de 287 pares de bases de la secuencia repetida Alu en el intron 16, esto da como resultado dos genotipos homocigotos: DD e II y uno heterocigoto: ID (29). Los niveles celulares y plasmáticos de la ECA son mayores en personas homocigotas para el alelo DD que en las homocigotas para el alelo II, y son intermedios en personas heterocigotas (ID) (21,30).

El gen de la ECA ha sido vinculado a la hipertensión en ratas con hipertensión espontánea y se ha observado que ratones genéticamente manipulados, heterocigotos para el polimorfismo II tienen niveles de presión arterial 15 a 20 mm Hg por debajo de lo normal (32).

En los últimos años se han publicado numerosos reportes de la asociación entre el polimorfismo del gen de la ECA y la hipertensión esencial; los resultados de estos estudios han sido contradictorios; en aras de explicar los resultados contradictorios del efecto del gen de la ECA, se ha postulado que el papel del polimorfismo del gen de la ECA puede depender de forma importante de la población estudiada y de su constitución genética (21, 33, 34). Más aún, otros factores genéticos o ambientales podrían encubrir el efecto del gen de la ECA en la población general, sin embargo podrían haber grupos en los cuales el riesgo asociado al polimorfismo DD fuera mayor y clínicamente importante.

3.4.2 Genética del Angiotensinogeno. El Angiotensinogeno (AGT) estructuralmente es una proteína globular de peso molecular de 55-65 kd, es el principal sustrato para la Renina y el último precursor de la Angiotensina II, es cortado por la Renina en la región N-terminal a nivel de la unión leucina-valina, resultando la Angiotensina I. La mayoría de la proteína es producida en el hígado y en el plasma se encuentra su principal reservorio; los niveles plasmáticos sirven como indicador importante de la actividad del SRAA.

El análisis del DNA humano muestra que hay un solo gen del Angiotensinogeno el cual es considerado una pieza clave en el control de la presión arterial, está ubicado en el cromosoma 1 banda q42-43, compuesto por cinco exones y cuatro intrones y cuenta aproximadamente con 13 kb en su secuencia. Un reciente estudio molecular llevado a cabo entre hermanos demostró dos polimorfismos a nivel del nucleótido 704 en el exon 2 del gen del Angiotensinogeno , esto son el M235T y el T174M, producidos por una mutación de tipo transicional del nucleótido timina por la citosina, responsable este cambio a su vez, de las variaciones en los aminoácidos metionina-treonina y treonina-metionina; esta mutación no altera el sitio de restricción de la enzima Tth1111 (GACNNNGTC), es decir la secuencia de nucleótidos sobre la cual corta la enzima se sigue conservando, pero si produce un nuevo sitio de restricción intermedio. Los dos fragmentos que se obtienen al corte enzimático son de 163 pares de bases y de 140 pares de bases (35).

En el trabajo de Caulfield (35), llevado a cabo en un grupo de 63 familias con dos o más miembros hipertensos, correspondiendo los casos a 143 personas cuya enfermedad comenzó antes de los 60 años de edad, todos de origen europeo, en ellos se encontró una asociación positiva y significativa entre los dos polimorfismos que involucran a la metionina y la treonina presentes en el gen del Angiotensinogeno y la hipertensión esencial, con valores de $t=5.0$ $p<0.001$, un $ji^2=53.3$ $p<0.001$; otro trabajo al respecto lo constituye el de Ogihara en Japón (36), con una muestra de 5000 pacientes entre casos y controles donde no se encontró asociación significativa entre estos parámetros.

Estos hallazgos no conclusivos llevan a plantear hipótesis sobre el bagaje genético de las poblaciones el que estaría afectando la presentación de estos polimorfismos en los individuos analizados así como un efecto no despreciable del ambiente y de otros factores de riesgo que podrían exhibir estas personas.

3.4.3 Genética del receptor tipo 1 de la Angiotensina II. Los receptores de la Angiotensina II han sido definidos por análisis bioquímico, farmacológico y fisiológico; han mostrado diferencias en su capacidad de estimular la liberación de la Aldosterona, en la elevación de la PA y en la susceptibilidad de unirse al agonista ditiotreitol; de acuerdo a las recomendaciones de la Asociación Americana del Corazón se han clasificado en dos subtipos el 1 y el 2 (37).

Los receptores de tipo 1 también conocidos como AII-1, AII-B y AII alfa son aquellos selectivamente bloqueados por los bifenilimidazoles tales como el compuesto Losartan (DuP735); mientras que los de tipo 2 anteriormente llamados AII-2, AII-A y AII beta, son bloqueados por los tetraimidazopiridinas tipificados por el PD123177. Los receptores de tipo 1 son más sensibles a responder cuando se unen a la Angiotensina II que a la I; positivamente se acoplan a la fosfolipasa C y negativamente pueden hacerlo con la adenilato ciclasa. El efector al cual los receptores de tipo 2 se acoplan no es claro aún, al parecer cumplen una función modulativa en el contenido intracelular del GMPc, según se ha observado en los cultivos de neuronas; responden de manera similar cuando se unen a la Angiotensina II y a la I (38).

Los receptores de tipo 1 han mostrado que median la contracción del músculo liso, la secreción de la Aldosterona, la respuesta vasopresora y la taquicardia; mientras que los de tipo 2 inducen a la ingesta de líquidos y a la hipertensión en la estenosis de la arteria renal (39), se desconocen otros aspectos fisiológicos de los receptores de tipo 2; se ha observado que se encuentran abundantemente en el tejido fetal y en el tejido neonatal de las ratas lo cual sugiere una función durante el desarrollo fetal (40).

Los dos tipos de receptores de la hormona Angiotensina II ya están clonados y secuenciados; el locus del receptor tipo 1 de la Angiotensina II (r1AT) está ubicado en el cromosoma 3; a nivel del DNA se ha observado en el marco de lectura un exon y se ha encontrado que codifica para una proteína de 359 aminoácidos que es idéntica en un 95% con las secuencias bovinas y con las de la rata; al parecer la Angiotensina II regula la expresión de su propio receptor. El polimorfismo del receptor T1 se presenta por una mutación del tipo transversión, donde el nucleótido adenina es cambiado por el de la citosina, el evento se da a nivel de la región 3' del gen, la cual no se traduce en la proteína, a 1166 pares de bases (A1166C), este polimorfismo no es funcional ni se conoce si la respuesta a la acción de la Angiotensina II cambia dependiendo del polimorfismo (41).

El polimorfismo A1166C ha sido ampliamente estudiado en modelos animales como en las ratas TGR (α MHC-h AT1), que tienen sobre-expresión del mismo a nivel del tejido cardíaco, sin por ello presentar un fenotipo patológico de enfermedad cardiovascular como es la hipertensión; pero si se observa que la presencia de una sobrecarga ventricular favorece el crecimiento hipertrófico del ventrículo (41).

Davies (38) describió un locus polimórfico de secuencia corta repetida en tandem o STR de citosina-adenina (CA)n, que el grupo de medicina molecular de la Universidad de Texas (42) en un estudio con 1488 personas procedentes de 583 familias, con una edad promedio de 14.8 años, encontró que no contribuía a la variación de la presión arterial ni tampoco con el riesgo asociado a la hipertensión arterial entre los individuos casos, como previamente había sido descrito por Bonnardeaux (43). El polimorfismo del receptor r1AT por sí mismo no causa enfermedad pero puede contribuir al proceso patológico iniciado por otros mecanismos tales como el aumento de la actividad o de la carga de Renina que activa al SRA (23); además de la asociación entre el polimorfismo del receptor T1 y la hipertensión arterial, también se ha encontrado vinculado con el endurecimiento de la aorta y a la enfermedad coronaria (44).

3.5 EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL ESENCIAL

Se han hecho diversos estudios sobre los genes que hacen parte del SRA y los polimorfismos asociados a enfermedad cardiovascular, pocos han incluido todos los marcadores involucrados en el fenotipo patológico; sin embargo a nivel individual se han encontrado datos que cuestionan el papel de estos genotipos polimórficos como factores predisponentes a la enfermedad del aparato cardiovascular.

Los estudios individuales para cada gen que tipifica una proteína que es parte del SRAA se han hecho en un número considerable, entre estos tenemos el que evaluó cuatro polimorfismos diferentes del r1AT en población alemana en muestra aleatoria estratificada por sexo y edad de 1010 individuos de ambos sexos con edades entre los 52-65 años, analizando los resultados por el método de regresión lineal múltiple, y por análisis multivariado, no se encontró asociación entre estos polimorfismos que flanquean la región promotora del receptor y la hipertensión arterial (44). En gemelos finlandeses hipertensos se analizó el polimorfismo del r1AT, este grupo de casos los comparó contra sus hermanos sanos, el tamaño de muestra fue 329 individuos de 142 familias; los individuos se clasificaron en grupos de hipertensos esenciales y en normotensos, en el primer grupo se encontró asociación entre el locus del r1AT e hipertensión arterial, el análisis fue hecho por ligamiento con un lod score de 2.9 (45).

La variabilidad intersujetos y poblacional en la presión arterial ha llevado a los investigadores a realizar monitoreos de la presión sanguínea por 24 horas, la revolución que se ha dado en la biología molecular ha llevado a escrutinios de factores genéticos que contribuyen a explicar las diferencias interindividuo y poblacional, particularmente en grupo de genes que hacen parte del sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona. Se ha encontrado de forma no consistente asociación de estos polimorfismos con el control de la tensión arterial y con el desarrollo de la hipertensión, estas asociaciones tienden a variar entre razas, etnias, géneros y asentamientos ecológicos (46, 47, 48).

3.5.1 Efecto de la raza. Para analizar el efecto de la raza sobre la hipertensión arterial esencial, observando también la relación que tiene con el género, la edad, ocupación y estilo de vida (fumar, ejercicio y dieta), se cuenta con los estudios hechos en población oriental con resultados diferentes en dos investigaciones, una en población china y otra en japoneses. En los chinos con una muestra de 410 individuos, clasificados en hipertensos y normotensos, no se encontraron diferencias significativas en frecuencias génicas y alélicas entre los dos grupos. Los investigadores concluyen que es poco probable el efecto de estos tres polimorfismos sobre la patogénesis de la hipertensión arterial (47). En pacientes japoneses se encontró que el polimorfismos DD del gen de la ECA sí era un factor de riesgo para el inicio temprano de la hipertensión esencial (48).

Entre los caucásicos se ha estudiado a la población española con una muestra de 150 pacientes, clasificados en casos y controles y no se encontraron asociaciones significativas entre la presencia de los polimorfismos de la ECA y dos polimorfismos del Angiotensinogeno el M235T y el T174M (49); una investigación entre alemanes berlineses en un diseño cross sectional, con un tamaño de muestra de 343 personas caucásicas, clasificadas como 115 hipertensas y las restantes normotensas, no encontró asociación entre el polimorfismo del gen de la ECA y el M235T del Angiotensinogeno y la presión arterial tomada durante 24 horas, así como con una mejor respuesta a las drogas antihipertensivas que bloquean a la Enzima Convertidora de Angiotensina (50).

Un nuevo estudio con diseño de casos y controles hecho en población española, que incluyó 185 hipertensos y 350 pacientes sanos como controles, con un 51% de mujeres, emparejado por edad y sexo, encontró que no había diferencias entre la presentación de los polimorfismos de la ECA, el M235T del AGT y el r1AT, en los hipertensos y los normotensos (1); al contrario de los hallazgos del estudio hecho en 304 pacientes nativos de la Isla Gran Canaria, que evaluó diversos genes cardíacos; entre sus conclusiones se encuentra al alelo M235T asociado con hipertensión pero no al alelo DD, el valor de OR para el alelo 235T homocigoto y para el alelo M235 homocigoto fue

de 1.7 (1.1-2.6) y de 0.54 (0.36-0.82), respectivamente, este estudio muestra la variación para estos dos polimorfismos del Angiotensinogeno pero no para el de la ECA (50).
En otros estudios hechos en población americana con hipertensión arterial sensible a la sal, con una muestra de 121 casos y 125 controles se encontró respuesta diferencial en el descenso de la presión arterial al recibir tratamiento con inhibidores de la ECA, el grupo con menor caída en mm de Hg fue el que se encontró asociado al polimorfismo DD (33), concluyeron los investigadores que estos genotipos D/I no tienen influencian sobre la presión arterial y su regulación; sin embargo la investigación de Morris mostró que el polimorfismo DD de la ECA está asociado como factor de riesgo independiente para la hipertensión con un OR: 6.3 en pacientes mayores de 60 años (51).

El estudio comparativo entre caucásicos y afrocaribeños, con un total de 320 individuos 210 blancos y 110 negros hombres y mujeres hipertensos sensibles a la sal analizaron el polimorfismos D/I de la ECA y los niveles sanguíneos de la Angiotensina para correlacionar con la presentación de hipertensión, los investigadores encontraron que la distribución de los polimorfismos de la ECA fue muy similar entre los pacientes de origen caucásico al contrario de lo observado en los afrocaribeños donde el alelo DD fue mayor con un ji cuadrado de 2 y p=0.04. Similares fueron los valores encontrados al comparar con el fenotipo de hipertensión en los pacientes negros, en los cuales el valor de ji fue de 2 con una p=0.03, en ellos los niveles hormonales no mostraron asociaciones significativas; propusieron los investigadores diferencias raciales en las asociaciones entre el genotipo de la ECA y la hipertensión arterial (52).

Estudios hechos en población negra afroamericana, nigeriana y jamaiquina sobre el alelo D de la ECA concluyeron que éste se presentaba en una mayor proporción al compararlo contra los valores encontrados en población caucásica y japonesa; mientras que al alelo 235T del gen del AGT se encontró duplicados sus valores en los europeos y asiáticos (53).

Dentro del rigor metodológico se debe detectar si las frecuencias genotípicas se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) (55), y si la población analizada

cumple el principio de ser no estructurada, aspecto que no se revisó en casi todas las publicaciones analizadas, y que puede invalidar los resultados de una investigación señalando asociaciones espúreas de polimorfismos génicos con enfermedades poligénicas en subpoblaciones donde el efecto de la homocigosidad es evidente (55, 75, 77, 79).

De lo ya expuesto se puede concluir que a pesar de que el efecto de los polimorfismos del gen de la ECA, del AGT y el del r1AT, puede ser diferente en distintas poblaciones, no existe ningún estudio publicado de la asociación de estos polimorfismos con la hipertensión esencial en la población latinoamericana.

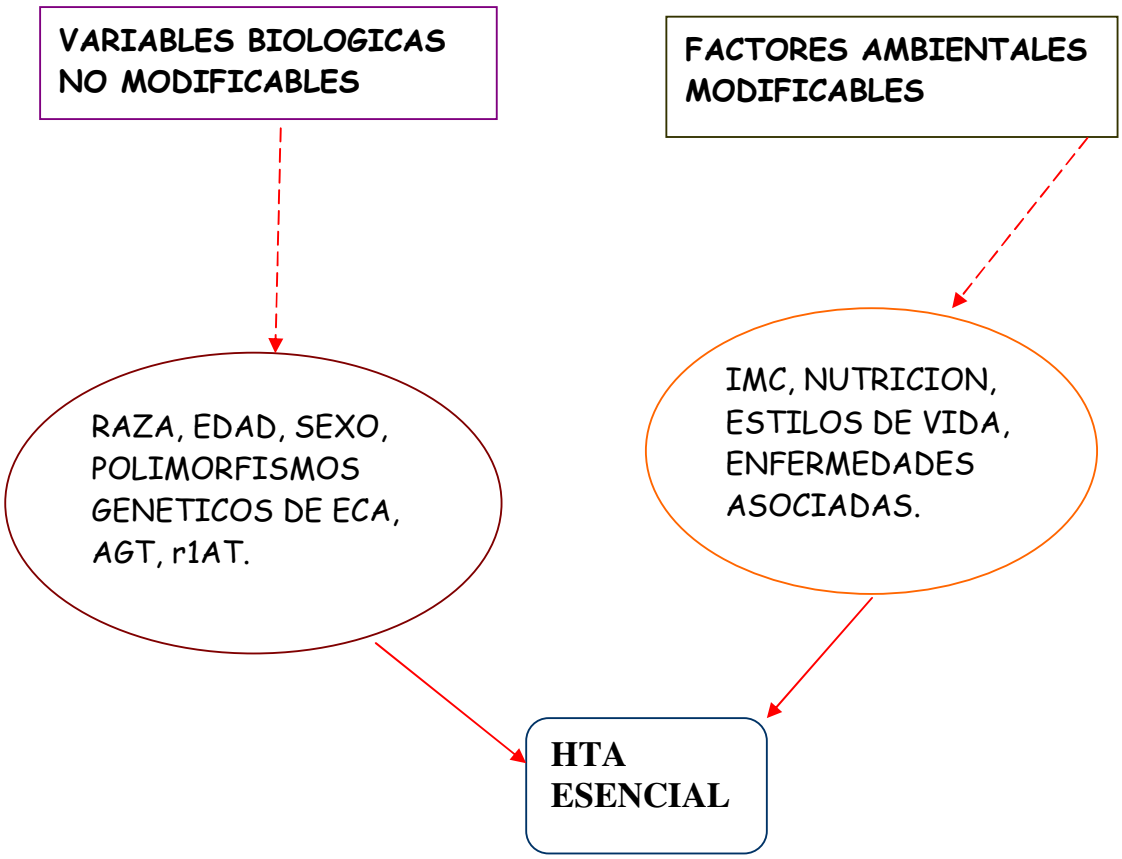
Recientemente el grupo del observatorio cardiovascular del Centro de Investigaciones Epidemiológicas (CIE) ha estudiado el efecto del polimorfismo DD del gen de la ECA y se ha encontrado que aumenta en 2.0 veces el riesgo de infarto agudo del miocardio en la población de Bucaramanga portadora de esta variante polimórfica (54).

En consecuencia con lo anterior, se propone llevar a cabo un estudio de casos y controles de tipo poblacional, en una muestra aleatoria de la población de estrato dos y tres de Bucaramanga, con la finalidad de determinar si la presencia de estos polimorfismos del gen de la ECA, del AGT y del r1AT, o la interacción de estos polimorfismos entre sí o con otros factores de riesgo, se asocian a hipertensión arterial.

La gráfica siguiente resumen en forma global los factores que de acuerdo con la revisión de la literatura expuesta anteriormente son las variables de riesgo para desarrollar hta, agrupados en dos grandes áreas:

* Factores biológicos no modificables
* Factores ambientales modificables

Gráfica 2. Modelo conceptual del marco teórico.



3.5.2 Principio de Hardy-Weinberg. En organismos diploides que presentan reproducción sexual, con generaciones que no se sobrelapan, el gen analizado tiene dos alelos, con frecuencias alélicas iguales en hombres y en mujeres; los cruces aleatorios en la población, con un tamaño suficientemente grande en teoría infinito, migración casi nula, mutación tan escasa que puede ignorarse y la selección natural que no afecta los alelos del gen estudiado, cumplen con el Principio de Hardy-Weinberg (55) o Equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW); este modelo matemático que relaciona las frecuencias alélicas y las genotipicas esta dado por:

$AA:p^2$	$Aa: 2pq$	$aa:q^2$
$A=p$		$a=q$

$$\boxed{(p+q)^2=1}$$

La población en EHW (63) debe cumplir los siguientes supuestos:

1. Las frecuencias alélicas no deben cambiar de una generación a otra debido a las fuerzas sistemáticas evolutivas: la migración, la mutación y la selección natural.
2. La población analizada debe tener un tamaño suficientemente grande para que las frecuencias genotípicas no estén sujetas a cambios por errores del muestreo. La población debe tener un tamaño mayor o igual a 500 individuos.
3. En poblaciones pequeñas los errores de muestreo generan cambios en las frecuencias genotípicas, este es llamado “deriva genética aleatoria”.

El modelo matemático propuesto por el inglés G. H. Hardy y el alemán W. Weinberg permite predecir las frecuencias teóricas de los genotipos del gen que se analiza; para evaluar si las proporciones esperadas no son diferentes de las observadas se utiliza un test estadístico como la prueba de homogeneidad o el test de chi cuadrado (X^2), este test estadístico no es muy sensible para detectar este tipo de desviaciones, sin embargo es el que convencionalmente se utiliza en genética de poblaciones (55).

3.5.3 Coeficiente de Endogamia o Estadistico Fst. Sin duda alguna el método que ha sido más usado para medir estructura, desde su introducción en el análisis poblacional, es el estimador Fst, y fue propuesto por Sewall Wright en 1951. Este estimador alélico es comúnmente escrito como Fst = Var (p_k) / p (1 - p), donde p_k es la frecuencia de un alelo en la población k y p es la frecuencia total de los alelos en todas las subpoblaciones y ha sido usado tradicionalmente para medir diferencias (57), y resumir convenientemente la estructura presente en la población (56). La subdivisión en la población, supone un efecto como el producido por endogamia, haciendo referencia al exceso de homocigosidad y por esto es medido por el decremento en la proporción de genotipos heterocigotos (55), en estos términos resulta más fácil comprender el nombre del estimador Fst, mejor conocido como Coeficiente de endogamia, el cual puede ser calculado utilizando marcadores genotípicos polimórficos.

A pesar que el Coeficiente de Endogamia es un estimador bastante robusto, desde su aparición ha presentado bastante discusión por aspectos referentes a su definición (59, 60), al tamaño de muestra que debe utilizar y a la interpretación de sus resultados (58); no obstante, en años recientes, se han aclarado dudas acerca del uso de este estimador mediante pruebas de simulación, y se sabe ahora que en una población es recomendable trabajar con un tamaño de muestra menor o igual a 1000 individuos, para no tener un efecto significativo de la mutación, ni de la migración en la misma (60); y que respecto a la interpretación de resultados, la siguiente tabla puede ayudar a clasificar los mismos:

Tabla 2. Interpretación de los valores para Fst

Valor de Fst	Cantidad de estructura	Interpretación
1	Máxima	Se presenta la máxima estructura o diferenciación de la población y fijación de alelos
de 0 a 0.25	Muy alta	Se presenta muy alta diferenciación
de 0 a 0.15	Moderada	Se presenta moderada diferenciación
de 0 a 0.005	Poca	Se presenta poca diferenciación de la población

Con estos valores, es posible clasificar la cantidad de estructura presente en la población bajo estudio, para la cual es recomendable obtener valores menores o iguales a 0.005, para que los resultados de asociación sean altamente confiables; con valores de Fst mayores o iguales a 0.25, en donde se presenta muy alta diferenciación en la población, es probable que se obtengan falsas asociaciones. En estos casos, se recomienda realizar nuevos estudios de asociación, en donde se implementen métodos basados en familias con los cuales se elimina el efecto de mezcla o estructura en la población; aunque de todas formas antes de postular la asociación de un gen a una enfermedad, debe verificarse la reproducibilidad de resultados en otras poblaciones y con otros métodos (61).

El tema de la estructura en la población ha tenido desde hace varios años un abordaje amplio, el cual ha sido de gran aplicación en estudios de mapeo asociativo que implementen el diseño de casos y controles y que utiliza individuos no emparentados. Aunque en la actualidad, se están desarrollando métodos más exactos para calcular la diferenciación de poblaciones, el coeficiente de endogamia sigue siendo un método fácil de usar y de alta confiabilidad, que permite detectar mezcla en poblaciones en las cuales se haya encontrado asociación de ciertos genes con el desarrollo de enfermedades.

4. PREGUNTA E HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

4.1 PREGUNTA

¿Son los polimorfismos de la ECA, del Angiotensinogeno y del receptor tipo 1 de la Angiotensina II, genes que pertenecen al sistema Renina Angiotensina Aldosterona, factores de riesgo de la hipertensión esencial en la población colombiana?

4.2 HIPOTESIS

Los polimorfismos de la ECA, del Angiotensinogeno y del receptor tipo 1 de la Angiotensina II, genes que pertenecen al sistema Renina Angiotensina Aldosterona, son factores de riesgo independientes para la población colombiana que sufre de hipertensión esencial.

5. METODOLOGÍA

5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Se hizo un estudio de casos y controles de tipo poblacional pareado por sexo y edad anidado en una encuesta transversal.

5.2 POBLACIÓN

Población adulta de Bucaramanga con edades entre los 15 y los 64 años de edad, no institucionalizada, que residían en el área urbana y que pertenecían a los estratos 2 y 3, que participaron en una encuesta de factores de riesgo para enfermedades crónicas (62) (Encuesta Basal Programa CARMEN). En el estudio original participaron 2.996 personas escogidas por medio de un muestreo aleatorio estratificado de barrios de estrato 2 y 3. El cálculo original para la muestra se baso en un diseño de tipo ensayo comunitario, con un corte transversal anidado, tomando como referentes la prevalencia para citología y para tabaquismo en Bucaramanga, con un delta de 0.10, un alfa de 0.05 y un poder de 80%; de este cálculo inicial dio un tamaño de muestra de aproximadamente 40 barrios y de cada barrio un total de 60 personas. El estudio se hizo mediante una encuesta verbal, un examen físico para las medidas antropométricas y una muestra de sangre para las mediciones bioquímicas. La primera parte fue completada por 2996 individuos, de los cuales 2436 individuos (81.4%) cumplieron con todas las mediciones (62).

De acuerdo a los resultados del estudio original (62), se obtuvieron cerca de 286 personas con hipertensión arterial, definidos de acuerdo a los criterios del séptimo reporte del Comité Conjunto Nacional sobre la Prevención, Detección y Tratamiento de la Presión Arterial Alta (14). Una muestra de tamaño similar se escogió al azar de la población de los no casos que sirvió como grupo control; se aparearon los casos y los controles por edad y por sexo, para el apareamiento por edad se definió un rango de 3 años.

5.2.1 Definición de casos. Pacientes adultos de ambos sexos con edades comprendidas entre los 15 y los 64 años de edad, que presentaron niveles de tensión arterial que los clasificó como hipertensos de acuerdo a las recomendaciones del séptimo reporte del Comité Conjunto Nacional Sobre la Prevención, Detección y Tratamiento de la Presión Arterial Alta (14). Los niveles de presión arterial sistólica (PAS) y diastólica (PAD) en reposo, medidos durante la encuesta original (63) fueron usados para estimar la media poblacional de ambas variables y para calcular la prevalencia de hipertensión arterial. Durante el análisis los grupos con diferentes niveles de tensión arterial se identificaron de acuerdo a las recomendaciones señaladas anteriormente. Específicamente las personas que no estaban tomando medicamentos antihipertensivos fueron clasificadas en sujetos con presión óptima (PAS<120 y PAD<80); con presión normal (PAS<130 y PAD<85); con presión normal alta (PAS: 130-139 o PAD: 85-89); hipertensos estadio 1 (PAS: 140-159 o PAD: 90-99); hipertensos estadio 2 (PAS: 160-179 o PAD: 100-109); e hipertensos estadio 3 (PAS ≥180 o PAD≥110). Las personas que estaban tomando antihipertensivos fueron clasificadas simplemente como hipertensas si en alguna ocasión un médico les había informado que sufrían de presión arterial alta; una persona que había sido informada en alguna ocasión por un médico que era hipertensa, pero que no estaban recibiendo ningún tipo de tratamiento antihipertensivo (farmacológico o no) fue clasificada de acuerdo a su nivel de presión arterial.

5.2.2 Definición de controles. Se escogió una muestra al azar de todos los participantes en el estudio original (62) independientemente de si eran o no hipertensos. Esta aproximación permitió una estimación correcta, no sesgada, del efecto del polimorfismo del gen de la ECA, del gen del AGT y del gen del r1AT, sobre la hipertensión. En estudios de casos y controles no poblacionales se excluyen todos los casos de la muestra de los controles. Cuando la enfermedad estudiada no es rara, este procedimiento da lugar a una sobrestimación significativa del efecto de la exposición debido a la exclusión de un grupo con mayor probabilidad de exposición. Como la prevalencia de hipertensión fue de 9.8%, el uso de una muestra de controles sin hipertensión resultaría en un efecto del polimorfismo mayor que el real. Este problema

se evitó en este estudio de casos y controles poblacionales como el que se ejecutó, ya que los casos se comparan con una muestra de la población que dio origen a los casos; esto permitió estimar correctamente el efecto de la exposición (65).

5.3 MEDIDA DE LA EXPOSICIÓN

La exposición a los polimorfismos del SRA se detectó a través de técnicas de biología molecular que permitieron tipificar a cada una de las personas seleccionadas como caso o como control. En la entrevista realizada se obtuvo información sobre antecedentes de hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, diabetes, o hipertensión arterial; uso actual de hipocolesterolemiantes, hipoglicemiantes y antihipertensivos; antecedente de hipertensión arterial, ECV e IAM en familiares de primer grado; tabaquismo y sedentarismo (63, 66). En el examen físico se tomó la presión arterial, el peso, la talla, el perímetro de la cintura y el perímetro de la cadera del participante (64, 66). La muestra de sangre fue usada para determinar niveles de glucemia, colesterol total, HDL, LDL y triglicéridos y para identificar los polimorfismos de los genes de la ECA, del AGT y del r1AT (63). La descripción de las variables que se utilizaron en el análisis aparecen en el anexo 3 tabla 3.

5.4 TAMAÑO DE LA MUESTRA

El tamaño de la muestra fue calculado para un estudio de casos y controles no pareados, tomando los datos que se tienen en nuestra población sobre el polimorfismo DD del gen de la ECA, y la asociación que se encontró con IAM (54); la prevalencia esperada fue del 27%, un alfa de 5%, el poder de 86%, el RRE de 2.0, un control por cada caso para un total de 514 individuos, 257 hipertensos y 257 normotensos, tomados de la base de datos del proyecto CARMEN.

En cuanto al tamaño de la muestra para detectar los polimorfismos del gen del AGT y del gen del r1AT, se tomaron las prevalencias en pacientes caucásicos encontradas en la literatura; estos estudios mostraron que la prevalencia para el polimorfismo A/C del

r1AT varío entre el 15 y el 36% (1) (23) (42), y para el polimorfismo M/T del gen del Angiotensinogeno la prevalencia estuvo entre el 10 y el 35% (1) (67); se calculó el tamaño de la muestra tomando los parámetros iniciales del estudio con un alfa de 0.05 y un poder de 86%.

Como el estudio se hizo apareado por las variables biológicas edad y sexo, el tamaño de muestra seleccionado fue más eficiente para encontrar la asociación que se buscaba, además se hizo análisis con la presión arterial como variable dependiente, por tanto el poder del estudio fue aún mayor debido a que esta es una variable continua. La tabla 4 del anexo D resume los diferentes escenarios posibles considerando las prevalencias de los genes en la población, la RRE, el poder y el nivel de confianza en un estudio no apareado.

5.4.1 Forma de muestreo. La selección final de los individuos se hizo con base en los criterios de inclusión y de exclusión que se determinaron con anterioridad; para la construcción de la base de casos y controles pareados por sexo y edad se utilizó el programa STATA 8.0 (68), que permitió además hacer la selección de controles aleatoria, el apareamiento fue por frecuencia, se agruparon por sexo y edad todos los posibles controles y a partir de ellos se seleccionaron los que se necesitaban, de tal forma que un solo control servía como control para varios casos del estrato o grupo. Esta forma de muestreo hizo eficiente el número de controles de que se disponía y permitió en algunos grupos incluir el total de individuos que se encontraban en la base de datos, y que correspondían a las características de sexo y edad por grupo, el apareamiento por edad fue exacto por la edad del caso.

Gráfica 3. Diagrama de Selección de la muestra de Casos y Controles

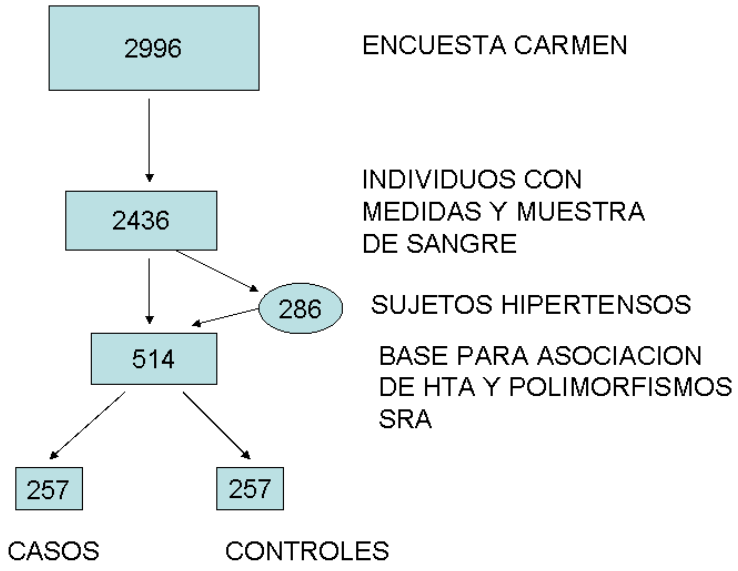


DIAGRAMA DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA CASOS Y CONTROLES

5.5 RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos fueron recogidos mediante una encuesta basal aplicada durante el programa investigación CARMEN (62), de la base se obtuvo la totalidad de los individuos hipertensos 286 personas de 2928 participantes (9.8%), seleccionados por los niveles de tensión arterial sistólica y diastólica, así como por su historial médico de hipertensión y tratamiento para ésta. Una vez hecha la selección de casos y controles se procedió a crear una nueva base de datos con la información pertinente a este estudio utilizando el programa STATA 8.0 (68).

La selección aleatoria de controles fue de frecuencia, no individual, se agruparon por sexo y edad todos los posibles controles y a partir de ellos se seleccionaron los que se necesitaban, de tal forma que un solo individuo sirvió como control para varios casos del estrato o grupo, haciendo eficiente el número de controles de que se disponía y permitiendo en algunos grupos tomar el total de individuos incluidos en la base de datos, que correspondían a las características de sexo y edad .

Todos los datos fueron recogidos por personal previamente entrenado que era supervisado permanentemente en todas las fases de la encuesta. Los procedimientos para la toma de medidas antropométricas se tomaron siguiendo técnicas similares a las usadas en otros estudios (63,64), las cuales se describieron en el Manual de Instrucciones para la encuesta CARMEN. La base de datos original fue digitada doblemente y corregida por los posibles errores de digitación. (65).

5.6 VARIABLES

Las características del paciente que se seleccionaron para construir la base de datos fueron:

- Sociodemográficas: edad, sexo, raza (color de la piel), entidad aseguradora, ocupación.
- Historia de salud individual y familiar (en primer grado de consanguinidad): antecedentes de hiperlipemias, hipertrigliceridemias, hiperglucemias, hipertensión arterial.
- Otros factores de riesgo: tabaquismo, sedentarismo.
- Medidas bioquímicas y antropométricas: perfil lipídico, glucemia, peso, talla, perímetro de la cintura y de la cadera
- Genéticas: la tipificación de los genes del SRA

En el anexo C tabla 3 se observa la definición de todas las variables utilizadas en el análisis de los casos y de los controles.

5.7 TOMA Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

La información sobre datos personales, antropométricos, clínicos y de laboratorio de las personas seleccionadas por el programa CARMEN se realizó siguiendo los protocolos del proyecto original (63, 66). La toma de la muestra de sangre se hizo según parámetros establecidos en el proyecto CARMEN, los cuales se basaron en recomendaciones internacionales para toma de muestras de sangre a partir de las cuales se obtuvo DNA para hacer análisis molecular. La genotipificación se realizó en el laboratorio de Genética de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander y se siguieron los protocolos de las técnicas de biología molecular establecidos previamente por Tiret (22), Caulfield (35), Lindpaintner (69), y Hingorani (70), para tipificar los pacientes con HTAE y sus respectivos controles.

5.8 GENOTIPIFICACIÓN:

Para identificar los polimorfismos de los genes del sistema Renina Angiotensina Aldosterona (SRA) se extrajo DNA del sobrenadante de leucocitos por medio de las técnicas de Chelex y de salting out modificado, se amplificó el DNA utilizando los primers correspondientes a las regiones polimórficas que se estudiaron mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se cortó el DNA con enzimas de restricción cuando la técnica lo exigió y se hizo una electroforesis en gel de agarosa tomando fotografías de las diferentes corridas electroforeticas (71).

De cada individuo se tomó una muestra de sangre en un tubo con EDTA, a partir de ella se hizo una mancha en papel y se obtuvo el sobrenadante de leucocitos, el que estuvo conservado en tubos eppendorf de 1500 λ a –70° C; las muestras en papel estaban debidamente marcadas e identificadas y guardadas hasta el momento de la extracción del DNA. El DNA se extrajo por medio de la técnica de Chelex al 5% (71). La concentración de DNA se midió por absorbancia en un espectrofotómetro a 260 nm.

Se procedió a amplificar la región correspondiente al gen de la ECA por medio de la PCR (22) con dos primers de la región Alu del intron 16 del cromosoma 17q23, esta secuencia tiene un tamaño de 287 pares de bases; la ausencia y la presencia de esta secuencia determinan los alelos I o de inserción, el cual corresponde a una banda de 490 pb y el alelo D o de deleción, cuya banda es de 190 pb; esta primera PCR se realiza con el siguiente par de primers 5'CTG-GAG-ACC-ACT-CCC-ATC-CTT-TCT3' y 5'GAT-GTG-GCC-ATC-ACA-TTC-GTC-AGA-T3' (69).

En una segunda reacción se siguió el protocolo sugerido por Lindpainter (69), se hizo una modificación en la temperatura de alineamiento para corregir la amplificación preferencial del alelo D sobre el alelo I en los casos heterocigotos DI, fenómeno observado durante la primera PCR, se usaron dos primers adicionales que permitieron determinar de manera más específica la presencia del alelo D y del alelo I, las secuencias de estos primers son los siguientes: 5'TGG-GAC-CAC-AGC-GCC-CGC-CAC-TAC-3' y el 5'TCG-CCA-GCC-CTC-CCA-TGC-CCA-TAA-3'. La visualización de las bandas resultantes se realizó utilizando electroforesis en gel de agarosa al 5% y se le agregó bromuro de ethidium el cual se intercala entre las cadenas de ADN permitiendo la identificación de los alelos D e I después de amplificado el fragmento del gen de la ECA; en esta segunda PCR se produce un fragmento de 335 pb solo en presencia del alelo I (II), y ningún producto de amplificación en presencia de homocigocidad para el alelo D (DD); se tipificó de manera correcta el 4-5% de las muestras que son ID y que con la PCR inicial fueron clasificadas como DD. Los genotipos fueron codificados como DD, ID e II en los individuos analizados.

Para la amplificación de un segmento del exon dos del gen del AGT ubicado en el cromosoma 1 se seguió el protocolo propuesto por Caulfield (35) con algunas modificaciones descritas en Rodríguez-Pérez (72), las secuencias de primers corriente abajo y corriente arriba fueron las siguientes: corriente arriba 5'GAT GCG CAC AAG GTC CTG3' y corriente abajo 5'CAG GGT GCT CAC ACT GGC TCG C3', en este extremo 3 los residuos de Citosina se aparearon mal con el ADN genómico, la consecuencia de este mal apareamiento durante la amplificación es la formación de un

nuevo sitio de restricción para la enzima Sfa NI, produciéndose el cambio de una Timina por una Citosina en el sitio 806 del DNA. Se utilizaron 2 unidades de la enzima Sfa NI (Lwe I de Fermentas®) para hacer el análisis de restricción, si cortaba producía un fragmento digerido de 266 pb que correspondió al alelo Met (T), sino cortaba la enzima el tamaño de la banda no digerida era de 303 pb correspondiente al alelo Treo (C). Esta técnica se conoce con el nombre de mal apareamiento en la PCR.

La visualización de las bandas se realizó por medio de electroforesis en geles de agarosa al 2.5%, con duración de 1 hora 40 minutos a 50 voltios. Los genotipos que se identificaron en los casos y en los controles analizados se codificaron como MM, MT y TT.

El segundo polimorfismo evaluado empleando la misma técnica del mal apareamiento, para el gen AGT fue el del codon 174 T174M, las secuencias de los primers fueron las mismas que se utilizaron para el anterior polimorfismo del codon 235 M235T, se evalúa la sustitución de una Citosina por una Timina en el sitio 623 del exon 2 del gen del AGT; el análisis de restricción se hizo con la enzima Tth 1111 (Nco2 de Fermentas®); del codon digerido con esta enzima se obtuvo un producto de 140 pb que correspondió al alelo Met (T), si no se produce digestión el fragmento es de 163 pb que identifica al alelo Treo (C). Después de la digestión los productos fueron analizados en geles de electroforesis; la visualización se realizó sobre geles de agarosa al 2 %, a 90 voltios por 40 minutos.

La detección del polimorfismo del gen del r1AT se hizo por la técnica descrita por Hingorani (70) y aplicada por Davis (41), los primers que se emplearon fueron el forward 5'ATA ATG TAA GCT CAT CCA CCA AGA AG3' y el reverse 5'TCT CCT TCA ATT CTG AAA AGT ACT TAA3', los fragmentos amplificados se sometieron a digestión enzimática usando 5 unidades de la enzima de restricción Afl II de Fermentas®, se evaluaba la sustitución de una Adenina por una Citosina en la posición 1166 del gen del receptor , si había restricción el producto tenía un tamaño de 139 y de 27 pb que correspondía al alelo C, si no se presentaba digestión el fragmento

medía 166 pb e identificaba al alelo A; la visualización se hizo por medio de una electroforesis en geles de agarosa al 2.5% a 50 voltios durante dos horas; los genotipos visualizados correspondieron a AA, AC y CC en los casos y en los controles analizados.

En todas y en cada una de las amplificaciones de los diferentes polimorfismos de los genes del SRA analizados se utilizaron controles positivos y controles negativos para evaluar la calidad de la PCR; en las electroforesis donde se establecieron los genotipos de los individuos analizados se emplearon marcadores de peso molecular para determinar el tamaño de los fragmentos digeridos y no digeridos. Las condiciones de la PCR y de la amplificación de cada uno de los cuatro polimorfismos se encuentran en las tablas 5 y 6 del anexo E.

Para la evaluación de la estructura de la población se utilizó el kit FFFL de Promega® que contiene los marcadores short tandem repeats o STRs para el gen humano de la Lipoprotein lipasa o LPL, el gen de la subunidad b de del factor de la coagulación 13 humano o F13B, el gen de la subunidad a del factor 13 de la coagulación o F13A01, el protooncogen humano c/fps o FESFPS. Los tamaños de estos marcadores oscilan entre 97-127 pb para LPL, 164-184 para F13B, 278-324 pb para F13A01 y 217-243 para FESFPS; para su amplificación se siguieron los parámetros recomendados por el fabricante.

Para la fotodocumentación de las diferentes genotipificaciones se utilizó una cámara Canon®, las imágenes reprocesaron en el software cámara suit de la misma marca.

Los operadores técnicos en el laboratorio estaban enmascarados para la condición de caso o de control de las muestras de sangre que se procesaron en la genotipificación, los resultados fueron obtenidos por duplicado y comparados posteriormente, la definición final de las bandas se hizo por consenso. Con los datos aportados por la amplificación del DNA y por el análisis de restricción se construyó una base de datos por duplicado en Excel®, posteriormente después de corroborar que los datos concordaban en las dos

bases se hacía la transferencia por medio del software Stata Transfer®, para su respectivo análisis en la base de datos construida en Stata 8.0®.

5. 9 PROCESAMIENTO DE LOS DATOS

Con la información recolectada en las bases de datos de CARMEN se construyó una nueva base de datos para el análisis de los diferentes factores de riesgo presentes en los casos y en los controles con hipertensión arterial esencial, utilizando los programas Stata 8.0®, Excel 2003® y el Stata transfer®.

La identificación de los participantes en las bases de datos se hizo mediante códigos, omitiendo el nombre del paciente para garantizar la confidencialidad de la información. La lista de nombres de los pacientes con su respectivo código permanece en un archivo, custodiado por el investigador principal del programa CARMEN. Una vez que se depuró la base de datos construida y se corrigieron las inconsistencias que se encontraron, se procedió al análisis estadístico de las diferentes variables consideradas en esta investigación.

5.9.1 Recodificacion de las variables. Las variables nominales fueron recodificadas y agrupadas de acuerdo a los criterios definidos previamente en CARMEN. Las variables continuas fueron evaluadas para normalidad en su distribución, utilizando el test de Shapiro Wilk, las que mostraron un comportamiento de falta de normalidad (valores de probabilidad significativos) se agruparon o recodificaron y transformaron en una nueva variable que cumpliera el principio de normalidad exigido en la regresión logística condicional, en la regresión logística y en la regresión lineal.

Se construyó la variable de apareamiento necesaria para efectuar el análisis mediante la regresión logística condicional formada por el dato del sexo y de la edad de cada caso y de cada control, ya que se analizaron las parejas discordantes de la tabla dos por dos (s/t).

5.10 ANALISIS DE LOS DATOS

Se elaboró un diagrama contenido en el gráfico 4 para observar el comportamiento de los participantes en el estudio de casos y controles.

Gráfico 4. Diagrama de construcción de la base de datos HTA y SRA

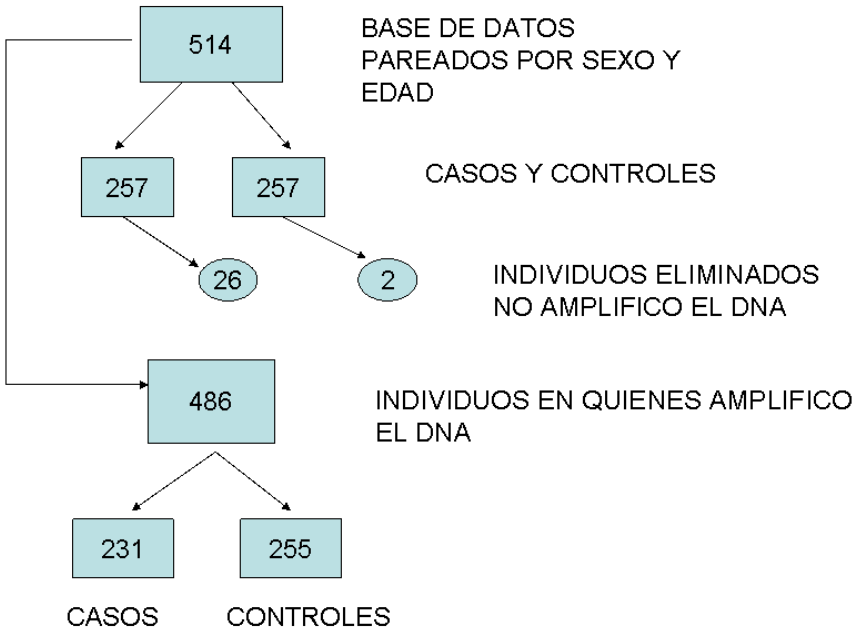


DIAGRAMA Nº 2 CONSTRUCCION DE LA BASE DE DATOS HTA Y SRA

En el grupo de las variables continuas se calcularon los promedios y las desviaciones estándar; las nominales se describieron utilizando las proporciones con sus respectivos intervalos de confianza del 95%. Se establecieron las frecuencias genotípicas de los diferentes polimorfismos de los genes del SRA, que corresponde al primer objetivo de esta investigación y que sirvieron para evaluar el equilibrio de Hardy-Weinberg en la población analizada. Se usaran tablas y gráficos de barras para la descripción de los hallazgos.

En el análisis bivariado se compararon las medias utilizando la prueba de t pareada o el Chi^2 de MacNemar para los valores de las variables nominales pareadas con sus respectivos valores de p, siendo significativos los valores de la $p \leq 0.05$, así como los intervalos de confianza del estadístico; en el análisis no apareado se usó el test de homogeneidad que utiliza el Chi^2 de Pearson, el cual a diferencia del Chi^2 MacNemar compara las variables de manera individual mirando solo su estado de presencia o ausencia en el sujeto caso o en el control, el otro test compara las similitudes o coincidencias entre las parejas casos o controles. Para conocer el comportamiento de cada variable independiente en este diseño de casos y controles apareado por sexo y edad, y su efecto en el valor del estimado de la variable de salida, definida como hipertensión arterial esencial, se aplicó el análisis de regresión logística condicional (clogit) que definieron los valores de RRE con su I de C y el valor de p respectivo; también se hicieron los cálculos para las razones relativas de exposición con sus respectivos I de C y valor de p en un modelo ajustado por sexo y edad, y cuando la variable contenía más de dos niveles de comparación se utilizó el comando tabodds deStata 8.0®, el cual calcula RRE ajustados y realiza un análisis comparativo muy similar a un test de Chi^2 de homogeneidad, el nivel de comparación que utiliza puede ser el más bajo o uno definido previamente por el investigador como en este caso. Para las frecuencias genotípicas y alélicas encontradas en el grupo de los casos y en el grupo de los controles, se calculó el valor esperado y se comprobó si cumplían el equilibrio de Hardy-Weinberg empleando la prueba del chi^2 de Pearson (55); el estado de equilibrio ocurre cuando los apareamientos se han dado al azar y es consecuencia directa de la segregación de los alelos en meiosis en los heterocigotos (73). La presencia del estado de equilibrio indicó que la población de los casos y de los controles fue homogénea con respecto a las frecuencias alélicas y a la distribución de los distintos alelos y no es una mezcla de subpoblaciones con diferentes frecuencias y distribución de alelos para el gen estudiado; en este último caso (ausencia de equilibrio), si las subpoblaciones tienen diferente riesgo de hipertensión, los casos y los controles no serían comparables. Sin embargo, un estudio reciente ha mostrado que la estratificación de la población no parece ser una fuente importante de sesgo en estudios de casos y controles en los cuales se ignora la raza (57, 74).

Para el análisis multivariado se utilizó la regresión logística condicional (75) que calcula el logaritmo de la proporción de la prevalencia del evento (logit p=p/1+p), que corresponde a un valor de RRE, basándose en el análisis de las parejas discordantes (s/t), de la tabla de dos por dos como se observa a continuación:

Tabla 7. Tabla de dos por dos para Casos y Controles Pareados.

		CASOS
CONTROLES	***VARIABLE POSITIVA***	***VARIABLE NEGATIVA***
VARIABLE POSITIVA	**r**	**s**
VARIABLE NEGATIVA	**t**	**u**

También se hicieron los cálculos utilizando el análisis de regresión logística no condicional ajustando por sexo y edad, que define el valor de la razón relativa de exposición (RRE) a partir de la proporción: a*d/b*c.

5.10.1 MODELAMIENTO

Se construyeron tres modelos para evaluar la hipótesis de este trabajo; se describen los pasos en su construcción y las decisiones que se tomaron.

5.10.2 CONSTRUCCION DEL MODELO:

- Desenlace principal: Hipertensión arterial esencial, definida según lo ya descrito.
- Variable explicatoria principal: polimorfismos de los genes del SRA
- Variables Confusoras o covariables: sexo, edad, raza, hacer ejercicio, obesidad, antecedente de familiar con HTA
- Inclusión de variables: Para la construcción del modelo se seleccionaron las variables que presentaban un valor de probabilidad para la prueba de chi^2 de las RRE de Mantel y Haenszel menor o igual a 0.2 ($p \leq 0.2$), de acuerdo con las sugerencias

de Hosmer, Lemeshow y Taber (76); aunque la variable raza (medida como color de la piel) no cumplía con esta condición se forzó su entrada para hacer comparables los resultados de esta investigación, dado que la gran mayoría de los estudios hechos sobre este aspecto de los polimorfismos del SRA y el riesgo de desarrollar HTA incluyen esta variable en sus modelos.

- Principio de normalidad: Para la evaluación del efecto de los polimorfismos de los genes del SRA sobre las cifras de tensión arterial sistólica y diastólica se empleó la regresión lineal múltiple, previamente se había evaluado si los valores promedio de estas dos variables continuas cumplían el principio de multinormalidad; la variable casos que contiene los hipertensos y los no hipertensos fue incluida en el modelo como una variable independiente para evitar confusión, también se eliminaron los casos que registraban tratamiento farmacológico para la hipertensión arterial.
- Cálculo del efecto: Se calculó el efecto en el valor del estimado de HTA para la exposición principal (polimorfismos de los genes del SRA), los cuales incluyeron además de la forma independiente del alelo asociado al riesgo de HTA el grupo formado por los tres polimorfismos (dos homocigotos y uno heterocigoto), que compara al alelo de riesgo contra los otros dos grupos formados por el alelo de no riesgo y el genotipo que lleva los dos alelos; la forma de herencia dominante donde se presenta agrupado el polimorfismo asociado al riesgo homocigoto y la forma heterocigota que lleva los dos alelos del gen y se comparan contra la forma homocigoto del alelo de no riesgo ejemplo: DD+ID vs II; forma de herencia recesiva que agrupa al alelo de no riesgo en estado homocigoto con la forma heterocigota comparándolo contra la forma homocigota del alelo de riesgo, ejemplo: II+ID vs DD; forma aditiva que compara los dos alelos de riesgo y no riesgo en sus formas homocigotas, ejemplo DD vs II; y la forma no aditiva que compara el genotipo heterocigoto compuesto por los dos alelos (asociado al riesgo y el no asociado) contra el alelo no asociado al riesgo, ejemplo ID vs II.
- Bondad de ajuste: se hizo la evaluación del ajuste del modelo, la que se describe adelante.

Finalmente, dado que el modelo predictivo construido con base en los datos observados, debía evaluarse con el fin de comparar si los resultados observados ajustaban con los esperados o predichos por el modelo (la bondad de ajuste), se realizó para el modelo multivariado definitivo pareado por sexo y edad. Se utilizó el paquete estadístico Stata 8.0, el cuál exigió una modificación de la forma de apareamiento inicialmente efectuada: debía hacerse la formación de las parejas uno a uno, no podría incluirse más de un control por cada caso, ni tampoco más de un caso por cada control; la posibilidad de utilizar un mismo control 2 o 3 veces, dado que se tenían más casos que controles, y que constituyó una ventaja en el inicio del análisis para calcular los valores de las razones relativas de exposición de las diferentes variables independientes se anulaba, debían estar 1 caso por cada control o viceversa para que pudiera utilizarse la prueba clfit que se aplica para datos pareados 1-1 es decir un caso por un control (68), el cual genera las siguientes variables nuevas:

- hat: que corresponde al leverage
- dx2: datos que no ajustan en el diagnóstico
- dbeta: valores Delta Beta de influencia estadística
- gdx2: pérdida del ajuste en cada grupo
- gdbeta: influencia estadística de los valores Delta Beta en cada grupo

El comando clfit también permite visualizar mediante un gráfico el efecto de los valores Delta Beta comparada contra el valor predictivo de la probabilidad (predict Pr) para cada resultado por cada grupo.

En el modelo ajustado por sexo y edad donde se levantó el apareamiento, se empleó la prueba lfit group (10) de Stata 8.0 que corresponde al método de Hosmer y Lemeshow (76) con estratificación de los resultados de las covariables en 10 grupos para los valores observados y esperados; comparando los valores de los estimados mediante una prueba de chi^2, no se utilizó la prueba de deviance (x2), ni el cálculo de los valores de dbeta (X2) porque en el modelo se utilizó una variable en forma continua (76). El

porcentaje de cambio en el estimado se calculó de la diferencia entre los valores de los coeficientes de la variable explicatoria del modelo final donde no se incluyeron los valores anómalos (outliers) y el valor de la razón relativa de exposición de la variable explicatoria del modelo inicial; de esta diferencia se calculo a qué porcentaje correspondía y este es el dato que se incluyó en los resultados.

Con estos supuestos se construyeron tres modelos para el análisis de los datos:

* **Primer modelo.** ***Regresión logística condicional*** para casos y controles pareados por sexo y edad. Este modelo aportó un valor de razón relativa de exposición (RRE), significativo para la variable explicatoria, ésta se construyó agrupando los alelos polimórficos del gen ECA, escogiendo el alelo I que no estaba asociado al riesgo de presentar HTAE en estado homocigoto (II) como el nivel de comparación para las otras dos formas de presentación de los polimorfismos, la heterocigota ID y la forma homocigoto DD del alelo asociado al riesgo de HTAE, con un intervalo de confianza y un valor de p que lo confirmaron; además permitió controlar las variables biológicas confusoras, así como hacer eficiente el tamaño de muestra para mantener el valor del poder y de la confianza. Se descartó este primer modelo de análisis porque al hacer la prueba para bondad de ajuste utilizando el software que para este efecto tiene el programa Stata 8.0®, hubo necesidad de cambiar la forma de apareamiento escogida al inicio del análisis de los datos, debido a que se había hecho una construcción de las parejas por frecuencia, no de forma individual como lo exigía el comando del programa, ante esto el tamaño de muestra se redujo hasta un 10% del inicialmente calculado, desechándose toda la información previamente recogida de 50 casos y controles. Sin embargo el diseño inicialmente planteado en esta investigación es un diseño de casos y controles pareados por sexo y edad, y siguiendo los lineamientos metodológicos para este caso debe analizarse por medio de la regresión logística condicional.

* **Segundo modelo.** R***egresión logística no condicional***. Se construyó este modelo ante la posibilidad de perder información valiosa de un 10% de la población analizada, se utilizaron las mismas variables que fueron significativas en la

regresión logística condicional y ajustando por las variables utilizadas para parear los casos y los controles, el sexo y la edad. El valor de la razón relativa de exposición se mantuvo similar al del primer modelo generado por la regresión logística condicional, los intervalos de confianza y el valor de la p fueron significativos. Cuando se analizó la variable explicatoria en otras formas de agrupamiento como fueron los modelos dominante y recesivo, así como el aditivo se mantuvo significativo el valor de la razón relativa, aunque fue inferior al valor inicial obtenido en la logística condicional. Al hacer la prueba para la bondad de ajuste del modelo final no fue necesario eliminar información de los casos o de los controles y no se perdió tamaño de muestra del originalmente calculado; además fue útil para cubrir el tercer objetivo específico de la investigación donde se planteaba la exploración de la interacción del polimorfismo del gen de la ECA con otras variables explicatorias como la edad, el sexo y la obesidad.

Esta forma de abordar el análisis en un diseño de casos y controles pareados no es la más exacta desde el punto de vista metodológico.

Tercer modelo. ***Regresión logística no condicional con términos de interacción.*** Se abordó este tipo de análisis porque entre los objetivos específicos de la investigación se planteó explorar la interacción de la variable explicatoria principal con otras variables como la edad, el sexo y la obesidad, dado que se reportaba en la literatura revisada. Se encontró interacción significativa del polimorfismo asociado al riesgo solo con la variable obesidad, no se observó este efecto con las otras variables analizadas. El análisis se hizo e datos de los casos, pero al incluir los 9 parámetros de interacción entre el polimorfismo y la variable obesidad en el modelo definido por la regresión logística no condicional este se tornó inestable, los valores de los I de C fueron bastante amplios lo cual indicó que los resultados fueron imprecisos, el tamaño de muestra se reduce sustancialmente en este modelo y las conclusiones se hacen solo con unos pocos datos de casos y controles, este valor es cercano al 10% del total de la base original; en conclusión el tamaño de muestra no

fue suficiente para evaluar la interacción que se propuso analizar inicialmente en los objetivos específicos.

Para la evaluación del efecto de los polimorfismos de los genes del SRA sobre las cifras de tensión arterial sistólica y diastólica se empleó la ***regresión lineal múltiple***, previamente se había evaluado si los valores promedio de estas dos variables continuas cumplían el principio de normalidad; la variable casos que contiene los hipertensos y los no hipertensos fue incluida en el modelo como una variable independiente para evitar confusión, también se eliminaron los casos que registraban tratamiento farmacológico para la hipertensión arterial. Se evaluó la bondad de ajuste en el modelo definitivo calculando los valores de predict, el chi^2 de Hosmer y Lemeshow, la prueba de Deviance (x2) y los valores de dbeta (X2) (76).

Se identificaron las observaciones con valores extremos o valores outlier por medio de los dbeta combinando el método numérico y el gráfico.

El análisis de apalancamiento se hizo identificando las observaciones que presentaron al menos un dbeta anómalo; para ello se extrajo cada vez una de las observaciones anómalas comparándolo con el modelo final.

En la evaluación de un posible efecto de interacción entre factores como la edad, el sexo, la obesidad y los polimorfismos asociados al desarrollo de la hipertensión arterial (HTA), como el genotipos DD del gen ECA, MM en el AGT M235T, TT en el AGT T174M y CC del r1AT se construyó para cada uno de los genes analizados un modelo de regresión logística no condicional solo en el grupo de los casos, y usando estos genotipos asociados a la hipertensión como las variables dependientes (44). Esto permitió una evaluación de todas las posibles interacciones en cada modelo.

En todos los casos se evaluó la bondad de ajuste del modelo usando el Chi^2 de Pearson y el Chi^2 de las desviaciones o residuos.

Finalmente se hizo la evaluación del estadístico F por medio de la prueba Fst para determinar si la población de casos y de controles en donde se determinaron los polimorfismos de los genes presentaban un comportamiento de subestructura, para complementar esta estimación se tomó una muestra aleatoria a partir del grupo de casos y del grupo de controles compuesta por 100 individuos nacidos en Bucaramanga, esta variable se determinó a partir de la base de datos original de CARMEN, en estos casos y controles se analizaron cuatro polimorfismos del tipo short tandem repeats (STR) del multiplex FFFL de Promega®. Con los resultados obtenidos en esta última amplificación se procedió a calcular las frecuencias genotípicas y alélicas para cada polimorfismo, la prueba de homogeneidad para evaluar el equilibrio de Hardy-Weinberg utilizando el programa Genepop versión 3.4 disponible en Internet (77), las pruebas de desequilibrio de ligamiento y la Fst para evaluar si había estructura en la población estudiada (58, 78).

5.11 ASPECTOS ÉTICOS

El estudio original fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander. Todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito, incluyendo la realización de pruebas bioquímicas y genéticas en sus muestras de sangre almacenadas.

Esta investigación contó con la aprobación del comité de ética en investigación de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander; como el estudio se realizó con datos y muestras ya disponibles, no fue necesario solicitar consentimiento informado de los participantes; sin embargo, las pruebas genéticas se hicieron de forma anónima y los participantes en el estudio original no fueron individualmente identificados.

Este fue un estudio de riesgo mínimo, de acuerdo a la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud, que establece las normas éticas para la investigación en seres humanos en Colombia. (79)

6. RESULTADOS

6.1 FORMACION DE LA BASE DE DATOS DEFINITIVA

Para resolver la pregunta de investigación propuesta en este proyecto de investigación se procedió a crear una base de datos en el programa Stata 8.0®, tal como se describió en el punto anterior sobre la selección de la muestra que constituyó el grupo de casos y de controles; el tamaño de muestra definitivo fue de 486 personas, distribuidas en 255 casos y 231 controles en cuyas muestras de sangre se pudo hacer la amplificación de los diferentes genes del SRA, el diagrama siguiente permite detallar estos aspectos.

Gráfico 4. Diagrama construcción de la base de datos HTA y polimorfismos SRA

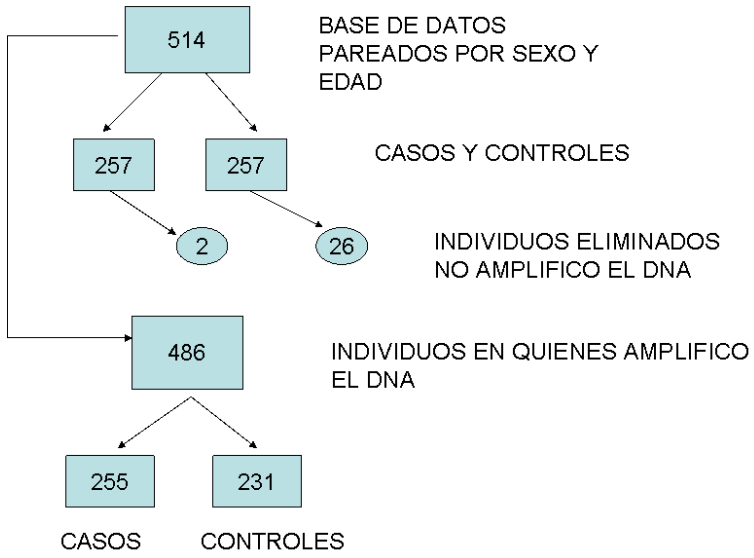


DIAGRAMA Nº 2 CONSTRUCCION DE LA BASE DE DATOS HTA Y SRA

Las causas probables por las cuales no amplificaron las muestras de DNA de un grupo de 28 individuos de los seleccionados previamente pudieron ser:

* Muestra obtenida fue de mala calidad

* Muestra de DNA era muy escasa
* presencia de enzimas degradadoras del DNA tipo DNAsas en la muestra.

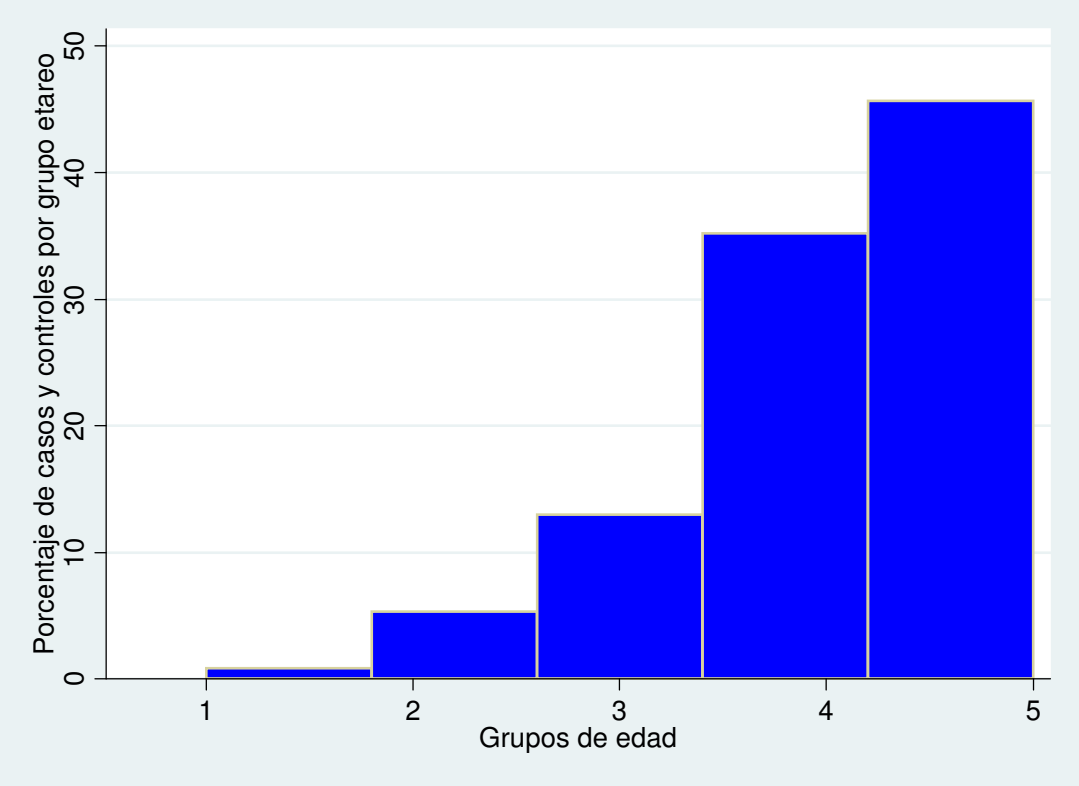
6.2 DESCRIPCION DEL GRUPO EN ESTUDIO

De los 486 individuos incluidos en el estudio, 358 (74%) fueron mujeres y 158 (26%) hombres. El comportamiento para la se observa en la siguiente tabla y en el gráfico que aparece a continuación:

Tabla 8. Caracterización de edad en casos y controles

Grupo de edad años	Grupo	Casos		Controles		TOTAL	
		N	%	N	%	N	%
17-25	1	2	0.41	2	0.41	4	0.82
26-34	2	14	2.88	12	2.47	26	5.35
35-44	3	31	6.38	32	6.58	63	12.96
36-54	4	89	18.31	82	16.87	171	35.19
55 y más años	5	119	24.49	103	21.19	222	45.68
Edad promedio		52.3		51.5		51.9	
Desviación estándar		9.2		8.9		9.1	

Grafica 5. Distribución porcentual de la edad en grupos



Grupos de edad: 1: 17-25 2: 26-34 3:35-44 4:45-54 5: 55 y + años

6.2.1 Características sociodemográficas. El análisis univariado y bivariado de las características del grupo en estudio se describen en la tabla número 9 del anexo F "Características sociodemográficas de la población en estudio". No hubo diferencias significativas en las variables, excepto en la distribución por sexo. El promedio de edad de la población analizada fue de 52 años (I. de C 95% 51.1, 52.7).

6.2.2 Antecedentes personales de enfermedad crónica y factores de riesgo. En cuanto a los antecedentes personales referidos en la tabla número 10 del anexo F "Características de los antecedentes familiares y personales de los casos y los controles" se observan diferencias significativas en el antecedente de hipertensión

arterial en familiar en primer grado de consanguinidad (madre, padre o hermano), diferencia que no se mantiene cuando la variable se agrupa y se considera solamente el antecedente materno y paterno, dado que los progenitores son los que heredan las características a los hijos; también hay diferencias significativas entre los casos y los controles en las variables hacer ejercicio y fumar, entre los casos el porcentaje que no se ejercita corresponde a 36.1% (92/202) y en los controles 47.6% (110/202); en el consumo de tabaco reportado solo por 203 individuos, se observó un mayor número de fumadores entre los controles (37/64) con 39.8% del total de controles, que entre los casos (27/64) con 24.5% del total de estos. Llama la atención que entre el grupo de los controles se observó un porcentaje mayor de individuos que no se ejercitan y fumaban, características asociadas al riesgo de hta de acuerdo con la literatura revisada (6-8, 10, 16).

6.2.3 Factores de riesgo. Al comparar los casos y los controles para los diferentes factores de riesgo, tabla número 11 anexo F "Descripción de los factores de riesgo de los casos y los controles", se observó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en los promedios del peso, circunferencia de cintura, circunferencia de cadera, IMC, e ICICA; así como también en los valores promedio para triglicéridos y en los de presión arterial sistólica y diastólica, éstas medidas fueron calculadas a partir del valor promedio de las dos últimas medida tomadas a los individuos en el estudio; no mostraron diferencias significativas los valores promedio para la talla, las medidas sanguíneas del metabolismo de lípidos y de glucemia. Los resultados se modifican, excepto para el IMC, al hacer el análisis teniendo en cuenta las categorías de riesgo, tabla 12, anexo F "Características de los factores de riesgo agrupadas".

6.2.4 Frecuencia genotípicas de los polimorfismos. Las frecuencias para cada uno de los polimorfismos de los genes del SRA en los casos y los controles, primer objetivo de estas investigación, así como la comparación entre los dos grupos y la determinación de diferencias entre los grupos de riesgo se observa en la tabla número 13 del anexo F "Frecuencias del polimorfismo de los genes del SRA", existen diferencias significativas entre los casos y los controles que portan el alelo en estado homocigoto

asociado al riesgo de desarrollar HTA, así como también entre los que presentan el alelo no asociado; el polimorfismo heterocigoto ID del gen ECA no mostró diferencias significativa entre los dos grupos. En el anexo L en las gráficas 6, 7, 8 y 9 están las electroforesis de los cuatro polimorfismos analizados en los casos y en los controles.

* **Evaluación del equilibrio Hardy-Weinberg.** Los valores de las frecuencias genotípicas y alélicas, observadas y esperadas, las que se calcularon para determinar si los polimorfismos de los genes del SRA se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) y si estaban o no afectadas por desequilibrio de ligamiento, se encuentran en la tabla número 14 "Evaluación del equilibrio Hardy- Weinberg en los genes del SRA", anexo F, se observa las frecuencias genotípicas de los alelos para el polimorfismo I/D del gen ECA están en EHW al igual que las del polimorfismo A1166C del gen r1AT, pero las frecuencias de los genotipos para los alelos de los polimorfismos M235T y T174M analizados para el gen del AGT se encuentran en desequilibrio de HW; para M235T el desequilibrio se encontró en los controles y en los casos para T174M.

* **Evaluación de la estructura poblacional prueba Fst.** En los 110 individuos seleccionados de la base de datos original en los cuales se utilizó el kit FFFL de Promega® que contiene los polimorfismos LPL1, F138A, FES1 y F13A01 para evaluar la estructura poblacional de la muestra analizada se encontraron las frecuencias genotípicas en EHW; el valor de la prueba Fst en todos los polimorfismos no mostró estructura en la población muestreada para los polimorfismos del SRA; los valores observados están dentro del rango de 0-0.005 donde se considera que hay poca diferenciación genética (55, 58) de acuerdo con las pautas cualitativas sugeridas por Sewall Wright para interpretar Fst. Los datos se anexan en la tabla 15 anexo G "Valores de la prueba Fst para los casos y controles".

6.2.5 Características de los individuos eliminados. Las características sociodemográficas y antropométricas de los individuos que se eliminaron porque no amplificó su muestra para el DNA, se describen en la tabla número 16 del anexo H,

donde se observa que la media de edad de los casos y de los controles que se eliminaron fue mayor respecto de los que quedaron en el análisis, siendo significativa esta diferencia entre los controles, no hubo diferencias significativas en otras de las características antropométricas de los individuos analizados y los sujetos del estudio, excepto la medida promedio de la presión arterial diastólica entre los controles (p=0.0473), este valor fue menor entre los controles que se excluyeron al compararlo con los que continuaron en el estudio.

6.2.6 Análisis multivariado. En el anexo I se encuentran las tablas número 17 y 18 "Valores de RRE del modelo pareado y del modelo ajustado en HTA y polimorfismos del SRA" y "Valores de RRE de los promedios de los factores de riesgo en HTA y polimorfismos del SRA", respectivamente, donde se observan los valores de probabilidad de la prueba de homogeneidad de Mantel Hansel (chi^2), para las (RRE) que se tuvieron en cuenta al seleccionar las variables incluidas en el modelo final.

* **Análisis multivariado para los polimorfismos de los genes del SRA.** La tabla número 19 del anexo I contiene los valores de las RRE, intervalos de confianza (IC) y el de probabilidad para los polimorfismos de los genes ECA, AGT y r1AT, del sistema Renina Angiotensina tipificados en los sujetos; se encontró que los polimorfismos DD del gene ECA, el MM del M235, el TT del T174 del AGT asociados al riesgo de desarrollar hipertensión arterial (HTA) presentaban valores de probabilidad$\leq$0.2, suficiente para estar en el modelo definitivo, el polimorfismo CC de A1166C del r1AT no presentó valores de probabilidad en el rango para ser incluido en el modelamiento.

6.2.7 Descripción del modelo. En la construcción del modelo final quedaron incluidas las siguientes variables, según se aprecia en la tabla número 20 que aparece a continuación:

Tabla 20. Variables discretas y continuas seleccionadas para incluirlas en el modelo explicativo de la HTA y los polimorfismos del SRA.

Variables independientes Discretas	p modelo pareado	p modelo ajustado
Raza	0.041	0.040
Antecedente madre hta	0.011	0.012
Antecedente padre hta	0.111	0.107
Antecedente hermano hta	0.003	0.002
Historia familiar	0.002	0.001
Triglicéridos (TGC)	0.054	0.123
No hacer ejercicio	0.027	0.027
Polimorfismo DD ECA	0.128	0.125
Polimorfismo MM AGT (M235)	0.201	0.153
Polimorfismo TT AGT (T174)	0.141	0.108
Polimorfismo MT AGT (T174)	0.099	0.067
Índice de masa corporal (IMC)	0.102	0.116
Sobrepeso IMC ≥25	0.031	0.029
Obesidad abdominal (icica)*	0.078	0.066
IMC grupo sobrepeso, obeso	0.092	0.098
Obesidad abdominal por circi**	0.011	0.029

* Índice cintura cadera
** Circunferencia cintura

Tabla 20. Variables discretas y continuas seleccionadas para incluirlas en el modelo explicativo de la HTA y los polimorfismos del SRA.

Variables independientes Continuas	p pareado	p ajustado
Circunferencia cadera	0.028	0.034
Circunferencia cintura (circi)**	0.005	0.009
Índice de masa corporal	0.013	0.014
Índice cintura cadera (icica)*	0.032	0.061

* Índice cintura cadera
** Circunferencia cintura

6.2.8 Efecto sobre el valor de la razón relativa de exposición de la HTA de las variables originales y recodificadas para medir sobrepeso y obesidad. El sobrepeso y la obesidad se determinaron de diferentes maneras:

- Sobrepeso por IMC (peso/talla^2), IMC≥25
- Grupo de Sobrepeso y obesidad por IMC, IMC≥25 e IMC≥30 respectivamente
- Grupo de IMC, el índice de masa corporal puede ir desde <18.5 a un IMC≥40
- Obesidad abdominal por índice cintura/cadera, mujeres>8.0 y varones >1.0
- Obesidad abdominal por circunferencia de la cintura, en mujeres >80 cm y en hombres > 94 cm.

Los cambios en el estimado para la asociación entre el polimorfismo de riesgo y la HTA se observan en la tabla 18 anexo I cuando las diferentes formas de evaluar el sobrepeso y la obesidad de los individuos analizados se incluyen en el modelo de regresión logística condicional y en el modelo de regresión logística no condiciona ajustado por sexo y edad. La variable que produjo el mayor porcentaje de cambio fue el índice de masa corporal, sea ésta variable analizada en forma continua o agrupada desde el valor normal (IMC<18.5 hasta ≤24.9), sobrepeso (IMC≥25 hasta ≤29.9) y obesidad (IMC≥30).

Tabla 21. Efecto de las medidas para determinar sobrepeso y obesidad en el valor de RRE de la variable explicatoria

Variable	RRE pareado	Valor de p	RRE ajustado	Valor de p	% cambio
Circunferencia cintura	1.37	0.104	1.40	0.073	0.01
Circunferencia cadera	1.34	0.104	1.41	0.071	0.01
Razón cintura cadera	1.35	0.123	1.38	0.083	0.01
Índice de masa corporal	1.38	0.099	1.41	0.068	0.01
Grupos IMC	1.39	0.094	1.41	0.071	0.01
Sobrepeso	1.35	0.117	1.39	0.080	0.01
Obesidad abdominal por circunferencia cintura	1.31	0.163	1.36	0.105	0.01
Obesidad por IMC	1.37	0.106	1.41	0.073	0.01

Los índices construidos a partir del agrupamiento de las variables continuas fueron analizados de manera individual para observar su efecto, y determinar cual de los grupos producía el mayor porcentaje de cambio en el RRE de la variable de salida.

6.2.9 Modelo definitivo. El modelo final que permitió cumplir con el segundo objetivo de esta investigación quedó construido con variables que se enumeran en la tabla 22, que se presenta a continuación, incluyendo sus respectivos valores de RRE, IC y probabilidad, también bajo el mismo título se presentan los diferentes modelos que se construyeron con los genotipos del polimorfismo DD del gen ECA que presentó asociación significativa con la HTA esencial, estos aparecen en el anexo K tabla 22.

Tabla 22. Variables incluidas en el modelo apareado del efecto de los polimorfismos del SRA sobre la HTA.

HTA/Variables independientes	Valor de RRE pareado	Valor de p
Raza	1.49 (0.98, 2.27)	0.059
Hacer ejercicio	0.61 (0.40, 0.92)	0.020
Historia de hta en familiar paterno o materno	1.97 (1.29, 3.01)	0.002
Grupo de índice masa corporal:		
Grupo 1:≥25 sobrepeso	1.42 (0.88, 2.28)	0.140
Grupo 2:≥30 obesidad	2.09 (1.20, 3.65)	0.009
ECA agrupado:		
Grupo 0: II	1.0	
Grupo 1: ID	1.44 (0.79, 2.61)	0.225
Grupo 2: DD	**1.94 (1.05, 3.59)**	**0.034**

El efecto de los otros polimorfismos de los genes del SRA sobre el valor de la razón de riesgo de HTA esencial, se puede observar en la tabla 23 del anexo J "Efecto del polimorfismo genético del SRA sobre el valor de RRE de HTA en el modelo apareado por sexo y edad" y en la tabla 24 que aparece en el anexo K se describe el modelo ajustado por sexo y edad, para el polimorfismo DD, a continuación de ésta aparecen los restantes modelos de asociación de los genotipos.

En este modelo ajustado por sexo y edad y forzando la entrada de la variable raza se observa que la asociación entre el polimorfismo DD (homocigoto) del gen ECA agrupado (II, ID, DD) y el riesgo de presentar HTA esencial presenta un valor de RRE=1.93 (1.06, 2.17) con un valor para p=0.031 significativo y al compararlo con lo observado en el análisis del modelo pareado el valor para la RRE es muy similar (RRE=1.94). Al hacer el análisis del modelo ajustado por sexo y edad para el riesgo de HTA con las otras formas de agrupamiento para el polimorfismo I/D el valor de la RRE es mayor; por ejemplo en el modelo de herencia recesiva del polimorfismo el valor alcanza niveles de significancia, así como también en la forma aditiva (DD vs II), denotando que el efecto de doble dosis del gen es la forma asociada para desarrollar hipertensión ya que produce un cambio significativo en el valor del estimado para la razón de riesgo (RRE); en el caso del análisis como factor independiente la razón de riesgo es significativa (RRE=1.64 (1.04, 2.47)), y presenta un valor significativo para la probabilidad de 0.016, siendo este dato inferior a los modelos agrupados. Es notorio que no se encontró asociación con ningún otro de los polimorfismos analizados para el sistema Renina Angiotensina, como fueron el del gen Angiotensinogeno (AGT) y el gen para el receptor tipo 1 de la Angiotensina II (r1AT).

6.2.9 Evaluación del modelo.

* **Modelo generado por la regresión logística condicional.** Para evaluar el ajuste del modelo definitivo se aplicó la prueba clfit group(10) de Stata 8.0, para la cual se creó una nueva variable de apareamiento, eliminado 50 individuos entre casos y controles, quedando finalmente 436 sujetos en el estudio; al correr nuevamente el modelo con este nuevo tamaño de muestra se observó que se eliminan además 95 grupos (190 personas) de observaciones caso/control, debido a que estas parejas son concordantes y no se utilizan en el análisis. En esta nueva situación se produce un nuevo cambio en el número de observaciones analizadas correspondiendo a 178, además con este tamaño de muestra tan pequeño es notorio el cambio en el valor del estimado para la razón de riesgo de HTA, teniendo como variable explicatoria el polimorfismo DD del gen ECA en la forma de grupo, con el homocigoto del alelo II de no riesgo como nivel de referencia, estos datos se presentan a continuación:

Tabla 25. Nuevo modelo apareado para la asociación entre los polimorfismos de los genes del SRA e HTA

HTA/Variables independientes		Valor de RRE apareado	Valor de p
Raza		2.43 (1.18, 5.02)	0.016
Hacer ejercicio		0.61 (0.3, 1.25)	0.180
Historia de hta en familiar paterno o materno		1.94 (0.97, 3.89)	0.061
Grupo de índice masa corporal:			
Grupo 0 <25	normal	1.0	
Grupo 1 ≥25	sobrepeso	1.0	
Grupo 2:≥30	obesidad	1.13 (0.53, 2.44)	0.737
ECA agrupado:			
Grupo 0: II		1.0	
Grupo 1: ID		2.27 (0.51, 6.62)	0.131
Grupo 2: DD		**5.45 (1.61, 18.4)**	**0.006**

Al reducirse de esta forma el tamaño de muestra se afecta el poder del estudio que se planteó al inicio de esta investigación.

Al realizar la prueba de bondad de ajuste por el método clfit se generaron los valores para dx2 (datos que no ajustan), hat (leverage o apalancamiento), dbeta (valores Delta Beta de influencia estadística), gdx2 (pérdida de ajusta para cada grupo), gdbeta (valores Delta beta con influencia estadística para cada grupo); se pueden observar en las gráficas del anexo LL "Gráfica 10. Ajuste del modelo condicional comparando los valores de dx2 con los valores del predict", gráfica 11 que muestra los valores para dbeta, y la gráfica 12 con los de gdx2, donde se observa que el modelo ajusta a pesar de presentar un grupo de datos anómalos (outliers), los cuales se identificaron y aparecen el las tablas 26 y 27 del anexo K.

* **Modelo apareado sin los valores anómalos.** Se procedió a construir un modelo donde no aparecieran los datos anómalos que en total fueron 8, el resultado se observa en la tabla 28 "Valores del modelo apareado para asociación entre los polimorfismos del SRA e HTA sin incluir los datos anómalos" del anexo K.

En el análisis de este nuevo modelo se eliminaron 103 grupos de observaciones (grupos caso/control), debido a que los resultados en ellos eran todos positivos o todos negativos, se tienen en cuenta solo 162 observaciones (parejas); es notable como el valor de razón relativa de exposición para hipertensión en un portador del genotipo DD aumenta 4.5 veces más, inicialmente el valor de RRE=5.45 y alcanza un valor de RRE=24.5 el IC 95% se vuelve amplio debido a la disminución del tamaño de muestra, perdiendo precisión, la p=0.001 es significativa; pierde significancia un factor de riesgo de hipertensión arterial como es la obesidad y uno que era protector como es el hacer ejercicio; se vuelven significativos la raza y el genotipo heterocigoto ID del polimorfismo I/D del gen de la ECA , el cual no se asocia a riego para HTA.

Las gráficas que comparan los valores de probabilidad por grupos muestran como el nuevo modelo ajusta; estas gráficas que corresponden a los valores para dx2, gdx2 y la influencia estadística de beta, están ubicadas en el anexo LL, gráfica 13, 14 y 15, respectivamente.

* **Modelo generado por la regresión logística no condicional.** En la evaluación del modelo construido por la regresión logística no condicional, ajustado por sexo y edad se utilizó la prueba de bondad de ajuste de Hosmer y Lemeshow (H-L), que dio el siguiente resultado:

```
Logistic model for caso, goodness-of-fit test

       number of observations =       445
 number of covariate patterns =       418
            Pearson chi2(408) =       411.16
                  Prob > chi2 =         0.4468
```

La tabla con las observaciones y los valores esperados de la prueba de bondad de ajuste de H-L que genera un número de observaciones por covariable, comparando los valores observados contra los valores esperados mediante la prueba de chi^2 de H-L; los valores de la tabla colapsada sobre los cuantiles de las probabilidades estimadas fueron:

```
Logistic model for caso, goodness-of-fit test

  (Table collapsed on quantiles of estimated probabilities)
  +--------------------------------------------------------+
  | Group |   Prob | Obs_1 | Exp_1 | Obs_0 | Exp_0 | Total |
  |-------+--------+-------+-------+-------+-------+-------|
  |     1 | 0.3445 |    12 |  13.1 |    33 |  31.9 |    45 |
  |     2 | 0.4094 |    15 |  16.6 |    29 |  27.4 |    44 |
  |     3 | 0.4551 |    18 |  19.4 |    27 |  25.6 |    45 |
  |     4 | 0.4998 |    28 |  21.0 |    16 |  23.0 |    44 |
  |     5 | 0.5385 |    23 |  23.4 |    22 |  21.6 |    45 |
  |-------+--------+-------+-------+-------+-------+-------|
  |     6 | 0.5742 |    21 |  24.5 |    23 |  19.5 |    44 |
  |     7 | 0.6098 |    28 |  26.6 |    17 |  18.4 |    45 |
  |     8 | 0.6509 |    29 |  27.8 |    15 |  16.2 |    44 |
  |     9 | 0.7059 |    28 |  30.4 |    17 |  14.6 |    45 |
  |    10 | 0.8389 |    34 |  33.2 |    10 |  10.8 |    44 |
  +--------------------------------------------------------+

       number of observations =       445
             number of groups =        10
     Hosmer-Lemeshow chi2(8) =         7.12
                 Prob > chi2 =         0.5235
```

Estos datos están indicando que el modelo ajusta ya que la probabilidad no tiene un valor significativo (p=0.05235) para el chi^2, indicando que no hay diferencias entre los dos grupos (datos observados y datos esperados).

La evaluación gráfica donde se comparan a los valores del chi^2 delta y la probabilidad de caso muestran el ajuste del modelo, anexo M "Gráfico 16. Prueba de bondad de ajuste del modelo no condicional comparando los valores dx2 y la probabilidad de caso"; "Gráfico 17. Prueba de bondad de ajuste del modelo no condicional comparando los valores del leverage (hat) y la probabilidad de caso", muestran los datos anómalos en las dos pruebas para la bondad de ajuste. Se observó un dato anómalo para los valores dx2, los datos del individuo y los valores respectivos se presentan en la tabla 29 del anexo N.

En la prueba de bondad de ajuste utilizando los valores del apalancamiento (leverage/hat) y la probabilidad de caso, se observan siete datos anómalos, los cuales se encuentran ubicados por fuera del valor de 0.05 en el eje de las Y, en el anexo 15 la tabla 30 contiene estos valores.

* **Modelo eliminando los valores extremos (outliers).** Se procedió a construir un nuevo modelo eliminado el valor extremo para dx2 y los valores anómalos del leverage, se observa que al comparar este nuevo valor de razón de riesgo (RRE) del polimorfismo DD del gen ECA 1.98 (1.09, 3.60) valor de p=0.024 con el valor obtenido en el modelo inicial, el porcentaje de cambio en el estimado fue de 4.5 %; las otras variables mantuvieron unos valores de RRE muy similares a los del modelo inicial. La "Tabla 31. Valores del modelo ajustado por sexo y edad para evaluar asociación entre los polimorfismos del SRA e HTA sin incluir el dato anómalo para dx2" contiene estos valores aparece en el anexo N.

Se procedió luego a eliminar los datos anómalos para los valores del leverage y construir un nuevo modelo observando el resultado y el porcentaje de cambio en el estimado, los resultados aparecen en la "Tabla 32. Valores del modelo ajustado por sexo y edad para evaluar asociación entre los polimorfismos del SRA e HTA sin incluir el dato anómalo para leverage" del anexo N. El porcentaje de cambio en el valor RRE para el polimorfismo DD del gen ECA como factor de riesgo en HTA fue de 13.8%, el valor del cambio en el estimado del modelo definitivo una vez se eliminaron los valores anómalos para dx2 y para hat, fue de RRE=2.11 (1.14, 3.89) con un valor de p significativo (p=0.017).

La prueba para la bondad de ajuste mostró los siguientes resultados:

```
Logistic model for caso, goodness-of-fit test

       number of observations =       435
 number of covariate patterns =       412
            Pearson chi2(402) =       407.33
                  Prob > chi2 =         0.4166
```

```
Logistic model for caso, goodness-of-fit test
  (Table collapsed on quantiles of estimated probabilities)
  +--------------------------------------------------------+
  | Group |   Prob | Obs_1 | Exp_1 | Obs_0 | Exp_0 | Total |
  |-------+--------+-------+-------+-------+-------+-------|
  |     1 | 0.3255 |    12 |  11.9 |    32 |  32.1 |    44 |
  |     2 | 0.4059 |    13 |  15.8 |    30 |  27.2 |    43 |
  |     3 | 0.4485 |    19 |  19.0 |    25 |  25.0 |    44 |
  |     4 | 0.4981 |    26 |  20.4 |    17 |  22.6 |    43 |
  |     5 | 0.5385 |    20 |  22.8 |    24 |  21.2 |    44 |
  |-------+--------+-------+-------+-------+-------+-------|
  |     6 | 0.5733 |    25 |  23.9 |    18 |  19.1 |    43 |
  |     7 | 0.6123 |    25 |  26.0 |    19 |  18.0 |    44 |
  |     8 | 0.6619 |    28 |  27.3 |    15 |  15.7 |    43 |
  |     9 | 0.7172 |    28 |  30.1 |    16 |  13.9 |    44 |
  |    10 | 0.8567 |    34 |  32.9 |     9 |  10.1 |    43 |
  +--------------------------------------------------------+

      number of observations =       435
            number of groups =        10
    Hosmer-Lemeshow chi2(8) =         5.26
                Prob > chi2 =         0.7292
```

Los valores de probabilidad de la prueba de chi^2 de H-L no son significativos, lo cual indica que el modelo nuevo ajusta perfectamente, en la gráfica del anexo M se puede observar esto "Gráfico 18. Prueba de bondad de ajuste del modelo no condicional comparando los valores del leverage (hat) y la probabilidad de caso eliminado los valores anómalos".

6.3 EVALUACION DE LOS EFECTOS DE LOS POLIMORFISMOS DE LOS GENES DEL SRA SOBRE LOS VALORES DE LA PRESION ARTERIAL SISTÓLICA Y DIASTOLICA POR MEDIO DE UN MODELO DE REGRESION LINEAL MULTIPLE

En la evaluación del efecto del polimorfismo sobre las cifras de tensión arterial sistólica y diastólica, se modelaron los valores promedios de estas medidas, porque el comportamiento de la variable "promedio de la presión arterial sistólica" (prompas) y de la variable "presión arterial diastólica" (prompad), no tenía una distribución normal,

como puede observarse en los gráficos que aparecen en el anexo O bajo el título "Gráfico 19. Distribución de los promedios de la presión arterial sistólica**".**

En cuanto a los valores promedios de la presión diastólica se puede observar en el mismo anexo el "Gráfico 20. Distribución de los promedios de la presión arterial diastólica", donde se observa que su ajuste no es exactamente igual a una curva normal.

Con esta evaluación gráfica y teniendo en cuenta los valores que daba el test de normalidad se decidió construir nuevas variables producto de la transformación de las dos anteriores: para prompas se construyó una variable con el inverso de la variable original es decir 1/prompas, y para el promedio de la diastólica se calculó el logaritmo natural de esta variable. Estas nuevas variables se evaluaron por medio de un test de normalidad como el Shapiro Wilk y se encontró que los valores de p para este test no tenían valores significativos, lo cual indicaba que tenían un comportamiento normal, como aparece en la **"**Tabla 32. Variables transformadas a partir de los promedios de la presión sistólica y de la diastólica", del anexo N.

La distribución de los datos del inverso del promedio de presión arterial sistólica se observa en el anexo O en una una curva titulada "Gráfico 21. Distribución del inverso de los promedios de la presión arterial sistólica", se puede observar que cumple con la distribución de una curva normal.

La curva de la distribución de la variable transformada a partir del promedio de la presión arterial diastólica, el logaritmo natural del promedio de pad se observa en el "Gráfico 22. Distribución de ln de los promedios de la presión arterial diastólica", en el anexo O.

Antes de construir el modelo se evaluó el supuesto de normalidad para la variable edad; el valor del test dio un p significativo para una distribución no normal, y el "Gráfico 23. Distribución de la variable edad", muestra una distribución sesgada a la derecha; sin embargo a pesar que estas variables no cumplían exactamente el principio de linealidad

exigido por la regresión lineal múltiple se decidió incluirlas en el modelo como variables continuas para facilitar su interpretación, y comparar con el modelo que incluía las variables transformadas.

Al generar el modelo de la regresión lineal múltiple ajustando por edad, sexo, raza y tomando la variable casos (hipertensos), como una variable independiente para evitar confusión, y eliminando además los casos que registraban tratamiento farmacológico para la hipertensión arterial; los valores de regresión mostraron que el polimorfismo heterocigoto ID y el homocigoto DD del gen ECA si afectaban las cifras de la presión sistólica incrementándola en los casos 30 mm Hg más que en los controles, este efecto no se observó en las cifras de la presión diastólica donde el aumento es solo de un (1) mm de Hg por encima de la cifra normal de 90 mm Hg.

Estos datos se presentan en el anexo O en la "Tabla 34. Resultados de la regresión lineal múltiple de la presión sistólica para los casos y los controles". El valor para los casos del estadístico F (9, 369) fue de 34.69 p=0.0000, lo cual indicó que las variables en el modelo eran significativas.

En la "Tabla 35. Resultados de la regresión lineal múltiple de la presión diastólica para los casos y los controles", se muestra que el valor para los casos del estadístico F (9, 369) fue de 19.72 p=0.0000, lo cual indicó que las variables en el modelo eran significativas también para la medida de la presión diastólica, aparece en el anexo O.

Al transformar la variable del promedio de la presión sistólica y de la presión diastólica los valores quedaron consignados en las "Tabla 36. Resultados de la regresión lineal múltiple del inverso del promedio presión sistólica para los casos y los controles" y en la "Tabla 37. Resultados de la regresión lineal múltiple del inverso del promedio presión diastólica para los casos y los controles"; estos valores de las tablas 36 y 37, permiten concluir que la contribución de estas variables al modelo es significativa, el valor de p significativo ($p>0.05$), así lo indica; sin embargo la interpretación de este modelo con estos valores no ofrece una explicación clara y fácil de entender, mientras

que el modelo con las variables no transformadas permite concluir que el efecto del polimorfismo ID y de DD sobre los casos de hipertensión que no están recibiendo tratamiento farmacológico afecta sus valores de presión arterial sistólica produciéndoles un aumento de 9 mm de Hg al portador de este polimorfismo en estado heterocigoto y en el homocigoto; efecto que no es significativo para el polimorfismo homocigoto asociado al riesgo de HTA, porque el valor de p del coeficiente para el polimorfismo es mayor a 0.05; lo contrario se observa para el polimorfismo ID con un valor de p=0.045; este efecto de aumentar los valores de la presión sistólica no se observa en los controles. Anexo O.

Para el caso del polimorfismo TT (T174M) homocigoto del AGT, que se observa en anexo O en la "Tabla 38. Resultados de la regresión lineal múltiple del promedio presión sistólica para los casos y los controles polimorfismo t174m", el valor del estadístico F indica que el efecto de las variables sobre los niveles de presión arterial es significativo, en el portador hipertenso sin tratamiento, varón, de raza negra, mayor de 50 años que no haga ejercicio y que sea obeso, causa un aumento de 11 mm Hg sobre los niveles considerados normales para la presión sistólica, efecto que no se evidenció para la presión diastólica.

En el caso del polimorfismo CC del gen del receptor (r1AT) el efecto no fue significativo sobre los valores de la presión arterial sistólica ni tampoco en la diastólica, en el sujeto portador que era hipertenso (caso), y no se encontró este genotipo en los controles, como se observa en las tablas 39 y 40 respectivamente, ubicadas en el anexo O: "Tabla 39. Resultados de la regresión lineal múltiple del promedio presión sistólica para los casos y los controles polimorfismo A1166C del r1AT" y "Tabla 40. Resultados de la regresión lineal múltiple del promedio presión diastólica para los casos y los controles polimorfismo A1166C del r1AT".

Al analizar el efecto de las variables del modelo definitivo el valor del estadístico F es significativo, sin embargo los valores de p no son significativos para las variables explicatorias principales y secundarias.

6.3.1 Evaluación del modelo de regresión lineal para la presión arterial sistólica y el polimorfismo del SRA. Al evaluar el modelo generado para el promedio de la presión arterial sistólica y el efecto que sobre ella tiene el polimorfismo homocigoto DD del gen ECA, asociado al riesgo de HTA se encontró que el modelo ajustaba, de acuerdo con las gráficas para residuales y de los valores estándar para la predicción que se encuentran en el anexo O "Gráfica 24 Valores residuales de la regresión lineal para promedio de presion arterial sistólica y el polimorfismo DD", y "Gráfica 25 Valores estándar para la predicción de la regresión lineal para promedio de presión arterial sistólica y el polimorfismo DD".

6.4 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE INTERACIÓN ENTRE LOS POLIMORFISMOS DEL SRA, EL SEXO, LA OBESIDAD Y LA EDAD

Respecto al tercer objetivo de esta investigación, que consistió en evaluar un posible efecto de interacción entre los polimorfismos del SRA: DD del gen ECA, TT del M235T gen AGT, MM del T174M y CC del r1AT, con otras variables como edad (agrupada en los individuos menores de 45 años y los mayores de 45 años), sexo y obesidad, (definida esta última variable por el IMC en el grupo de IMC $\geq$30), se procedió a construir un modelo de regresión logística no condicional solo con los casos de hipertensión, la variable de salida fue el polimorfismo de riesgo y se evalúo uno a uno los otros factores de riesgo que pudieran tener interacción con este polimorfismo (DD). En el siguiente cuadro se presentan estos resultados:

Tabla 41. Interacción del polimorfismo DD gen ECA y diferentes factores de riesgo de la HTA

Factor de riesgo		RRE	Intervalo de confianza 95%	Valor de p
Polimorfismo I/D gen ECA				
FORMA HOMOCIGOTA DD				
Sexo				
0: femenino	II	1.0		
0: femenino	ID	1.0		
0: femenino	DD	1.0		
1: masculino	II	1.0		
1: masculino	ID	0.69	(0.21, 10.6)	
1: masculino	DD	1.13	(0.37, 3.35)	
Edad grupo				
<45 años	II	1.0		
<45 años	ID	1.0		
<45 años	DD	1.0		
≥45 años	II	1.0		
≥45 años	ID	0.86	(0.27, 2.73)	0.798
≥45 años	DD	1.28	(0.41, 4.11)	0.673
Obesidad por el IMC				
<25 normal	II	1.0		
<25	ID	1.0		
<25	DD	1.0		
≥25- <30	II	1.0		
≥25- <30	ID	1.02	(0.40, 2.59)	0.957
≥25- <30	DD	2.22	(0.85, 5.84)	0.103
≥30	II	1.0		
≥30	ID	2.00	(0.72, 5.53)	0.181
≥30	**DD**	**3.65**	**(1.18, 11.28)**	**0.024**

Sobrepeso: IMC ≥25- <30 Obesidad: IMC ≥30

Se observa un efecto de interacción entre el polimorfismo DD asociado al riesgo de presentar HTA y el grupo de obesidad definido por el IMC (IMC ≥30), el valor de RRE fue 3.7 veces más alto que en el grupo de referencia, indicando que existe un riesgo igual para presentar HTA en los individuos que tengan obesidad, con un IC (1.18, 11.28) y la probabilidad de 0.034 es 0.024. Sin embargo en el modelo apareado y en el

modelo ajustado no se incluyó esta interacción a pesar de observarse un valor de RRE significativo para ella, porque al verificar sobre cuantas observaciones se obtuvieron estas conclusiones el grupo era reducido, se contó solo con 40 individuos que tenían el genotipo DD y eran obesos con un IMC ≥30; grupo que correspondío solo al 8% del total de sujetos analizados.

En el caso de los otros polimorfismos de los genes del AGT (MM de M235T y MM de T174M) y del r1ATII (CC de A1166C), no se encontró asociación significativa con el riesgo de presentar hipertensión arterial y la evaluación de la interacción tampoco mostró valores significativos.

6.5 EVALUACION DE LA ESTRUCTURA DE LA POBLACION ANALIZADA

Para determinar si en la población analizada se observaba el efecto de estructura que pudiera estar afectando la validez de los resultados obtenidos en el análisis de regresión condicional y en el de regresión logística ajustada por sexo y edad, se procedió a seleccionar entre los casos y los controles un grupo de individuos nacidos en Bucaramanga, los cuales fueron genotipificados para los marcadores STR (short tandem repeats) contenidos en el kit FFFL de Promega®, (F13A, F138, FES y LPL), que presentan más de una pareja alélica con un comportamiento de herencia codominante, que permite la expresión de ambos alelos en el individuo y aumenta la posibilidad de encontrar diferencias entre los sujetos analizados.

El tamaño de muestra correspondió a 100 personas de las cuales 57 fueron casos y 43 controles, se construyó con su información una base de datos en Excel®, la cual fue reestructurada por medio del programa MSA®, esto permitió analizarla por medio del Genepop (77); este programa a partir de las frecuencias alélicas hace un cálculo del índice de heterocigocidad observado y esperado para cada sistema , comparándolos por medio de un test de Anova y determinando a partir del valor de probabilidad si hay o no estructura en las dos poblaciones analizadas (casos y controles).

En la tabla 15 del anexo G, se encuentra la tabla resumen donde se detallan estos hallazgos que determinaron que no existía estructura en las poblaciones analizadas y por tanto la población de casos y de controles era una sola y los individuos eran comparables entre sí, eliminando la posibilidad de sesgo de selección en la elección de los sujetos en el estudio.

7. DISCUSIÓN

El polimorfismo homocigoto DD del gen de la ECA se comportó como un factor independiente de riesgo para la HTA esencial cuando se ajustó por las variables de raza, el antecedente de HTA en padre, o en la madre, el sedentarismo y la obesidad medida esta última por el IMC (IMC ≥30). El valor de la razón relativa de exposición fue significativo de RRE=1.94 (I de C 95%, 1.05, 3.59 p=0.0034), que equivale casi al doble del riesgo del grupo no expuesto a este polimorfismo, es decir los controles que portaban las otras formas del polimorfismo I/D: la homocigota II (RRE=1.0), que fue el de referencia y la forma heterocigota ID (RRE=1.44, I de C 0.79, 2.61 p=0.225). Esta asociación se ha observado en otras poblaciones de grupos caucásicos y orientales, y en estudios similares a éste donde se analizaron los polimorfismos de los tres genes del SRA, en los que se consideraron en todos los casos las mismas variables para el ajuste. En la cohorte del Framingham Heart Study con 3095 individuos el valor de RRE para la asociación entre el polimorfismo DD e HTA fue de 1.59 (, I de C 95%, 1.13, 1.18), mientras que la forma heterocigota ID fue de RRE=1.18 (I de C 95%, 0.87, 2.62), datos tomados del metanálisis hecho por Wang y Staessen y reportados por O´Donnel (28), en este estudio no se observó diferencias entre los valores registrados para hombres al compararlos con los de las mujeres, en la presente investigación este factor de sexo no es considerado porque se trata de un diseño pareado por sexo y edad; en población japonesa también se observó esta asociación significativa pero diferencial al comparar por sexos, con valores de RRE=1.75 (I de C 95% 1.21, 2.53), significativo en varones pero no en mujeres (28); efecto similar observó Ogihara (36), en los datos del estudio Suita que incluyó 5014 individuos entre 30 y 79 años al compararlos con los de la cohorte del Copenhagen City Heart Study el cual involucró 10150 personas, el valor del riesgo relativo ajustado (RR) para HTA en los hombres casos que portaban el polimorfismo DD fue de 1.75 veces más al comparar contra los que varones II japoneses, este efecto diferencial producido por el sexo se observó también al comparar la población de Suita contra la población de la cohorte Framinghan. Entre los españoles de acuerdo con el análisis hecho por Vicente Giner (1), los valores fueron más bajos y no significativos, los polimorfismos se agruparon de forma similar al modelo propuesto

en esta investigación, utilizando el polimorfismo homocigoto II como nivel de referencia; el valor de RRE ajustado para HTA en presencia de DD fue de 1.11 (I de C 95%, 0.61, 2.02 p=0.720); sin embargo el estudio hecho por Lindpaintner (69), con 3590 individuos caucásicos de la cohorte de médicos que se utilizaron en un ensayo clínico controlado para evaluar el efecto de la aspirina (ASA) y del betacaroteno en la presentación de la enfermedad cardiaca isquémica, considerando los factores de riesgo tradicionales y apareando por edad, no encontró valores significativos para la razón relativa de exposición (RRE), aunque empleó para el análisis del efecto el polimorfismo DD en el modelo aditivo (DD vs II), el RRE=1.08 (I de C 95%, 0.90, 1.20 p=0.16); no fue significativo tampoco el modelo de herencia recesiva (DD vs ID+II) RRE=1.09 (I de C 95% 0.92, 1.27 p=0.3); para el modelo de herencia dominante los valores fueron similares y no significativos, estos modelos no fueron ajustados por las otras variables del estudio; asociaciones similares se observaron también en un estudio realizado en población China con pacientes con trastornos metabólicos como dislipidemias, diabetes y síndrome metabólico, al agrupar a los sujetos del estudio en grupos con un solo síntoma (intolerancia a la glucemia, obesidad, dislipidemia), síndrome metabólico (SM), y normales, no encontraron diferencias significativos entre los individuos con HTA y el polimorfismo DD del gen ECA y los que no lo presentaban, pero sí se observó como asociado con el SM, no dan los datos de esta evaluación (47).

El último metanálisis hecho para observar el efecto del polimorfismo I/D y el M235T e HTA utilizando 25 bases de datos del Cochrane (80), no encontró asociación significativa con el riesgo de HTA en la población que presentaba el genotipo DD, RRE= 1.0 (I de C 95% 0.74, 1.36 p=0.98), ni tampoco cuando comparo solamente los alelos D vs I RRE=1.0 (I de C 95% 0.86, 1.17 p=0.98); los mismos autores en un estudio hecho con 1350 individuos caucásicos no encontraron valores significativos de la razón relativa de exposición en toda la población, pero si asociación diferencial por sexo utilizando un modelo aditivo para análisis del polimorfismo DD (DD vs II), el riesgo para HTA en las mujeres es casi una y media vez más que en varones con este genotipo , RRE=1.45 (1.04, 2.02).

Otros trabajos que tuvieron en cuenta estos factores para el análisis pero en los cuales no se hicieron los cálculos para determinar la razón relativa de exposición, y solo se limitaron a determinar las prevalencias de presentación de los polimorfismos en los individuos analizados, así como la de otros factores de riesgo como el sexo, la raza, el antecedente familiar, la obesidad, el fumar cigarrillo, el sedentarismo, encontraron diferencias significativas en las poblaciones expuestas al polimorfismo DD del gen de la ECA al compararlas contra las no expuestas, es el caso del trabajo de Wang y Staessen (28) en familias donde la frecuencia del alelo DD es mayor en los individuos de raza negra al compararlo con los caucásicos ($p<0.001$), y con los orientales ($p<0.001$), observó también asociación significativa con el antecedente familiar de HTA, aunque no da los datos de la misma, así como determinó que los valores de la presión arterial (PA), tenían pequeñas variaciones de acuerdo con el genotipo; diferentes resultados obtuvo el grupo español de investigación en enfermedades cardíacas (81), que no encontró ninguna diferencia en la distribución de los polimorfismos en la población analizada.

La asociación entre el polimorfismo DD del gen ECA se ha observado significativa con otras patologías cardiovasculares diferentes a la HTA, como el riesgo de enfermedad cardiaca isquémica (69), en la enfermedad coronaria los valores para la razón relativa de exposición de ser portador del genotipo DD son de RRE=1.26 (I de C 95% 1.15, 1.39 $p<0.0001$) (28); en el caso del infarto agudo del miocardio (IAM) (82) en 14 grandes estudios se encontró un valor para el RRE=1.57 (I de C 99% 1.38, 1.78); con el engrosamiento de las paredes de la aorta también se ha encontrado asociado de manera significativa el polimorfismo DD (83); el desarrollo de la enfermedad coronaria por arterioesclerosis de las coronarias presenta valores de seis veces más de riesgo para los casos positivos DD con OR=5.8 (I de C 95% 2.82, 11.93 $p<0.001$) (82, 84).

También se han visto asociaciones positivas con la insuficiencia renal (20), donde la respuesta al tratamiento con medicamentos bloqueadores de la ECA es variable al igual que en la nefroangioesclerosis e HTA, este último trabajo fue hecho en población

española que evidenció asociación del polimorfismo DD con el daño renal (85), los autores no muestran las cifras que soporten esta conclusión.

Destacando la importancia de estas asociaciones de riesgo que se han visto en diferentes poblaciones, los investigadores han intentado encontrar una relación directa del polimorfismo DD del gen ECA con los niveles en sangre de la Enzima Convertidora de la Angiotensina principal responsable del efecto vasopresor que aumenta las cifras tensionales, para esto han diseñado investigaciones tipo caso control utilizando población caucásica sana no emparentada (19, 30), y en otros casos grupos familiares compuestos por tríos de padres e hijo o un padre y hermanos (22), en los que se medían los niveles en plasma de la concentración de la ECA, encontrando que existía una diferencia significativa entre los valores más altos para la enzima en sangre en los individuos que exhibían el polimorfismo DD con un valor de p=0.001, al compararlos contra los que presentaron los polimorfismos II e ID; también observaron que el sexo afectaba el comportamiento de los niveles de la enzima, encontrándose que los hombres presentan valores más elevados; sin embargo en los dos estudios no se informa si estas diferencias fueron o no significativas.

De esto se dedujo que el efecto de los polimorfismos sobre los valores de la ECA en sangre está entre 28 y 47%, no se ha visto un efecto único, independiente, de este polimorfismo que directamente modifique las concentraciones plasmáticas de la enzima, el cual a su vez se vería reflejado sobre las cifras tensionales. Esto contribuye a afianzar la hipótesis de un gen principal o mayor, aún no encontrado, que actuaría junto con otros factores genéticos en el desarrollo de la HTA, el cual estaría ubicado cerca del polimorfismo I/D probablemente en desequilibrio de ligamiento, haciendo de este polimorfismo genético un buen marcador para detectar individuos a riesgo en la población santandereana.

En la presente investigación no se encontró que los otros polimorfismos de los genes del SRA, como son M235T y T174M del gen AGT y el A1166C del gen rAT1, presentaran asociación con el fenotipo HTA en los individuos casos; a diferencia de la asociación

significativa entre la HTA y la presencia del polimorfismo CC del rAT1, observado en el estudio de Bonnardeaux en caucásicos (43), el valor de la razón de riesgo para CC fue de RRE=2.05 p=0.01; similar efecto observó Kunz (25), sobre 5493 individuos blancos, donde el valor de la razón de riesgo fue significativo utilizando el modelo aditivo TT vs MM con RRE=1.20 (I de C 95% 1.11, 1.29 p=0.0001), este dato se incrementó al considerar dentro del modelo el centro de atención de donde venía el paciente y ajustar por historia familiar positiva, dando un RRE=1.43 (I de C 95% 1.25, 1.61); de igual forma esta asociación significativa del polimorfismo TT del gen AGT se observó en población japonesa en el estudio de Kato (28), sobre 2349 personas, el valor de la razón relativa de exposición fue de RRE=1.2 (I de C 95% 1.0, 1.4); resultados similares arrojó el metanálisis de Mondry (80), donde comparó 25 estudios con individuos de diferentes poblaciones, provenientes de la base de datos Cochrane, determinó una asociación significativa entre el polimorfismo TT del M235 del AGT e HTA con valor de RRE= 1.23 (I de C 95% 1.13, 1.34); sin embargo en población española el grupo de Giner (1) no encontró asociación con estos dos polimorfismos e HTA, los valores ajustados por los otros factores de riesgo considerados anteriormente fueron los siguientes: para el polimorfismo TT de M235 fue RRE=1.65 (I de C 95% 0.95, 2.86 p=0.075), y para el polimorfismo CC de A1166 del r1AT el RRE=1.12 (I de C 95% 0.73, 1.69 p=0.611); similar efecto observó Ogihara (36), en población japonesa en 180 casos y 195 controles, donde el valor de RRE para el polimorfismo TT fue 1.6, no da los valores del intervalo de confianza (I de C) ni el valor de la p de la razón relativa de exposición.

Queda claro que en las diferentes poblaciones donde estos polimorfismos genéticos del SRA se han estudiado para observar si están o no asociados con la HTA, las conclusiones al respecto no permiten un consenso definitivo sobre este tipo de asociación de riesgo ya que buena parte de los estudios muestran que los valores de las razones relativas de exposición son significativos para uno o dos polimorfismos pero en otras no es posible demostrar que el estado portador del alelo asociado al riesgo (DD del gen ECA, MM, o TT del gen AGT o CC del gen r1AT), sea suficiente para presentar el fenotipo hipertenso; estas diferencias pueden deberse al trasfondo genético de cada

población afectado por el comportamiento migratorio de las personas y a la gran mezcla poblacional; además debe tenerse en cuenta que existe una gama ya casi definida de factores de riesgo ambiental que de manera aislada o en conjunto puedan llevar a un individuo a tener HTA, lo que permite concluir que esta enfermedad es poligénica y multifactorial.

Al observar el comportamiento de las frecuencias de los polimorfismos del gen ECA se observa que los valores para la población santandereana analizada siguen una distribución similar a las frecuencias de los caucásicos, donde la prevalencia para el genotipo DD y el II son inferiores a la forma heterocigota del polimorfismo (ID), y se observa además diferencias significativas en la distribución que se encontró en el grupo de casos y en el de los controles, como se ve en los trabajos de Tiret (22), Bonnardeux (43), Arbustini (82), Kiema (34), Staessen (28), Fernández-Llama (49), Giner (1), Reich (57); diferente a la presentación de este polimorfismo en población oriental, en la cual el genotipo DD es el menos frecuente al compararse con el heterocigoto ID y con el homocigoto II como se puede ver en los resultados del estudio de Thomas (47), y de Nakano (48).

Los genotipos predominantes en M235 y en T174 del AGT fueron el polimorfismo TT del M235T y la forma TT de T174M, de acuerdo con las frecuencias alélicas donde los valores de T eran cuatro veces mayor al valor del alelo M, estos genotipos así como la forma alélica T en los estudios hechos en población caucásica para detectar asociación de los polimorfismos del AGT con HTA se han visto que son los genotipos de riesgo (35), (57); diferente a la distribución que tienen estos alelos en el trabajo de Jeunemaitre (86) en caucásicos, donde en un grupo de individuos que portaban el alelo M de T174M se encontró que predominaba en ellos el alelo T de M235T, el autor detectó en población francesa y en población americana que el genotipo TT se asocia en un 20% con una concentración más alta del AGT en plasma; sin embargo para este dato no da los valores de los intervalos de confianza ni el de la p. Las frecuencias donde predominó el alelo T o el genotipo homocigoto TT se parecen más a las encontradas en población oriental como se ve en los trabajos de Tsai (87) en chinos, y son similares a

las detectadas en las poblaciones negras, siendo diferentes a las frecuencias de las poblaciones caucásicas donde la distribución de los genotipos MM y TT del polimorfismo M235T son parecidas de acuerdo a lo informado por Kunz (25), y por los trabajos de Rodríguez-Pérez (72).

El efecto de este polimorfismo M235T y de la variante A(-6G) del gen AGT sobre la presión arterial en población española, aparece informado en el trabajo de Kiema (34), así como en los trabajos de Staessen (28), quienes encontraron además que la forma alélica T predominaba también en negros y asiáticos. En población española se ha reportado que las frecuencias de los alelos de M235T del AGT alcanzaron valores cercanos al 50% cada una, tanto en los casos como en los controles, según aparece en el metanálisis de Mondry (80), al igual que en el trabajo de Fernández-Arcas (85): se observó valores similares para los alelos T y M en población italiana sana (88).

Este alelo T de forma similar al alelo D del gen ECA se ha estudiado en otro tipo de enfermedad cardiovascular como la cardiomiopatía hipertrófica, donde no se ha demostrado una asociación significativa, de acuerdo con los resultados de los trabajos de Ishanov y Staessen (28); este último autor ha buscado en población caucásica asociación de riesgo con la enfermedad arterioesclerótica realizando aproximadamente 12 estudios en los cuales no ha encontrado asociación entre el genotipo TT y la arterioesclerosis OR combinado=1.16 (I de C 95% 0.76, 1.77 p=0.49).

Para el polimorfismo A1166C del gen r1AT las frecuencias en nuestra población mostraron casi una ausencia total de la forma homocigota para el alelo C (CC), como lo encontró Fernández-Arcas (85) o Giner en población española buscando asociación de los polimorfismos del SRA con HTA (1): en población oriental se ha encontrado un comportamiento similar de acuerdo con lo informado por los trabajos de Thomas en su análisis de la asociación de los polimorfismos del SRA con el síndrome metabólico en población china (47); en población afroamericana se ha visto que este polimorfismo es el más escaso y se observa en los individuos con HTA y en los controles no hipertensos, según el trabajo de Bonnardeux (43)¸ de la misma forma ha sido informado por Zhang

(44) en población alemana incluida en el "Monitoring trends and Determinants in Cardiovascular Disease (MONICA). Diferente fue lo detectado en japoneses por Miyamoto, quien encontró prevalencia del 11.7% en los casos y de 3.9% en los controles de la forma homocigota CC, siendo estadísticamente significativa esta diferencia, referenciados en el metanalisis de Staessen (28); Metimanno en población italiana sana detectó para el alelo C una prevalencia cercano a la cuarta parte de los valores para las frecuencias alélicas (88), el estudio fue hecho sobre 300 individuos quienes fueron genotipificados para el polimorfismo A1166C; Staessen al tomar 4332 individuos de 13 estudios y comparar las frecuencias para los genotipos CC vs AA encontró que predominaba la forma homocigota CC sobre la forma homocigota AA con valores de 28% y de 9.2% respectivamente, y el heterocigoto CA vs AA, predominó en caucásicos al comparar las frecuencias de estos contra la de los asiáticos y las diferencias fueron significativas con valor de p=0.001 (28).

Estas diferencias están mostrando que las frecuencias para los polimorfismos de los genes del SRA son afectadas por la raza o etnia que define un trasfondo genético particular para cada grupo poblacional; es así como las diferencias observadas entre las frecuencias de nuestra población santandereana al ser comparadas contra las detectadas en otros grupos humanos caucásicos, orientales y negros, pueden deberse a factores que van desde: los efectos de los genes fundadores, a las migraciones observadas ayer y hoy, condicionadas por el conflicto armado que vive nuestro país, así como a la deriva genética, que pudieron afectar la composición genotípica de los individuos que componen la población de donde se tomó la muestra para este estudio; todos estos efectos se reflejan en los valores de sus frecuencias polimórficas que muestran la gran mezcla de población caucásica con oriental y con negra que dio origen a nuestra población mestiza y que la hace tan diversa. Estos factores modificadores presentes en la población que va a ser objeto de un estudio de asociación, deben ser tenidos en cuenta en el momento de diseñar las encuestas para la recolección de los datos, donde además de solicitarle información al individuo sobre el sitio donde nació, debe ser interrogado con relación al lugar de origen de sus ancestros, padres y abuelos, para definir la

población de origen del sujeto analizado y considerarlo en el momento de la interpretación de los resultados.

Las frecuencias genotipicas para los polimorfismos del gen ECA y del gen r1AT se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW), similar a lo observado en la gran mayoría de trabajos revisados anteriormente (1, 19, 28, 80); sin embargo las frecuencias para los polimorfismos del gen AGT M235T y T174M no estaban en EHW en la población analizada, tenemos que en los casos este efecto corresponde a las frecuencias para T174 y en los controles fueron las frecuencias genotípicas para M235, las cuales se encuentran lejos de los valores de no significancia; este efecto de desequilibrio en las frecuencias genotípicas también se observó en otros estudios como en el de Metimano (88), llevado a cabo en población italiana, y por Mondry (80) en su análisis de la HTA en población alemana donde se estableció que este efecto era debido al exceso de heterocigotos MT (62.4%) y a la baja frecuencia de TT (3.7%), situación que no se presentó en la población santandereana donde la prevalencia del genotipo homocigoto TT corresponde al triple de la frecuencia del heterocigoto MT en los casos, llegando a no aparecer ningún genotipo homocigoto para MM en el caso del polimorfismo M235T para el gen AGT; para el polimorfismo T174M la frecuencia del genotipo heterocigoto TM en los controles fue cuatro veces la observada en los homocigotos TT para este marcador, mientras que el otro genotipo homocigoto MM tuvo una frecuencia muy baja correspondiendo solo al 0.5% del total de genotipos para este polimorfismo; como explicaciones posibles a este desequilibrio están los errores en la genotipificación en que pudieron haber incurrido las operarias del laboratorio debido a impericia o a falta de práctica en el desarrollo de las técnicas moleculares para esta clase de análisis, en este caso se descarta este clase de errores ya que las bacateriologas eran personas debidamente entrenadas, con experiencia certificada y con un ejercicio profesional de más de 7 años de trabajo en el laboratorio de molecular; así como la buena definición de las bandas en los geles de agarosa utilizados en las electroforesis, el uso de un marcador de peso molecular que permitió comparar los tamaños de las bandas de los polimorfismos observados, el empleo de patrón positivo y patrón negativo en cada amplificación y en cada corrida electroforética lo cual garantizaba la calidad de

las genotipifaciones observadas; otra causa posible es el tamaño de muestra que en este caso se optimizo al aparear por sexo y edad a los casos y a los controles, ya que mientras más grande sea la muestra esta clase de desequilibrio se puede evitar; el mayor número de casos que de controles es otra posible fuente de error tal como fue citado por Tiret (22), en nuestro caso se observa esto ya que el número de casos fue de 255 y el de controles fue de 231, la diferencia esta en 24 individuos los cuales pudieron haber afectado el EHW para este marcador que presentó un comportamiento en sus frecuencias muy diferente a los otros polimorfismos cuando se comparó las prevalencias de sus genotipos con la de poblaciones caucásicas, orientales y negras; la última fuente de error citada por Tiret es la diversidad en el origen de los controles que se utilizan para estos estudios poblacionales sin embargo en esta investigación se obtuvieron los controles de la misma población de origen de los casos.

No se detecto efecto de estructura en la población que se analizó, los valores de las frecuencias genotípicas para los polimorfismos short tandem repeats (STR) del sistema FFFL®, las cuales estaban en EHW y sus frecuencias no mostraron una estratificación en la población seleccionada, como tampoco se observó esto para los polimorfismos de los genes del SRA; lo cual permite concluir que los controles si son comparables con los casos y provienen de la misma población que dio origen a los casos.

No hubo efecto de los polimorfismos del SRA sobre los valores de las presiones medias arteriales sistólica (PAS) y diastólica (PAD), cuando estos genotipos fueron considerados como la variable de salida y la variable ser caso o ser control fue incluida en el modelo; esta asociación de efecto fue buscada solamente en los individuos casos que no estaban en tratamiento, ya que si se hubiera considerado los casos tratados era posible que el tratamiento confundiera el efecto de los polimorfismos y no permitíría ver si estos afectaban las cifras, tal como aparece citado por Staessen y fue observado por Takami (28) en población japonesa sobre 536 sujetos analizando solamente los polimorfismos del gen r1AT, así como por Giner (1) en población española donde las diferencias de las cifras promedios de la PAS y de la PAD no se afectaron por los polimorfismos del SRA; sin embargo él si encontró que en sus controles

genotipificados para M235 y que presentaban el polimorfismo homocigoto para TT sus cifras de PAD si fueron significativamente elevadas, los autores no dan el dato. Efectos diferentes encontraron otros autores entre los que tenemos a Wan y Staessen (28) quienes en 74 grupos con 12230 individuos detectaron pequeñas variaciones de las cifras tensionales los cuales dependían de los genotipos, los autores no dan los datos; en población italiana donde observaron en 125 casos sin tratamiento que las cifras de PAS y PAD se asociaban de manera lineal y significativamente con el alelo C del polimrfismo A1166C del r1AT ajustando por sexo, edad, IMC, alcohol y el polimorfismo M235T, no dan las cifras; así como en italianos hospitalizados donde el genotipo homocigoto CC en el modelo recesivo (CC vs CA+AA) se asociaba a disminución en las cifras de PAS y PAD.

Las discrepancias en los resultados encontrados sobre el efecto lineal de los polimorfismos en las cifras de PAS y PAD están señalando que pueden existir otros genes de los cuales dependerían estas variaciones y su expresión dependería del trasfondo genético de cada población.

La interacción del polimorfismo DD del gen ECA con relación a la obesidad medida por IMC (IMC $\geq$ 30), que fue observada al hacer un modelo de regresión logística no condicional, pudiera indicar que en los sujetos obesos las concentraciones de la enzima en sangre son mayores y por tanto la vasopresión es persistente y pudiera contribuir a desencadenar junto con otros factores genéticos y ambientales el aumento en las cifras de tensión arterial.

El sesgo de selección que pudiera estar afectando estos resultados se controló cuando los controles fueron seleccionados de la misma población de donde provenían los casos; el sesgo de clasificación que pudo cometerse en la genotipificación de los individuos analizados se controló de varias formas, en principio quienes hacían las pruebas no conocían la condición de caso o control del individuo, en segundo lugar las bandas de los genotipos de los polimorfismos que no se observaban claramente en la electroforesis eran repetidas, la tercera medida fue utilizar controles positivos y negativos en cada uno

de los pasos de la prueba donde era posible hacerlo, en cuarto lugar los reactivos utilizados fueron sometidos a controles rigurosos por las empresas productoras garantizando su calidad; el sesgo de confusión se controló por medio de la forma como se hizo el análisis epidemiológico, utilizando la regresión logística condicional.

8. EVALUACION CRÍTICA DE LOS RESULTADOS

8.1 POSIBLES SESGOS DEL ESTUDIO

- Sesgo de selección: se pudo dar este sesgo debido a las pérdidas que se presentaron por que no amplificaron las muestras de algunos individuos tanto caso como control; aunque estos individuos tenían una edad promedio de 55 años y eran personas de ambos sexos, presentaron diferencias significativas en los valores de presión arterial diastólica al compararlos con los sujetos que se quedaron en la investigación, mostrando con esto que eran diferentes.

- Sesgo de clasificación: se pudo reducir en lo posible los errores de clasificación a la exposición, ya que se contó con un equipo de laboratorio experimentado (laboratorio de genética de la Facultad de salud de la UIS), en la realización de pruebas moleculares para genotipificar los individuos; además de contar con reactivos de buena calidad y con controles positivos y negativos que permitió disminuir al máximo la mala interpretación de los resultados; así como con el enmascaramiento de las operadoras en el momento de la realización de las genotipificaciones .

- Sesgo de confusión: el diseño de casos y controles apareado por sexo y edad y el modelamiento de estas posibles variables confusoras permitió controlar este sesgo.

9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Se estableció una asociación de riesgo entre el polimorfismo DD del gen de la ECA y la HTA, en un grupo de la población santandereana proveniente de los estratos 2 y 3 de la ciudad de Bucaramanga, considerando además otros factores personales como el antecedente de tener un padre o una madre hipertensos, el sedentarismo y la obesidad.

2. Las frecuencias genotipicas del polimorfismo DD del gen ECA, presentaron diferencias significativas en su distribución en los individuos que tenían hipertensión arterial esencial (casos) con relación a los individuos que no tienen cifras tensionales aumentadas.

3. Los individuos que poseen el polimorfismo DD del gen ECA tienen un riesgo mayor de casi dos veces más de presentar hipertensión arterial esencial con respecto a los sujetos que presentan otros polimorfismos para el gen ECA.

4. Los polimorfismos del AGT y del r1AT no presentaron asociación alguna con respecto a la HTA.

5. El estudio apareado por sexo y edad tiene suficiente poder (> 80%), para determinar asociaciones con RRE≥2.0 en poblaciones mestizas como la santandereana.

6. Existe un efecto de interacción aditiva con el polimorfismo DD del gen ECA en los individuos que tienen obesidad.

7. La población santandereana analizada en esta investigación es una mezcla de diferentes influjos raciales, lo cual determinó desequilibrio en la distribución de las frecuencias genotipicas en el grupo de controles y de casos para algunos polimorfismos del SRA, como el M235 y el T174 del AGT.

8. Este estudio de epidemiología molecular es el primero en su género en determinar si una población analizada mediante el diseño de casos y controles presenta subestructura poblacional; en este caso no se observó esta característica en el grupo analizado.

9.1 Recomendaciones

- Continuar investigando el efecto de otros polimorfismos genéticos como los SNP (single nucleotide polymorphism), y su relación con la HTAE, para determinar si su comportamiento es similar o disímil al presentado en otras poblaciones.

- Plantear estudios de intervención farmacológica en los grupos a riesgo y observar si la respuesta a la medicación tiene o no relación con los polimorfismos genéticos.

- Para próximos estudios epidemiológicos determinar desde el inicio el sitio de nacimiento de los individuos analizados y si padres y abuelos proceden de la misma región.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Giner V, Conella D, Chaves FJ, Pascual JM, Portoles O, Marin P, Lozano JV, Armengod ME, Rendon J. Polimorfismos de sistema Renina-Angiotensina e hipertensión arterial esencial en población española. Med. Clin Barcelona 2001; 117:525-529.
2. Mettimano M, Lanni A, Migneco A, Specchia ML, Romano-Spica V, Savi. Angiotensin related genes envolved in essential hypertension: allelic distribution in an Italian population simple. Ital. Heart J. Aug 2001; 2(8):589-593.
3. Zoorob RJ, Abuzafar MA, Morelli V. Cardiovascular disease. Hypertension. Primary care; Clinics in office practice Sep 2000; 27(3):1-17
4. Griendling KK, Murphy TJ, Alexander RW. Molecular biology of the Renin-Angiotensin system. Circulation Jun 1993; 87(6):1816-1828.
5. Ramírez J, Modulación hormonal de la función miocárdica en la insuficiencia cardiaca. En: Chalem F; Campos J, Esguerra R. Ed. Medicina Interna. Bogotá: Editorial del Instituto de Reumatología e inmunología, 1997; 1310-1321.
6. Murray CJ. Mortality by cause for eight regions of the world: Global Burden of Disease Study. Lancet, 1997: 1269-1276.
7. Yusuf RS, Ounpuu S, Anand S. Global burden of cardiovascular diseases: part I: general considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. Circulation, 2001: 2746-2753.
8. Estrada SM. Epidemiología de la enfermedad cardiovascular. En: Cardiología Scd, ed. Bogotá, 2000.

9. Hernández-Hernández MC, Armas-Padilla MJ, Armas-Hernández M, Velasco M. Prevalence of hypertension and the state of cardiovascular health in Venezuela and surrounding nations. Ethn Dis 1998; 8: 398-405.

10. Rodríguez P. La mortalidad en Colombia 1953-1991. Instituto Nacional de Salud. Bogotá, 1993.

11. García E, Ramírez H. Diagnóstico de la hipertensión arterial. En: Cardiología Scd, ed. Bogotá, 2000.

12 Parati G, DiRienzo M, Ulian L, Santucciu C, Girard A, Elghozi J-L, Mancia G. Clinical relevant of blood pressure variability. J. Hypertens. 1998; 16 (suppl 3): S25-S33.

13. Cutler JA. High blood pressure and end-organ damage. J. Hypertens. 1996; 14 (suppl 6): S3-S6.

14. NIo. H, NHaB. INHBPE P. The Sixth Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. Bethesda, MD., 1997.

15. Carretero OA, Oparil S. Essential Hypertension: Part I: Definition and etiology. Circulation January 25 2000; 101(3): 1-11.

16. Ministerio de Salud República de Colombia. III Estudio Nacional de salud bucal -ENSAB III, II Estudio Nacional de factores de riesgo de enfermedades crónicas – ENFREC II. Bogotá 1999; Tomo III: 28-38.

17. Bautista LE, Vera-Cala LM, Villamil L, Silva S, Peña I, Luna L. Factores de riesgo asociados con hipertensión arterial en adultos de Bucaramanga, Colombia. Salud Pública Mex 2002; 44: 399-405.

18. Mueller RF, Young ID. Elements of medical genetics. 1ª Ed. Edinburgh: Churchill Livingston; 1998.

19. Inoue I, Nkajima 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.

20. Martínez V, A. Polimorfismos del sistema Renina-Angiotensina en insuficiencia renal. Nefrología 2002; 22(8):89-94.

21. Cambien F, Evans A. Angiotensin I converting enzyme gene polymorphism and coronary heart disease. Eur Heart J. 1995; 16 Suppl K: 13-22.

22. Tiret L, Rigat B, Visvikis S, Breda C, Corvol P, Cambien F, et al. Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. Am J Hum Genet 1992; 51(1): 197-205.

23. van Geel PP, Pinto YM, Voors AA, et al. Angiotensin II type 1 receptor A1166C gene polymorphism is associated with an increased response to angiotensin II in human arteries. Hypertension 2000; 35: 717-721.

24. Pamies E, Palmero C, Carneado de la Fuente J. Polimorfismos del sistema Renina Angiotensina y enfermedad hipertensiva. Hipertensión 1998; 15: 272-278.

25. Kunz R, Kreutz R, Beige J, Distler A, Sharma AM. Association between the angiotensingen 235T variant and essential hypertension in whites. A systematic review and methodological appraisal. Hypertension 1997; 30: 1131-1137.

26. Ishigami T, Tamura K, Fujita T, Kobayashi I, Hibi K, Kihara M, et al. Angiotensinogen polymorphism near transcription start site and blood pressure: role of a T to C transition at intron I. Hypertension 1999; 34: 430-434.

27. Wang WY, Zee RY, Morris BJ. Association of angiotensinogen II type 1 receptor gene polymorphism with essential hypertension. Clin Genet 1997; 51: 31-34.

28. Wang JG, Staessen JA. Genetic polymorphisms in the renin-angiotensin system: relevance for susceptibility to cardiovascular disease. Eur. J. Pharmacol. 2000; 410: 289-302.

29. Costerousse O, Allegrini J, Lopez M, Alhenc-Gelas F. Angiotensin I-converting enzyme in human circulating mononuclear cells: genetic polymorphism of expression in T-lymphocytes. Biochem J 1993; 290: 33-40.

30. 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.

31. Cicoira M, Zanolla L, Rossi A. Failure of aldosterone suppression despite angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor administration in chronic heart failure is associated with ACE DD genotype. J Am Coll Cardiol 2001; 37: 1808-12.

32. Murphey LJ, Gainer JV, Vaughan DE, Brown NJ. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism modulates the human in vivo metabolism of bradykinin;. Circulation 2000; 102: 829-32.

33. Mondorf UF, Russ A, Wiesemann A, Herrero M, Oremek G, Lenz T. Contribution of angiotensin I converting enzyme gene polymorphism and angiotensinogen gene polymorphism to blood pressure regulation in essential hypertension. Am J Hypertens 1998; 11: 174- 183.

34. Kiema TR, Kauma H, Rantala AO, Lilja M, Reunanen A, Kesaniemi YA, Savolainen MJ. Variation at the angiotensin-converting enzyme gene and angiotensinogen gene loci in relation to blood pressure. Hypertension Dec 1996; 28 (6): 1070-5.

35. Caulfield M, Lavender P, Farrall M, et al. Linkage of the angiotensinogen gene to essential hypertension. N.Engl.J.Med. 1994; 330: 1629-1633.

36. Ogihara T, Katsuya T, Higaki J. Genetic analysis of essential hypertension in Japanese populations. Ann. N.Y. Acad.Sci. 2000; 902:8-16.

37. Griendling K, Murphy TJ, Alexander RW. Molecular biology of the Renin-Angiotensin System. Circulation Jun 1993; Vol 87 (6): 1816- 1828.

38. Davies EBA, Lathrop G. M, Corvol, P. Clauser E, Soubrier, E. Angiotensin II (type1) receptor locus: CA repeat polymorphism and genetic mapping. Human Mol. Genet 1994; 3:838.

39. Bernestein KE, Alexander RW. Counterpoint: Molecular analysis of the Angiotensina II receptor. Endocrine Rev 1992; 13: 381- 386.

40. Milan Ma, Carvallo P, Izumi S-I, Zemel S, Catt KJ, Aguilera G. Novel sites of expression of functional Angiotensina II receptors in the late gestation fetus. Science 1989; 244: 1340- 1342.

41. Davis GK, Roberts DH. Molecular genetics of the renin-angiotensin system: implications for angiotensin II receptor blockade. Pharmacol.Ther. 1997; 75:43-50.

42. Fornage M, Amos C, Kardia S, Sing C, Turner S, Boerwinkle E. Variaton in the renin of the Angiotensin-Converting enzyme gene influences interindivual differences in blood pressure levels in young white males. Circulation 1998; 97: 1773- 1779.

43. Bonnardeaux A, Davies E, Eunemaitre S, Fery I, Charru A, Clauser E, et al. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism in human essential hypertension. Hypertension 1994; 24: 63- 69.

44. Zhang X, Erdmann J, Regitz-Zagrosek V, Kurzinger S, Hense HW, Schunkert H. Evaluation of three polymorphisms in the promoter region of the angiotensin II type I receptor gene. J Hypertens. 2000; 18: 267- 272.

45. Kainulainen K, Perola M, Terwilliger J, et al. Evidence for involvement of the type 1 angiotensin II receptor locus in essential hypertension. Hypertension 1999; 33: 844- 849.

46. Crews DE, Williams SR. Molecular aspects of blood pressure regulation. Hum.Biol. 1999; 71: 475- 503.

47. Thomas GN, Young RP, Tomlinson B, Woo KS, Sanderson JE, Critchley JA. Renin-angiotensin-aldosterone system gene polymorphisms and hypertension in Hong Kong Chinese. Clin.Exp Hypertens. 2000; 22: 87- 97.

48. Nakano Y, Oshima T, Hiraga H, Matsuura H, Kajiyama G, Kambe M. DD genotype of the angiotensin I-converting enzyme gene is a risk factor for early

onset of essential hypertension in Japanese patients. J Lab Clin Med 1998; 131 502- 506.

49. Fernandez-Llama P, Poch E, Oriola J, et al. [Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and essential hypertension]. Med Clin (Barcelona) 1999;112:561-564.

50. Rodriguez-Perez JC, Rodriguez-Esparragon F, Hernandez-Perera O, et al. Association of angiotensinogen M235T and A (-6)G gene polymorphisms with coronary heart disease with independence of essential hypertension: the PROCAGENE study. Prospective Cardiac Gene. J.Am Coll Cardiol 2001; 37: 1536- 1542.

51. Morris BJ. Hypothesis: an angiotensin converting enzyme genotype, present in one in three caucasians, is associated with increased mortality rate. Clin.Exp.Pharmacol.Physiol 1996; 23: 1- 10.

52. Capucio FP, MacGregor GA, Sagnella GA. Angiotensin converting enzyme gene I/D polymorphism, blood pressure and the renin-angiotensin system in Caucasian and Afro-Caribbean peoples. J Hum Hypertes. 1996; 10: 31- 35.

53. Rotimi C, Puras A, Cooper R, et al. Polymorphisms of renin-angiotensin genes among Nigerians, Jamaicans, and African Americans. Hypertension 1996; 27: 558- 563.

54. Bautista LE, Ardila ME, Gamarra G, Vargas CI. Angiotensin-Converting Enzyme Gene Polymorphism and Risk of Acute Myocardial Infarction in the Colombian Population. Med Sci Monit, 2004; 10(8):CR473-479.

55. Hartl D, Clark AC. Principles of populations genetics. 3ª Ed. Sinauer associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts, 1997:71-109.

56. Pritchard Johnathan. Use of unliked genetic markers to detect population stratificacion in association studies. Am J Hum Genet. 1999; 65:220-228.

57. Reich D, Goldstein D. Detecting association in a case-control study while correcting for population stratification. Genetic epidemiology 2000; 20:4-16.

58. Weir B, Cockerham C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution 1984; 38(6):1358-1370.

59. Goudet J., Raymond M., de Meeus T., Rousset F. 1996. Testing differentiation in diploid populations. Genetics 144:1933-1940

60. Neigel J. 2002. Is Fst obsolete?. Conservation Genetics 3:167-173

61. Falush D., Stephens M., Pritchard J. 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies. Genetics 164:1567-1587

62. Bautista L, Oróstegui M, Vera L. Prevalencia de Factores de Riesgo para Enfermedades Crónicas No Transmisibles en la Población de Bucaramanga. Encuesta Basal del Programa CARMEN. Bucaramanga. 2000.

63. Bautista LE, Oróstegui M. Prevalencia de factores de riesgo para enfermedades crónicas no transmisibles en la población de Bucaramanga. Encuesta basal. documento básico. B/manga: 21 de Julio 2001.

64. U.S. Department of Health and Human Services, PHS. NHANES III. Anthropometric Procedures Video. U.S. Goverment Printing Office Stock Number 017-022-01335-5. Washington, D.C.: U.S. GPO, Public Health Service; 1996.

65. Yussuf S, et al. INTER-HEART. A Global Case Control Study to Identify the Risk Factors for Acute Myocardial Infarction in Different Ethnic Populations. McMaster University Project Office: Hamilton, Ontario, Canada, 1999.

66. Manual de instrucciones para la encuesta CARMEN 2000.

67. Checkoway H, Pearce N, Crawford-Brown D. Case-control Studies Research Methods in Occupational Epidemiology. Oxford: Oxford University Press 1989.

68. STATA 8.0 Statistics Data Analysis. Stata corporation 4905 Lakeway drive. College station. Texas 77845 USA.

69. Lindpaintner K, Pfeffer MA, Kreutz R, Stampfer MJ, Grodstein F, LaMotte F, et al. A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart diseas. 1995; 332(11):706-711.

70. Hingorani AD, Brown MJ. A simple molecular assay for the C1166 variant of the Angiotensin II type 1 receptor gene. Biochemical and Biophysical research communications 1996; 231 (2): 725-729.

71. Budowle B, Smith JAL, Moretti T, DiZinno J. DNA Typing Protocols: Molecular Biology and Forensic Analysis. Washington, D.C.: The Federal Bureau of Investigation. 2002.

72. Rodríguez-Pérez JC, Rodríguez-Esparragón FJ, Hernández-Perea o, Fiuza-Pérez MD, Anabitarte-Prieto A, Losada-Cabrera A. Effects of the angiotensinogen gene M235T and A(-6)G variants on blood pressure and other vascular risk factors in a Spanish population.J Hum Hypert 2000; 14: 789-793.

73. Griffiths AJF, Miller J, Lewontrin R, Gelbart W. Genética de las poblaciones y la evolución. En: Genética Moderna. 1ª Ed. Madrid: Mc Graw-Hill-Interamericana, 2000; 535-573.

74. Wacholder S, Rothman N, Caporaso N. Population Stratification in Epidemiologic Studies of Common Genetic Variants and Cancer: Quantification of Bias. J Nat Cancer Inst 2000: 92: 1151-1158.

75. Kelsey JL, Douglas Thompson W, Evans AS. Cases-Control studies II. Further design considerations analysis. En: Methods in observational epidemiology: N.Y: Oxford University press, 1986; Cap 9:214-242.

76. Hosmer D, Taber S, Lemeshow S. The importante of assesing the fit of logistic regression models: A case study. Am J Public Health 1991; 81 (12):1630-1635.

77. http:\\ www.genepop.com. Programa Genepop web version 3.4.

78. Pritchard J, Donnelly P. Case-control studies of association in structured or admixed population. Publish online July 5 2001; pritch@stats.ox.ac.uk.

79. República de Colombia. Ministerio de Salud pública. Resolución 8430 de 1993.

80. Mondry A, Loh M, Liu P, Zhu A-L, Nagel M. Polymorphisms of the insertion / deletion ACE and M235T AGT genes and hypertension: surprising new findings and meta-analysis of data. BMC Nephrology 2005; 6:1-11.

81. Grupo español de genética e Hipertensión arterial de la Sociedad española de hipertensión/Liga Española de lucha contra la Hipertensión arterial. Polimorfismos genéticos del sistema renina-angiotensina e hipertensión arterial esencial. Med Clín (Barce) 2000; 118(15):575-579.

82. Arbustini E, Grasso M, Fasani R, Klersy C, Diegoli M, Portu E, Banchieri N, Fortína P, Danesino C, Specchia G. Angiotensin convertine enzyme gene deletion allele is independently and strongly associated with coronary atherosclerosis and myocardial infarction. Br Heart J 1995; 74:584-591.

83. Nakai K, Itoh C, Miura Y, Hotta K, Musha T, Itoh T, et al. Deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with serum ACE concentration and increased risk for CAD in the Japanese. Circulation 1994; 90(5):2199-202.

84. O´Malley JP, Maslen ChL, Illingworth R. Angiotensin-converting enzyme and cardiovascular disease risk. Current Opinion in Lipidology 1999; 10: 407-415.

85. Fernández-Arcas N, Diegues-Lucena JL, Muñoz-Moran E, Ruiz-Galdon M, Espinosa-Caliani S, Aranda-Lara P, Rius-Diaz, F, Gaitan-Arroyo MJ, De Teresa-Galvan E, Reyes-Engel A. Both alleles of the M235T polymorphism of the anogiotensinogen gene can be a risk factor for miocardial infarction. Clin Genet 2001 Jul; 60 (1): 52-7.

86. Jeunemaitre X, Inoue I, William C, Charru A, Tichet J, Powers M, Sharma AM, Gimenez-Roqueplo AP, Hata A, Corvol P, Lalouel JM. Haplotypes of Angiotensinogen in essential hypertension. Am J Hum Genet 1997;60:1448-1460.

87. Tsai ChT, Fallin D, Chiang FT, Hwang JJ, Lai LP, Hsu KL, Tseng ChD, Liau ChS, Tseng YZ. Angiotensinogen gene haplotype and hypertension. Interaction with ACE gene I allele. Hypertension 2003; 41:9-15.

88. Mettimano M, Lanni A, Migneco A, Sepecchia ML, Romano-Spica V, Savi L. Angiotensin-related genes involved in essential hypertension: allelic distribution in an Italian population sample. Ital Heart J 2001 Aug;2(8):589-93.

89. Deng HW, Chen WM, Recker RR. Population admisture: Detection by Hardy-Weinberg test and its quantitative effects on linkage-disequilibrium methods for localizing genes underlying complex traits. Genetics, February 2001; 157: 885-897.

90. Hosking L, Lumsden S, Lewis K, Yeo A, McCarthy L, Bansal A, Riley J, Purvis I, Xu CF. Detection of genotyping errors by Hardy-Weinberg equilibrium testing. European Journal of human genetics 2004; 12: 395-399. 91. Ministerio de la Protección Social. Indicadores epidemiológicos de Colombia. Años 2000-2003.

92. Bautista LE, López-Jaramillo P, Vera LM, Casa JP, Otero JC, Guaracao AI. Is C-reactive protein an independent risk factor for essential hipertensión? Bucaramanga 2002.

93. Rincón S, Gamarra G, Vera LM, Jerez H. Valoración del riesgo cardiovascular global y prevalencia del síndrome metabólico en trabajadores de la salud. Acta médica colombiana 2004; 29:312-321.

11. ANEXOS

11.1 ANEXO A

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Código de barras

Encuesta de factores de Riesgo para Enfermedades Crónicas No Transmisibles en la Población de Bucaramanga
FORMA 5: Consentimiento Informado Individual

La Universidad Industrial de Santander, las Secretarias Departamental y municipal de salud y la Organización Panamericana de la Salud, OPS están haciendo un estudio sobre problemas de salud en Bucaramanga. El objetivo del estudio es conocer la cantidad de personas afectadas por enfermedades crónicas, como las enfermedades del corazón y el cáncer por ejemplo, y la cantidad de personas que tienen factores que las hacen más susceptibles a adquirir este tipo de enfermedades. Esta información se usará para desarrollar un programa de prevención de estas enfermedades llamado CARMEN. La finalidad del programa CARMEN es reducir los casos y las muertes por enfermedades crónicas en la población de Bucaramanga y posteriormente en todo el país.
Si dentro de las personas de su familia que están entre 15 y 64 años de edad. Si Ud. decide participar en el estudio le haremos una entrevista hablada; en esta entrevista le preguntaremos sobre algunas enfermedades que Ud. podría haber padecido, sobre algunos comportamientos como hacer ejercicio, fumar y tomar alcohol, y sobre sus hábitos alimenticios.
Además, si Ud. acepta participar, le invitaremos a asistir a una evaluación médica en un local cercano a su vivienda. En esa evaluación le tomaremos la presión arterial, lo pesaremos y le mediremos la cintura y la cadera. También le tomaremos una muestra de aproximadamente cuatro cucharadas de sangre (40 ml), en vario tubos. Ese día Ud. tendría que asistir en ayunas (sin tomar nada diferente al agua desde la noche anterior) para tomarse la muestra de sangre. La muestra se tomará con agujas nuevas y con equipo estéril para su seguridad. La toma de la muestra de sangre le puede ocasionar un dolor leve. En algunas personas se puede formar un hematoma (morado) en el lugar de la punción, que desaparece en el transcurso de una semana. La muestra de sangre se usará ahora para medir su nivel de azúcar y colesterol. Estas se guardarán y en un futuro, podrían usarse para otras investigaciones incluyendo estudios genéticos. En tal caso, dichos estudios tendrían que ser autorizados por un comité de ética en investigación.
Todos los datos recolectados en esta encuesta, incluyendo los resultados de pruebas usadas en futuros estudios serán confidenciales y sólo se usarán para los propósitos del mismo. En ningún caso los participantes será identificados de forma individual.
Es bueno que Ud. tenga presente que aún si decide participar en el estudio, Ud. tiene el derecho de negarse a contestar cualquier pregunta o hacerse cualquiera de las mediciones que se harán en el estudio.
Los riesgos derivados de su participación en este estudio son mínimos. Sin embargo, Ud. podría beneficiarse directa e indirectamente. Si Ud. participa en el estudio los resultados de sus pruebas (de Colesterol y Glicemia), le serán entregados a fin de que puedan serles útiles en su cuidado médico regular. Además, si alguna de sus pruebas es anormal, Ud. recibiría consejería sobre dónde y cuándo buscar asistencia. Por otra parte, los resultados del estudio servirán para desarrollar un programa de prevención de enfermedades crónicas que será de beneficio para toda la comunidad.
Si Ud. tiene alguna pregunta adicional sobre este estudio, Ud. puede contactar a las doctoras: Myriam Orostegui Arenas y Rocío del Pilar Palmera Suárez, en el Centro de Investigaciones Epidemiológicas de la Universidad Industrial de Santander, al teléfono 6345781 y la doctora Maria Enoris Arango, de la Secretaria Departamental de Salud de Santander, al teléfono 6336233 extensión 245.
Acepta Ud. participar en este estudio? ____ Si _____ No
* Nombre del participante _____ Firma _____ C.C. _____
* Nombre del padre, madre o tutor _____ Firma _____ C.C. _____
(Si es menor de 18 años)
Nombre encuestador _____ Firma _____
Fecha __ __/día __ __/mes __ __/año

INFORME SOBRE LA EJECUCION PRESUPUESTAL DEL PROYECTO

RUBRO	APORTES COLCIENCIAS	CONTRAPARTIDA UIS	RECURSOS EN MILES DE PESOS
PERSONAL	15184	61679	76863
EQUIPO	20000	197090	217090
VIAJES	0	10500	10500
MATERIALES	852	0	852
BIBLIOGRAFIA	1000	0	1000
CONSTRUCCIONES	0	12000	12000
PUBLICACION	0	200	200
MANTENIMIENTO DE OFICINA	0	12000	12000
SOFTWARE	1000	0	1000
EVALUACIÓN Y SEGUIMIENTO DEL PROYECTO	7500	0	7500
SERVICIOS TECNICOS	62022	0	62022
TOTAL	105062	293469	398531

11.2 ANEXO B

Tabla 1. Factores de riesgo para desarrollar HTA

TITULO	AUTORES	DISEÑO	MUESTRA	RESULTADOS
Factores de riesgo asociados con la prevalencia de HTA en adultos de Bucaramanga, Colombia.	Bautista LE, Vera-Cala LM, Villamil L, Silva S, Peña I, Luna L. Salud pública de Mex. 2002; 44: 399-405.	Encuesta transversal de base poblacional.	365 adultos, con edades mayores a 20 años.	MPS y MPD en hombres 122.5 y 88.1 mm Hg, y en mujeres 117.2 y 75.4 mm Hg, significativa la diferencia. La PS ajustada aumentó con la edad, más en hombres que en mujeres. La PD no cambio con la edad. Por cada aumento de un Kg/m^2 la PS aumentó en 0.76 mm Hg. Con respecto al ESE, los participantes del bajo tuvieron PS 6.82 y PD 9.8 mm Hg mayor que los del nivel alto. Hubo interacción edad y sexo (p=0.007). La prevalencia ajusta de HTA (PHTA) aumentó con la edad siendo mayor en los ≥50 años que en los de 20 y 30. El sexo no tuvo efecto sobre PHTA (p=0.795). Por cada aumento de un Kg/m^2 la PHTA aumentó 3% y las personas de ESE bajo tuvieron una PHTA 1.84 veces mayor las del alto.
Overweigth and obesity in children and adolescents: relationship with blood pressure, and physical activity. Portugal	Ribeiro J, Guerra S, Pinto A, Oliveira J, Duarte J, Mota J. Ann. Hum Biol Mar-Apr 2003; 30(2): 203-213.	No describen	1439 niños entre 8-16 años.	IMC asociado PD y PS p≤ 0.05. Índice de actividad física (IAF), no tuvo relación con los valores de la PS y la PD. El IMC en su último cuartil tuvo 1.5 veces probabilidad de tener al menos un factor de riesgo para ECV, HTA o un IAF bajo.
Overweigth and obesity in relation to cardiovascular disease risk factors among medical students. Greece	Bertisias G, Mammas J, Lanardakis M, Fakatos A. BMC public health Jan 8 2003; 3(1): 3-7.	No describen	Adultos jóvenes	IMC fuerte predictor de la hipertensión arterial.
Blood pressure, lipids, and other risk factors for cardiovascular disease in aborigens and persons	Guest CS, O'Dea K, Larkins RG.	Encuesta transversal	301 aborígenes, 553 europeos y muestra urbana de 1989 personas, todos con edades entre	IMC y el nivel de colesterol total fue mayor entre los hombres y las mujeres de origen europeo con p=0.02 y p≤0.001. La etnia es un factor de riesgo en este grupo analizado. La población rural

TITULO	AUTORES	DISEÑO	MUESTRA	RESULTADOS
of European descent of south eastern Australia. Australia	Aust J public health Mar 1994; 18(1): 79-86.		25-64 años.	consumía más de un cigarrillo al día al compararla contra la urbana.
Hyperinsulinaemia in not linked with blood pressure elevarion in patients with insulinoma.	Sawicki PT, Heinemann L, Starke A, Berger M. Diabetología Jul 1992; 35(7): 649-652.	No describen	La muestra de 34 pacientes consecutivos pareados por edad y sexo y 34 controles.	La hiperinsulinemia no es factor de riesgo para el desarrollo de la hipertensión arterial.
Risk factors and raised atherosclerotic lesions in coronary and cerebral. Oslo	Holme I, Ender SC, Helgeland A, Hiermann I, Leven P, Lund-Larsen L. Artherioesclerosis: an official journal of the American Heart Association 1981.	Transveral.	La muestra fue de 16.200 hombres con edades que oscilaban entre los 40-49 años.	El nivel de colesterol HDL y de colesterol total se encontró asociado a los niveles de PS, significativamente, su efecto es sinérgico en el desarrollo de la enfermedad coronaria.
Relationship between hypertyrigliceridemia and increased endothelin-1 and blood pressure levels in subjects with plurimetabolic syndrome (SX).	Piatti PM, Monti LD, Guazzini B, Baruffaldi L, Dallagrassa B, Conti M, Fochesato E, Pozza G, Valsecchi G, and Pontiroli AE. Abstracts 4th International symposium and multiple risk factors in cardiovascular disease: strategies of prevention of coronary heart disease cardiac failure, and stroke. Ap 23-27, 1997. Washington DC.	No describen	140 personas. Casos: 80, controles: 60. Casos grupo I, II; al grupo I y II pertenecían los que presentaban mala tolerancia a la glucosa o DMNID y SX asociado y los que tenían alguno de estos diagnósticos y no tenían asociado el síndrome X. El grupo III era el de control.	Los niveles de triglicéridos, insulina, el índice de resistencia a la insulina, y el índice cintura-cadera están asociados significativamente con los valores medios de la presión arterial, la asociación es mayor en los pacientes del grupo I al compararlos con los del grupo II y III $p<0.05$. Los niveles aumentados de endotelina-1 se correlacionaron con el desarrollo de enfermedad cardiovascular, la correlación fue en particular con la media de la presión arterial ($r=0.23$, $p<0.005$). Los niveles de triglicéridos se correlacionaron de manera independiente con los valores de endotelina-1 $p<0.001$ y con los valores MPA $p<0.001$.
Cardiovascular risk factors in normotensive and hypertensive. Egyptian NHP results.	Ibrahim Mohsen M. Abstracts 4th International symposium and multiple risk	Encuesta.	La muestra estuvo constituida por 1733 personas cuyas edades oscilaban entre 49 ± 13.6	Se encontraron 771 personas hipertensas, las cuales presentaron valores de hipercolesterolemia > 240 mg/dl, IMC > 30 Kg/m^2 , hipertrigliceridemia con valores > 200 mg/dl y el colesterol HDL estuvo por encima del 35%.

TITULO	AUTORES	DISEÑO	MUESTRA	RESULTADOS
	factors in cardiovascular disease: strategies of prevention of coronary heart disease cardiac failure, and stroke. Ap 23-27, 1997. Washington DC.		años.	
Insertion-Deletion polymorfism of ACE-gene affects the vasodilation in untreated hypertensive patients.	Perticone F, Ceravolo R, Ventura G, Iacopino S, Trapasso M, Perroti N, Mattioli PL. Abstracts 4th International symposium and multiple risk factors in cardiovascular disease: strategies of prevention of coronary heart disease cardiac failure, and stroke. Ap 23-27, 1997. Washington DC.	No describen los autores el diseño de la investigación.	La muestra estuvo constituida por 32 pacientes casos y 24 pacientes como controles.	Los pacientes con el genotipo DD responden menos a la vasodilatación que los pacientes con genotipo ID e II, el valor de p<0.005.
Risk factors and family history of cardiovascular disease: The Lp(a) role.	Saitta A, Castaldo M, Sardo A, Bonaiuto M, Cinquegrani M, Imbalzano E, Gravina M, Mangano C, Zema M. Abstracts 4th International symposium and multiple risk factors in cardiovascular disease: strategies of prevention of coronary heart disease cardiac failure, and stroke. Ap 23-27, 1997. Washington DC.	No describen los autores el diseño de la investigación.	La muestra fue de 486 personas con dislipidemias quienes no habían recibido tratamiento. Estas personas tenían entre 53.7±14.8 años de edad.	Encontraron que 165 pacientes tenían historia familiar de enfermedad coronaria y 68 presentaban además enfermedad coronaria, correspondiendo al 18.2% vs 11.8% respectivamente con una p<0.05. Los niveles de Lp(a) en los pacientes con historia familiar de enfermedad coronaria fueron de 33.3% vs 19.9% en los que no tuvieron positivo el antecedente con una p<0.02. HTA se encontró en 28.1% en los pacientes con historia negativa y sin enfermedad coronaria, al comparar contra los que tenían este antecedente positivo y enfermedad coronaria se encontró en estos una prevalencia de HTA de 63.3%, p<0.00002.
Risk factors in patients with juvenile essential hypertension	Strom R, Ceci F, Ferrucci A, Stranos S, Tordi A, Calcagnini G, Ciarla MV.	No describen el diseño del trabajo.	Tomaron 48 pacientes con HTAE sin tratamiento, quienes	Los valores de colesterol total, de colesterol LDL, Apo AII, Apo CIII, Apo E y Lp(a) fueron significativamente mayores (valores de p<0.05 a 0.0001), al comparar los pacientes con HTAE contra los controles normales.

TITULO	AUTORES	DISEÑO	MUESTRA	RESULTADOS
	Abstracts 4th International symposium and multiple risk factors in cardiovascular disease: strategies of prevention of coronary heart disease cardiac failure, and stroke. Ap 23-27, 1997. Washington DC.		tenían entre 38.5±8.1 años. Los controles fueron 89 personas sin la enfermedad, se emparejaron por sexo y edad.	
The lipid profile of black africans with acute coronary syndromes: a Case-Control study.	Mayosi BM, Marais AD, MBewu AD, Byrnes P, Commeford PJ. Abstracts 4th International symposium and multiple risk factors in cardiovascular disease: strategies of prevention of coronary heart disease cardiac failure, and stroke. Ap 23-27, 1997. Washington DC.	Casos y controles.	Tomaron 34 pacientes negros con ACS y 31 controles; la edad de las personas estudiadas fue de 50 años; fueron emparejados por sexo y edad.	Prevalencia de HTA 52%. Prevalencia de fumadores de cigarrillo 50% y prevalencia de DM de 25%, entre los casos respecto de los controles. No hubo hallazgos significativos al comparar los valores encontrados en el perfil lipidico.
Risk stratification in hypertension: New insights from the Framingham study	Kannel William. Am J Hypert. 2000; 13: 3S-10S.	Cohorte	Los sujetos de investigación tenían entre 65 a 94 años de edad.	Encontró la Obesidad, la dislipidemia, la intolerancia a la glucosa y la hipertrofia del ventrículo izquierdo, como riesgos agrupados en grupos de 3 o más y asociados a la HTA cuatro veces más de lo que se espera por azar. Más del 50% de los pacientes de la cohorte que presentaban HTA presentaban estos riesgos. La prevalencia de síndrome de resistencia a la insulina en la población general puede ser como de 22% en hombres comparado con el 27% en mujeres. Entre los pacientes con HTA cerca del 40% de los eventos coronarios se produjeron en hombres y 68% en mujeres, estos fueron atribuibles a la presencia de dos o más factores de riesgo adicionales. Solamente 14% de los eventos coronarios en hombre hipertensos y en el 5% de las mujeres ocurrieron en ausencia de factores adicionales de riesgo.
Hemodynamic patterns	Franklin S, Gustin W, Wong N,	Cohorte	El tamaño de la muestra	PAD cae en los pacientes ≥60 años, mientras que la PAS aumenta; en los <60 años

TITULO	AUTORES	DISEÑO	MUESTRA	RESULTADOS
of age-related changes in blood pressure. The Framingham heart study.	Larson M, Weber M, Kannel W, Leny D. Circulation 1997; 96: 308-315		fue de 2036 individuos.	asciende gradualmente la PAD. En el grupo 4 (TA 173/90) aumenta significativamente la PAS, mientras la PAD no mostró cambios significativos. El análisis se hizo por ANOVA la F=34.1 p<0.001 para ambos sexos, para hombres fue de 25.3 y para mujeres de 11.9. Se hizo regresión lineal de cada componente de la PA con edad, grupos de PAS, cohorte y sexo: Sexo: grupos 3 (HTAS estado I) y 4 (HTAS 2,3,4), la PAS cae en mujeres con respecto a los hombres después de la década de los cuarenta, desaparece esta diferencia en la década de los setenta y lo contrario se da en la de los ochenta en todos los grupos. Con relación a la PAD en el grupo 4 es mayor en las mujeres que en los hombres en 8-9 mm Hg, en el grupo 1 es más baja en las mujeres en 2-3 mm Hg al compararla con la de los hombres en la década de los cuarenta años, pero desaparecen estas diferencias después de la década de los setenta.
Identification of risk factors in hypertensive patients. Contribution of randomized controlled trials through an individual patient database.	Gueffier F, Boissel JP, Pocock S, Boutitie F, Coope J, Cutler J, Ekbom T, Fagard R, Friedman L, Kerlikowske K, Perry M, Prineas R, Schron E, and the individual data analysis of antihypertensive intervention trials (INDANA) project collaborators. Ciculation 1999; 100: e88-e94.	Modelo multivariado de sobrevida	El tamaño de la muestra fue de 24390 individuos hipertensos.	La variable de salida fue enfermedad cardiovascular. Las variables analizadas: Edad HR: 2.04 p=0.0001 Sexo HR: 1.93 p=0.0001 Fumar HR: 1.73 p=0.0001 PS HR: 1.31 p=0.0001 PD HR: 1.1 p=0.0057 Historia de ataque isquémico HR: 3.62 p= p=0.0001 Historia IAM HR: 2.51 p=0.0001 Historia de DM HR: 1.87 p=0.0001 IMC (5kg/m^2) HR: 0.84 p=0.0001 Historia o tratamiento HTA HR: 1.46 p=0.0001
Risk factors for the development of hypertension: a 6 year longitudinal study of middle-age Japanese men.	Nakamishi N, Nakamura K, Ichikawa S, Susuki K, Kawashimo H, Tatara K. J Hypert. 1998; 16: 753-759.	Cohorte de hombres japoneses.	Tamaño de muestra de 1629 hombres entre 30 y 54 años de edad.	Edad HR: 1.57 (IC 95%: 1.19-2.07) p<0.001 en hombres mayores de 50 años. Colesterol total HR: 1.36 (IC 95%: 0.95-1.95) p<0.002 en hombres con niveles > 220mg/dl. Ingesta de alcohol ≥2.0 HR: 1.73 (IC 95%: 1.22-2.46) p<0.002.

11.3 ANEXO C

Tabla 3. Descripción de las variables seleccionadas para el análisis de la asociacion entre polimorfismos del SRA e HTA

NOMBRE	DEFINICION DE LAS VARIABLES	ESCALA DE MEDICION
BIOLÓGICAS Estas variables en el cuestionario vienen en el Modulo 1: Identificación. Numeral 1.1 Identificación general.	Se definen de acuerdo a los parámetros recogidos en la encuesta de CARMEN.	
• Sexo	Pregunta Nº 12 Sexo Femenino:_____ Masculino: _____	Nominal, dicotómica Hombre=masculino Mujer=Femenino
• Edad	Pregunta Nº 13: fecha de nacimiento: día____ mes_____año____ Pregunta Nº 14: Cuantos años cumplidos tiene usted? (compare con la 13 y corrija si es necesario)	Razón Continua en años
Numeral 1.2 Características personales Raza	Pregunta Nº 19: Color de la piel (desde la percepción del entrevistador) Cual de las siguiente opciones describe mejor al entrevistado: Blanco, Mestizo, Mulato, Negro, Indígena, Asiático u oriental y Otros	Nominal 1=Blanco, 2=mestizo, 3=mulato, 4= negro, 5=indígena 6=oriental 7=otros
SOCIOECONÓMICAS		
• Estado civil	Definido en la pregunta Nº 20: Cual es su estado civil actualmente? Soltero (a), casado (a), viudo (a), divorciado (a), unión libre, separado (a).	Nominal 1= soltero 2= casado 3= viudo 4= divorciado 5= unión libre 6= separado

• Ocupación El numeral 1.3 situación sociolaboral, define la ocupación.	Pregunta Nº 24: Está usted realizando algún trabajo remunerado (pagado) en este momento: Sí____ No____ (Pase 26) Nº 25: Cuál de las siguientes categorías describe mejor su ocupación actual? Profesional (médico, abogado,...), Comerciante (Ventas, C. Informal, ...), Trabajo administrativo (secretaria...), Mano de obra especializada /técnico, Trabajos generales (obrero, mensajero, ...), Propietario de negocio /independiente, Ama de casa, Hacendado/granjero, Policía/Militar, Estudiante, Religioso(a), Otro, Cuál. Pase Nº 27.	Categórica 1= profesional 2= comerciante 3= trabajo admtvo 4= mano de obra 5= trabajos grles 6= independiente 7= ama de casa 8= hacendado 9= militar/policía 10= estudiante 11= religioso 12= otro
• Seguridad social En el numeral 1.4 cobertura y acceso a la atención médica	Pregunta Nº 30: a su familia le aplicaron la encuesta del Sisben? Sí___ no___(pase a la 32) no sabe___ no recuerda (pase a la 32). Años____ meses_____ nº 32: tiene carné del Sisben? Sí___no___ nº 31. Hace cuanto tiempo le aplicaron la encuesta del Sisben? (menos de un año o un año) años____ meses_____ nº 32: tiene carné del Sisben? Sí___no___ nº 33: en el último año ha estado usted asegurado o es beneficiario de un plan de salud? Siempre, sí pero no siempre, no (pase a la 36) no sabe o no recuerda (pase a la 36). Nº 34: a cual entidad de salud ha estado o está afiliado? Administradora del régimen subsidiado (ARS), empresa promotora de salud (EPS), empresa de medicina prepagada , otras sistemas de seguridad social, es vinculado, opciones 2 y 3, otras cuales? Nº 35: nombre la entidad de salud a la cual esta (estaba) afiliado? (si no recuerda o no sabe pase a la 36) nombre:_____	Nominal 1= ARS 2= EPS 3= Prepagada 4= otros sistemas 5= vinculado 6= opciones 2 y 3 7= otras

HISTORIA DE SALUD PERSONAL Información consignada en el numeral 1.5 Percepción del estado de salud, contiene las preguntas 36 a la 49. Los cuadros de preguntas en particular sobre signos y síntomas de diabetes, , aumento de los niveles de colesterol, hipertensión, permiten conocer si el entrevistado tiene este diagnóstico clínico y si recibe medicación.	Estas preguntas indagaban sobre la percepción particular de cada entrevistado sobre su estado de salud, últimos signos o síntomas de enfermedad que haya podido tener la persona así como por el tratamiento médico o no que recibió. Vienen cuadros de preguntas particulares sobre cada caso de enfermedades de riesgo cardiovascular, como diabetes, hipertensión, etc.	
• HTA • Diabetes • Colesterol • Ingesta de drogas	Sí, No Sí, No Sí, No Sí, No	Dicotómica Dicotómica Dicotómica Dicotómica
El módulo 9: Actividad física a través de 8 preguntas define si el entrevistado hace algún tipo de actividad física		
• Actividad física	Si, No	Dicotómica
• Presión arterial	La medición de la presión arterial se hizo siguiendo las recomendaciones de la Asociación Americana del Corazón, la Sociedad Americana de Hipertensión y del Séptimo Comité Nacional Conjunto Sobre Prevención, Detección, Evaluación y Tratamiento de la Hipertensión Arterial (14). Se tomaron tres medidas independientes, por tres observadores distintos, separadas por un intervalo mínimo de dos minutos. PAS1 PAD1 PAS2 PAD2 PAS3 PAD3	Continua, se tomó el promedio de la 1ª, 2ª y 3ª medida de la PAS y PAD
• Edad fumar Fuma	Edad al empezar a fumar Fuma actualmente ? Sí No	Continua, en años Dicotómica
HISTORIA DE SALUD FAMILIAR		
• Madre hipertensa • Padre hipertenso • Hermano hipertenso	Su mamá tiene o tuvo hta ? Su papá tiene o tuvo hta ? Alguno de sus hermanos tiene o tuvo hta ? SÍ NO	Dicotómica

MEDIDAS ANTROPOMETRICAS	Las mediciones de peso, talla, perímetro de la cintura y de la cadera se hizo siguiendo las recomendaciones del protocolo de NHANES III (36) y del estudio INTERHEART (37), que son similares a las del programa CARMEN (14). Todas las medidas se tomaron siguiendo técnicas similares a las usadas en otros estudios (36, 37, 63), las cuales se describen en el Manual de Instrucciones.	
• Peso	El peso fue medido en una báscula de piso que fue calibrada diariamente.	Razón, continua en Kg
• Relación cintura/cadera	La circunferencia de la cintura fue medida a la altura del ombligo y la circunferencia de la cadera a la altura de la protuberancia máxima de los glúteos. La circunferencia de la cintura y de la cadera se midió dos veces, por dos observadores distintos, y para fines de análisis se usó el promedio de las dos medidas.	Razón, continua en cm.
Talla	La estatura del sujeto fue medida al milímetro más próximo	Razón, continua en cm.

BIOQUÍMICOS: La toma y procesamiento de las muestras de sangre se hizo siguiendo el protocolo establecido en un estudio internacional de infarto agudo del miocardio (37) y acorde a las recomendaciones de Grupo de Trabajo en Toma, Procesamiento y Almacenamiento de Sangre del Instituto Nacional de Corazón, Pulmón y Sangre de los Estados Unidos (71).	En el MANUAL PARA LOS PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO se describen en detalle todos los procedimientos para recolección, procesamiento, análisis, conservación, control de calidad y reporte de los resultados (Anexo # 6). Las muestras de sangre se usaron para la determinación de niveles de lípidos plasmáticos, glucemia en ayunas y tipificación de los genotipos de cada individuo	
• Glucemia	Los niveles de glucosa en suero se medieron luego de un ayuno mínimo de 9 horas. Los sujetos se clasificaron siguiendo las recomendaciones del comité de expertos en el diagnóstico y clasificación de la diabetes mellitus (25). Las personas con niveles de glucosa en ayunas menores de 110 mg/dl (<6.1mmol/l) se consideraron como con una homeostasis normal de la glucosa; aquellos con niveles mayores o iguales a 110 mg/dl (≥6.1mmol/l) pero menores que 126 mg/dl (<7.0 mmo./l) fueron clasificados como con homeostasis reducida; mientras que los que tenían 126 mg/dl o más (>7.0 mmol/l) se clasificaron como diabéticos.	Continua, en mg/dl
• Colesterol	El colesterol total <200 mg/dl (5.2 mmol/L) se consideró con nivel de "colesterol deseable"; los que tenían entre 200 y 239 mg/dl (5.2-6.2mmol/L)"colesterol limítrofe alto"; y los que tenían ≥240 mg/dl (6.2 mmol/L) con "colesterol alto".	Continua, en mg/dl
• HDL	Se consideró con nivel de "colesterol HDL bajo" a las personas que tenían menos de 35 mg/dl (0.9 mmol/L).	Continua, en mg/dl
• LDL	Las personas con niveles de colesterol LDL de 160 mg/dL o mayores (≥ 4.1 mmol/L) se clasificaron de "alto riesgo"; aquellas entre 130-159 mg/dL (3.4-4.1 mmol/L) "limítrofe alto riesgo"; y aquellas con <130 mg/dL (3.4 mmol/L) con nivel de "colesterol LDL deseable".	Continua, en mg/dl

• Triglicéridos	Los niveles de triglicéridos se clasificaron "normales" (<200 mg/dL), "limítrofes altos" (200-400 mg/dL), "altos" (400- 1,000 mg/dL), y "muy altos" (>1,000 mg/dL).	Continua, en mg/dl
Genotipificación	Polimorfismos de los genes de la ECA, AGT y r1ATII	Nominal DD, ID, II (ECA D/I) MM MT TT, (AGT; M235T, T174M) AA, AC, CC (R1ATII; A1166C)

11.4 ANEXO D

Tabla 4: Resumen de diferentes escenarios del cálculo del tamaño de muestra para un diseño de casos y controles no pareado

CONFIANZA	PODER	NO ENF:ENF	PREVAL EN ENF.	OR	NO ENF	ENF	TOTAL
95 %	86%	1:1	36.07%	2.0	205	205	410
95 %	86%	1:1	33.33%	2.0	216	216	432
95 %	86%	1:1	32.36%	1.8	296	296	592
95 %	86%	1:1	29.64%	1.8	315	315	630
95 %	86%	1:1	29.35%	2.0	238	238	476
95 %	86%	1:1	29.06%	2.0	240	240	480
95 %	86%	1:1	26.94%	1.8	339	339	678
95 %	**86%**	**1:1**	**26.84%**	**2.0**	**256**	**256**	**512**
95 %	86%	1:1	26.09%	2.0	262	262	524
95 %	86%	1:1	24.11%	1.8	371	371	742
95 %	86%	1:1	22.66%	1.8	390	390	780
95 %	86%	1:1	21.43%	2.0	309	309	618
95 %	86%	1:1	19.71%	1.8	439	439	878
95 %	86%	1:1	16.67%	1.8	509	509	1018
95 %	86%	1:1	16.51%	2.0	389	389	778
95 %	86%	1:1	15.11%	1.8	555	555	1110
95 %	86%	1:1	14.81%	2.0	429	429	858
95 %	86%	1:1	13.53%	1.8	614	614	1228
95 %	86%	1:1	11.32%	2.0	552	552	1104
95 %	86%	1:1	10.31%	1.8	791	791	1580

11.5 ANEXO E

Tabla 5. Condiciones de la mezcla para la reacción en cadena de la polimerasa para cada polimorfismo del SRA.

Polimorfismo Reactivo	ECA	M174	M235	RT1
Buffer	10 X	10 X	10 X	10 X
MgCl2	25 Mm	25 Mm	25 Mm	25 Mm
dNtps	10Mm	10Mm	10Mm	10Mm
Taq Polimerasa	Taq 5U/ul	Taq 5U/ul	Taq 5U/ul	Taq 5U/ul
Cebadores	5uM	5uM	5uM	5uM
DNA	50-100 ng	50-100 ng	50-100 ng	50-100 ng
H2O	-	-	-	-
Volumen Total	20 µl	20 µl	20 µl	20 µl

Tabla 6. Condiciones de amplificación de cada polimorfismo del SRA.

Polimorfismo Paso	ECA	ECA heterocigotos	M174	M235	RT1
1	95°C 5 min	94°C 40 seg	94°C 3 min	94°C 3 min	95°C 2 min
2	94°C 2 min	94°C 30 seg	94°C 1 min	94°C 1 min	94°C 1 min
3	58°C 1 min	68°C 68 seg	61°C 1 min	61°C 1 min	72°C 2:30 min
4	72°C 2 min	72°C 1.5 min.	72°C 1 min.	72°C 1 min.	72°C 10 min
5	30 ciclos del paso 2 al 4	32 ciclos del paso 2 al 4	25 ciclos de 2 a 4	25 ciclos de 2 a 4	40 ciclos de 2 a 4.
6	72°C 5 min	72°C 3 min	72°C 10 min.	72°C 10 min.	72°C 10 min

11.6 ANEXO F

Tabla 9. Descripción de las características sociodemográficas de la población en estudio

VARIABLE	**n=**486	**CASOS**(255)	**CONTROLES**(231)	**p**
SEXO				
Femenino	328(67.5)	72(67.5)**	156(67.5)	0.0000*
Masculino	158(32.5)	83(32.5)	75 (32.5)	
EDAD	52(51.1,52.7).	46.6(43.9,49.4)***	46.6(43.9,49.4)***	0.3317*
RAZA				
Blanco	206(42.4)	97 (47.1)	109(43.7)	0.0912*
Otros	280 (57.6)	158(52.9)	122(56.3)	
ESTADO CIVIL				0.6713•*
Soltero	80 (16.5)	44 (17.3)	36 (15.6)	
Casado	215 (44.2)	110 (43)	105(45.5)	
Viudo	59 (12.1)	35 (13.7)	24 (10.4)	
Divorciado	4 (0.8)	3 (1.2)	1 (0.4)	
Unión libre	82 16.8)	42 (16.5)	40 (17.3)	
Separado	46 (9.4)	21 (8.3)	25 (10.8)	
OCUPACION	230	112	118	0.609•*
Profesional	5 (2.2)	1 (0.9)	4 (3.4)	
Comerciante	44(19.3)	21(18.8)	23 (19.5)	
Trabajo admtvo.	4 (1.7)	1 (0.9)	3 (2.5)	
Mano de obra especi.	27(11.7)	14(12.5)	13 (11)	
Trabajos generales	57(24.8)	26(23.2)	31 (26.3)	
Independiente	74(32.1)	36(32.1)	38 (32.2)	
Ama de casa	1 (0.4)	1 (0.9)	0	
Policía/Militar	1 (0.4)	1 (0.9)	0	
Religioso	1 (0.4)	1 (0.9)	0	
Otro	16(7))	10 (8.9)	6 (5.1)	

* Valor de p prueba del Chi^2 de MacNemar para variables pareadas
** Porcentaje de individuos en el grupo
*** Media, intervalo de confianza 95%
•* Valor de p prueba de Chi^2 de Pearson

Tabla 10. Característica de los antecedentes familiares y personales de los casos y los controles

CARACTERÍSTICAS	n= 486	CASOS=255	CONTROLES=231	p*
ANTECEDENTE				
Madre hta	177 (415)	108 (61)**	69 (39)	0.0005
Padre hta	76 (363)	46 (61)	30 (39)	0.0000
Hermano hta	79 (434)	52 (66)	27 (34)	0.0000
HISTORIA DE HTA	445	236	209	
Si	216 (48.5)	130 (55.1)	86 (41.2)	0.1489
No	229 (51.5)	106 (44.9)	123 (58.8)	
DIABETES	335	181	154	
Si	68 (20.3)	33 (18.2)	35 (22.7)	0.308
No	267 (79.7)	148 (87.8)	119 (77.3)	
DIABETES CON TTO.	68	33	35	
Si	36 (52.9)	15 (45.4)	21 (60)	0.230
No	32 (47.1)	18 (54.5)	14 (40)	
HIPERCOLESTEROLEMIA	323	178	145	
Si	141 (43.7)	78 (44.9)	63 (43.5)	0.947
No	182 (56.3)	100 (55.1)	82 (56.5)	
COLESTEROL CON TTO.	141			
Si	63 (44.7)	35 (55.6)	28 (44.4)	0.960
No	78 (55.3)	43 (55.1)	35 (55.5)	
FUMA	203			
Sí	64 (31.5)	27 (24.5)	37 (39.8)	0.020
No	139 (68.5)	83 (75.5)	56 (60.2)	
EJERCICIO				
No	202 (41.6)	92 (36.1)	110 (47.6)	0.0013
Sí	284 (58.4)	163 (63.9)	121 (52.3)	

*Valor de p del Chi^2 de MacNemar.

**Valor del porcentaje de composición de individuos en el grupo.

Tabla 11. Descripción de los factores de riesgo de los casos y los controles

VARIABLE	CASOS (n= 255)*	CONTROLES(n=231) *	p **
EDAD INICIO DE FUMAR	18.9 (16.3,19.7)	18.9 (16.3,19.7)	0.9620
CIRCUN CINTUR	87.5 (85.9,90.7)	84.6 (81,85.6)	0.0013
CIRCUN CADER	98.0 (96.4,99.5)	96.3 (93,96)	0.0012
PESO	68.4 (67.8,63.7)	65.8 (63,67.7)	0.0019
TALLA	156.8(157.7,161.6)	157.1(157.9,162)	0.6888
HIPERCOLESTEROL	229.8(212.4,227.3)	228.2(208.1,224.4)	0.4593
HDL	43.1 (39.1,42.3)	42.3 (39,42.1)	0.8762
LDL	145.4(130.8,143.8)	148.1 (132,146.1)	0.6462
TGC	203.9(186.7,226.7)	186.5 (162.6,199.2)	0.0320
GLUCEMIA	95.3 (88.9,97.2)	98.5 (89,104)	0.4149
PRESION SISTOL	148.0(139.5,147.1)	116.5 (112.2,118.2)	0.0000
PRESION DIAST	85.0 (85.1,89.4)	71.9 (70.3,73.7)	0.0000
IMC	27.7 (26.8,28.4)	26.6 (24.7,26.2)	0.0003
ICICA	0.89 (0.88,0.91)	0.87 (0.86,0.89)	0.0174

* Media, intervalo de confianza (IC 95%)
**Prueba t pareada

Tabla 12. Características de los factores de riesgo agrupados

FACTORES DE RIESGO	N (%) 486	CASOS (%) 255	CONTROLES(%)= 231	p*
HIPERCOLESTEROLEMIA				
<200 mg/dl	126 (25.9)	62 (24.3)	64 (27.7)	0.0000
≥200 - ≤239 mg/dl	168 (34.6)	91 (35.7)	77 (33.3)	
≥240 mg/dl	192 (39.5)	102 (40)	90 (39)	
HDL				
≥35 mg/dl	87 (17.9)	46 (18)	41 (17.7)	0.0000
< 35 mg/dl	399(82.1)	209(82)	190(82.3)	
LDL				
<130 mg/dL	169 (34.8)	91 (35.7)	78 (33.8)	0.0001
≥130 - ≤159 mg/dl	146 (30)	83 (32.6)	63 (27.3)	
160 mg/dL o mayores	171 (35.2)	81 (31.7)	90 (38.9)	
TGC				
<200 mg/dL	315 (64.8)	161 (63.1)	154 (66.7)	0.0000
≥200 - ≤400 mg/dL	143 (29.4)	75 (29.4)	68 (29.4)	
>400≥1000 mg/Dl	28 (5.8)	19 (7.5)	9 (3.9)	
GLICEMIA				
< 110 mg/dl	438 (92.1)	230 (90.2)	208 (90)	0.0000
≥110 mg/dl - ≤126 mg/dl	10 (2.1)	7 (2.7)	3 (1.3)	
>126 mg/dl	38 (7.8)	18 (7.1)	20 (8.7)	
IMC				
Bajo peso (<18.5)	12 (2.5)	3 (1.2)	9 (3.9)	0.063**
Normal (18.5 y 24.9)	132 (27.2)	62 (24.3)	70 (30.3)	
Sobrepeso 25.0 y 29.9	223 (45.9)	118 (46.3)	105 (45.5)	
Obesidad 30.0 y 34.9	94 (19.3)	60 (23.5)	34 (14.7)	
Obesidad moderada 35.0 y 39.9	20 (4.1)	10 (3.9)	10 (4.3)	
Obesidad extrema ≥40	5 (1.0	2 (0.8)	3 (1.3)	
S0BREPÈSO				
No <25	149 (30.6)	68 (26.7)	81 (35.1)	0.0000
Si ≥25	337 (69.3)	187 (73.3)	150 (64.9)	
ICICA				
No obesidad	194 (39.9)	94 (36.9)	100 (43.3)	0.0136
Si obesidad	292 (60.1)	161 (63.1)	131 (56.7)	
OBESIDAD ABDOMINAL POR CIRCUNFER CINTURA				
Mujeres ≤80 y hombres ≤94	219 (45.1)	103 (40.4)	116 (50.2)	0.4164
Mujeres >80 y hombres>94 cm	267 (54.9)	152 (59.6)	115 (49.8)	
OBESIDAD POR IMC				
<18.5 - 24.9	149 (30.7)	68 (26.7)	81 (35.1)	0.0000
≥25 y 29.9	223 (45.9)	119 (46.7)	104 (45)	
≥30	114 (23.4	68 (26.7)	46 (19.9)	

*Valor de p Chi^2 de Mac Nemar
**Valor de p Chi^2 de Pearson.

Tabla 13. Prevalencias de los polimorfismos del SRA

POLIMORFISMOS DEL SRA	N (%) 486	CASOS (%) 255	CONTROLES(%)= 231	p*
ECA (D/I)				
DD	182(37.5)**	105 (41.18)	77 (33.33)	0.0000
ID	229 (47.1)	113 (44.31)	116 (50.22)	0.1055
II	75 (15.4)	37 (14.51)	38 (16.45)	0.0000
AGT m235t				
MM	6 (1.2)	5 (2)	1 (0.4)	0.0000
MT	169 (34.8)	90 (35.3)	79 (34.2)	0.0000
TT	311 (64)	160 (62.8)	151 (65.4)	0.0004
t174m				
MM	2 (0.4)	0	2 (0.9)	0.0000
MT	128 (26.3)	76 (30)	52 (22.5)	0.0000
TT	356 (73.3)	179 (70)	177 (76.6)	0.0000
r1AT (A1166C)				
AA	429 (88.3)	222 (87.1)	207 (90)	0.0000
AC	56 (11.5)	33 (12.5)	23 (10)	0.0000
CC	1 (0.2)	1 (0.4)	0	0.0000

*Valor de p de la prueba de Chi^2 de McNemar
**Porcentaje de individuos en cada polimorfismo genético

Tabla 14. Equilibrio de Hardy Weinberg de los polimorfismos del SRA

GENES		n=486	CASOS=255		p*	CONTROLES=231		p*
			OBSER.	ESPER.		OBSERV.	ESPER.	
	DD	182	105	102.3		77	78.9	
ECA	ID	229	113	118.4	0.4638	116	112.2	0.6075
	I I	75	37	34.3		38	39.9	
FCIAS ALELICAS			ALELO D 323(0.63)			ALELO D 270(0.58)		
			ALELO I 187(0.36)			ALELO I 192(0.42)		
M235T								
	MM	6	5	9.80		1	7.10	
AGT	MT	169	90	80.39	0.0563	79	66.80	**0.0055**
	TT	211	160	164.81		151	157.10	
T174M								
	TT	356	179	184.66		177	178.39	
AGT	MT	128	76	64.67	**0.0052**	52	49.21	0.3892
	MM	2	0	5.66		2	3.39	
FCIAS ALELICAS			ALELO M 100(0.20)			ALELO M 81(0.18)		
M235T			ALELO T 410(0.8)			ALELO T 381(0.82)		
T174M			ALELO T 434(0.85)			ALELO T 406(0.87)		
			ALELO M 76(0.15)			ALELO M 56(0.13)		
	AA	429	222	223.07		207	206.68	
r1AT	AC	56	33	30.86	0.2693	23	23.65	0.6774
	CC	1	0	1.07		1	0.68	
FCIAS ALELICAS			ALELO A 477(0.94)			ALELO A 437(0.95)		
			ALELO C 33(0.06)			ALELO C 25(0.05)		

p* Valor de la probabilidad del test ch^2 Pearson
Negrilla: valores en desequilibrio.

11.7 ANEXO G

Tabla 15. Valores de la prueba Fst

Nombre del locus	Valor de Fst	Valor global de Fst para todos los loci
LPL1 / LPL2	**-0.009216**	
F138A/F138B	**-0.006683**	
FES1/FES2	**-0.005522**	
F13A01/F13A02	**0.002491**	
		-0.004391

Pautas cualitativas sugeridas por Sewall Wrigth para interpretar FST:

El rango de 0 a 0.005 puede ser considerado como indicativo de poca diferenciación genética.
El rango de 0 a 0.15 indica moderada diferenciación genética.
El rango de 0 a 0.25 indica gran diferenciación genética.
Valores de FST superiores a 0.25 indican una diferenciación genética muy grande. (55, 58)

11.8 ANEXO H

Tabla 16. Características de los individuos eliminados del estudio comparados con los incluidos

CARACTERISTICAS	N=28	N= 486	CASOS=2 EXCLUIDOS	CASOS=255 INCLUIDOS	CONTROLES=26 EXCLUIDOS	CONTROLES=231 INCLUIDOS	p*
EDAD		52(51.1,52.7)	55	46.6(43.9,49.4)	56 (53.9,59.6)***	46.6(43.9,49.4)	0.6457
							0.0062
EDAD INICIO DE FUMAR	n=12		2		10		1.0
			18	18.9 (16.3,19.7)	15.1 (12.4,17.7)	18.9 (16.3,19.7)	0.2279
SEXO							
Femenino	19(67.7)	328(67.5)	2 (67)	72(67.4)	17 (69.2)	156(67.5)	
Masculino	9 (32.3)	158(32.5)	1 (33)	83(32.5)	8 (30.8)	75 (32.4)	
PAS	26		147·*	148.0 (139.5,147.1)	114.2 (108,119)	116.5 (112.2,118.2)	0.4816
PAD	**26**		90*	85.0 (85.1,89.4)	**68.7 (65.1,72.2)**	**71.9 (70.3,73.7)**	**0.0473**
PESO	26		81!	68.4 (67.8,63.7)	62 (57.9,66.8)	65.8 (63,67.7)	0.1056
TALLA	26		164.5****	156.8 (157.7,161.6)	155.8(151.8,158.9)	157.1 (157.9,162)	0.2636
GLICEMIA	26		98**	95.3 (88.9,97.2)	91.1 (82.6,99.5)	98.5 (89,104)	0.4434
TGC	26		230**	203.9 (186.7,226.7)	178.8(151.3,206.2)	186.5 (162.6,199.2)	0.6969
HDL	26		45**	43.1 (39.1,42.3)	42 (38.5,45.5)	42.3 (39,42.1)	1.0000
LDL	26		160**	145.4 (130.8,143.8)	143 (128.6,158.9)	148.1 (132,146.1)	0.5615
HIPERCOLESTEROLEMIA	26		251**	229.8 (212.4,227.3)	222 (204.6, 239.3)	228.2 (208.1,224.4)	0.5263
IMC	26		29	27.7 (26.8,28.4)	26 (24.3,27.6)	26.6 (24.7,26.2)	0.3148
CIRCUNF CINT	26		100****	87.5 (85.9,90.7)	86.6 (81.4,89.1)	84.6 (81,85.6)	0.6773
CIRCUNF CADERA	26		97.5****	98.0 (96.4,99.5)	95.9 (91.8,99.9)	96.3 (93,96)	1.0000
OBESIDAD ABDOMIN	26						
No (<0.8 m, <1.0 h)			0	101 (48.8)	11 (42.3)	106 (51.2)	1.0000
Si			1	154 (55.2)	15 (57.7)	125 (44.8)	

***** Valor de p de la prueba t no pareada entre casos y controles excluidos y los incluidos

****** Promedio en mg/dl

******* Intervalo de confianza (IC)

·***** Promedio en mm Hg

**** Promedio en cms

! Promedio en Kgs

11.9 ANEXO I

Tabla 17. Valores de los RRE del modelo pareado y del modelo ajustado en HTA y polimorfismos del SRA

VARIABLE	RRE pareado*	p	OR ajustado*	p**
SEXO				
Femenino	1.00 (0.68, 1.46)	1.0		N.A.
Masculino				
RAZA	1.01.48 (1.01,2.16)			
Blanco			1.0	
Otros		0.041	1.49 (1.01,2.06)	0.0402
ESTADO CIVIL				
Soltero	1.0		1.0	
Casado	0.92 (0.54,1.58)	0.784	1.01 (0.57,1.77)	0.9582
Viudo	1.10 (0.54,2.25)	0.776	0.92 (0.39,2.13)	0.8466
Divorciado	2.12 (0.19,22.7)	0.532	Sin dato	
Unión libre	0.89 (0.45,1.73)	0.736	0.45 (0.18,1.11)	0.0763
Separado	0.39 (0.79,1.79)	0.651	0.99 (0.37,2.60)	0.9888
OCUPACION				
Profesional	1.0			
Comerciante	2.04 (0.2,-20.5)	0.545	1.0 (0.06,15.9)	1.0
Trabajo administrativo	1.63 (0.06,42)	0.767	Sin dato	
Mano de obra especial	2.31 (0.21,25.2)	0.490		
Trabajos generales	1.65 (0.16,16.8)	0.669		
Independiente	2.14 (0.21,21.2)	0.515		
Otro	4.74 (0.40,75.9)	0.216		
ANTECEDENTE				
Madre hta	1.72 (1.13,2.62)	0.011	1.72 (1.12,2.65)	0.0121
Padre hta	1.53 (0.9,2.59)	0.111	1.54 (0.90,2.63)	0.1070
Hermano hta	2.27 (1.31,3.92)	0.003	2.25 (1.30,3.88)	0.0027
HISTORIA FAMILIAR				
Si (PADRE Y /O MADRE)	1.90 (1.27,2.86)	0.002	1.97 (1.35,2.88)	0.001
No	1.0			
DIABETES				
Si	1.16 (0.66,2.02)	0.597	1.16 (0.65,2.06)	0.5966
No	1.0			
DIABETES CON TTO.				
Si	1.34 (0.44,4.03)	0.595	1.36 (0.42,4.37)	0.5945
No				
HIPERCOLESTEROLEMIA				
Si	0.94 (0.59,1.51)	0.821	0.95 (0.58,1.52)	0.8207
No	1.0			
HIPERCOLESTEROLEMIA CON TTO.		0.564	0.76 (0.31,1.88)	0.5634
Si	0.78 (0.33,1.80)			
No				
FUMA				
Sí	1.33 (0.63,2.82)	0.450	1.37 (0.60,3.14)	0.4491
No				

Tabla 17. Valores de los RRE del modelo pareado y del modelo ajustado en HTA y polimorfismos del SRA

VARIABLE	RRE pareado*	p¨	RRE ajustado*	p**
EJERCICIO				
No	0.65 (0.45,0.95)	0.027	0.66 (0.46,0.95)	0.0276
Sí				
HIPERCOLESROLEMIA				
<200 mg/dl				
≥200 - ≤239 mg/dl	1.22 (0.77,1.95)	0.384	1.24 (0.75.2.02)	0.3900
≥240 mg/dl	1.23 (0.77,1.98)	0.377	1.17 (0.71,1.95)	0.5206
HDL				
≥35 mg/dl			1.0	
< 35 mg/dl	0.95 (0.59,1.95)	0.865	0.96 (0.60,1.54)	0.8778
LDL				
<130 mg/dL			1.0	
≥130 - ≤159 mg/dl	1.12 (0.7,1.77)	0.623	1.14 (0.72,1.82)	0.5549
≥160 mg/dL o mayores	0.68 (0.42,1.09)	0.113	0.64 (0.38,1.08)	0.0963
TGC				
<200 mg/dL			1.0	
≥200 - <400 mg/dL	1.11 (0.74,1.67)	0.586	1.12 (0.74,1.69)	0.5769
≥400 - ≥1,000 mg/dL	2.23 (0.96,5.25)	0.064	2.01 (0.81,5.02)	0.1234
GLUCEMIA				
< 110 mg/dl			1.0	
≥110 mg/dl - <126 mg/dl	1.91 (0.46,7.86)	0.368	1.82 (0.41,8.08)	0.4192
≥126 mg/dl	0.86 (1.43,1.70)	0.665	0.86 (0.45,1.64)	0.6547
IMC				
<18.5 bajo peso			1.0	
≥18.5 - ≤24.9 normal	3.35 (0.78,14.2)	0.102	4.52 (0.56,36.7)	0.1167
≥25.0 - ≤29.9 sobrepeso	4.47 (1.07,14.6)	0.040	3.53 (0.85,14.5)	0.0618
≥30.0 - ≤34.9 obesidad	6.82 (1.57,29.5)	0.010	4.67 (0.91,23.7)	0.0406
≥35.0 - ≤39.9 obes mod	3.54 (0.66,18)	0.136	0.75 (0.07,7.73)	0.8084
≥40 obesid alta	2.88 (0.29,27.8)	0.360	0.0	0.3173
S0BREPÈSO				
<25 normal			1.0	
≥25 sobrepeso	1.55 (1.04,2.32)	0.031	1.53 (1.04,2.27)	0.0297
ICICA				
Obesidad abdominal			1.0	
No obesidad	1.47 (0.95,2.28)	0.078	1.50 (0.96,2.33)	0.0667
OBESI ABD CIRCI				
Muj <80 y homb <94 cm				
Muj ≥80 y homb ≥94 cm	1.44 (0.97,2.14)	0.063	1.31 (0.89,1.92)	0.160
OBESIDAD POR IMC				
<18.5 - ≤24.9 normal			1.0	
≥25 - ≤29.9 sobrepeso	1.45 (0.94,2.23)	0.092	1.45 (0.92,2.29)	0.0989
≥30 obesidad	1.77 (1.06,2.96)	0.028	1.53 (1.06,2.90)	0.0941

*Intervalo de confianza (IC 95%)

¨Valor de probabilidad chi^2 de los OR de Mantel y Haenszel pareado por sexo y edad

**Valor de probabilidad chi^2 de los OR de Mantel y Haenszel ajustado por sexo y edad

Tabla 18. Valores de RRE de los promedios de los factores de riesgo en HTA y polimorfismos del SRA

VARIABLE	RRE pareado	p¨	RRE ajustado	p**
EDAD INICIO DE FUMAR	0.99 (0.95,1.04)*	0.950	0.99 (0.95,1.03)	0.823
CIRCUN CINTUR	1.02 (1.0,1.04)	0.005	1.02 (1.0,1.03)	0.009
CIRCUN CADER	1.02 (1.0,1.04)	0.028	1.02 (1.0,1.04)	0.034
ICICA	17.3 (1.27,236)	0.032	11.11 (0.89,138)	0.061
PESO	1.01(1.0,1.03)	0.014	1.01(1.0,1.03)	0.020
TALLA	1.0 (0.96,1.03)	0.999	0.99 (0.96,1.02)	0.744
IMC	1.05 (1.05,1.09)	0.013	1.0 (1.05,1.09)	0.014
HIPERCOLESTEROLEMIA	1.00(0.99,1.0)	0.808	1.0 (0.99,1.0)	0.848
HDL	1.0 (0.98,1.03)	0.443	1.0 (0.98,1.02)	0.405
LDL	0.99(0.99,1.0)	0.328	0.99(0.99,1.0)	0.335
TGC	1.0 (0.99,1.0)	0.05	1.0 (0.99,1.0)	0.074
GLICEMIA	0.99 (0.99,1.0)	0.516	0.99 (0.99,1.0)	0.353
PRESION SISTOL	1.12 (1.09,1.14)	0.000	1.12 (1.10,1.14)	0.000
PRESION DIAST	1.14 (1.11,1.18)	0.000	1.13 (1.10,1.16)	0.000

*Valor del Intervalo de confianza (IC 95%)
¨Valor de probablidad >chi^2 de los RRE de Mantel y Haenszel
**Valor de probablidad ajustado por sexo y edad.

Tabla 19. Valores de las RRE de los polimorfismos genéticos del SRA

TIPOS DE POLIMORFISMOS	RRE pareado*	p¨	RRE ajustado*	p**
ECA (ID)				
DD	1.34 (0.92,1.96) *	0.128	1.36 (0.91,2.02)*	0.1255
ID	0.84 (0.58,1.22)	0.379	0.83 (0.57,1.22)	0.3635
II	0.80 (0.48,1.33)	0.403	0.81 (0.49,1.34)	0.4168
AGT (M235T)				
MM	4.16 (0.46,36.9)	0.201	4.84 (0.55,42.2)	0.153
MT	1.10 (0.75,1.62)	0.614	1.04 (0.71,1.52)	0.806
TT	0.85 (0.58,1.25)	0.407	0.89 (0.61,1.89)	0.545
(T174M)				
MM	2.94e-14 (0)	1.000	2 datos	
MT	1.42 (0.93,2.15)	0.099	eliminados	0.067
TT	0.73 (0.48,1.10)	0.141	1.46 (0.97,2.21)	0.108
			0.71 (0.47,1.07)	
r1AT (A1166C)				
AA	0.74 (0.41,1.34)	0.332	0.76 (0.46,13.4)	0.358
AC	1.40 (0.77,256)	0.260	1.37 (0.77,2.41)	0.277
CC	9.44e-15 (0)	1.000	1 dato eliminado	

*Intervalos de confianza (IC 95%)

¨ Probablilidad >chi^2 de los RRE de Mantel y Haenszel pareado por sexo y edad

**Probablilidad >chi^2 de los RRE de Mantel y Haenszel ajustado por sexo y edad.

La categoría de comparación en todos los casos es el polimorfismo heterocigoto donde se encuentran presentes los dos alelos simultáneamente.

11.10 ANEXO J

Tabla 23. Efecto del polimorfismo genético del SRA sobre el valor de RRE para HTA ajustado por otras variables de riesgo

GEN	RRE R.L.C. (IC)*	p*	RRE R.L.N.C (IC)***	p***
ECA:				
Polimorfismo DD	1.47 (0.96,2.23)	0.070	1.64 (1.04,2.47)	0.016**
Agrupado: Grupo 2: DD	**1.94 (1.05,3.54)**	**0.034****	**1.93 (1.06,2.17)**	**0.031****
Dominante: DD+ID vs II	1.64 (0.93,2.88)	0.082	1.50 (0.86,2.56)	0.147
Recesivo: II+ID vs DD	1.47 (0.96,2.23)	0.070	1.65 (1.10,2.47)	0.010**
Aditivo: DD vs II	1.29 (0.82,2.04)	0.265	1.55 (1.01,2.38)	0.044**
No aditivo: II vs ID	0.63 (0.35,2.04)	0.153	0.79 (0.44,1.40)	0.427
AGT M235T :				
Polimorfismo MM	3.12 (0.33,29.1)	0.317	4.24 (0.45,39.2)	0.203
Polimorfismo TT			0.74 (0.48,1.14)	0.179
Agrupado: Grupo 0:MM	2.99 (0.31,28.5)	0.341	4.11 (0.43,38.7)	0.217
Grupo 2: TT	0.94 (0.61,1.44)	0.787	0.95 (0.63,1.43)	0.824
Dominante:MM+MT vs TT	0.98 (0.59,1.38)	0.655	0.91 (0.61,1.37)	0.670
Recesivo: TT+MT vs MM	3.12 (0.33,29.1)	0.317	4.24 (0.45,39.2)	0.203
Aditivo: MM vs TT	0.31 (0.03,3.10)	0.320	0.23 (0.02,2.14)	0.196
No aditivo: TT vs MT	0.93 (0.61,1.43)	0.761	0.95 (0.63,1.43)	0.828
AGT T174M :				
Polimorfismo MM	1.0		1.13 (0.74,1.24)	0.551
Polimorfismo TT	0.74 (0.47,1.15)	0.190	0.74 (0.48,1.14)	0.179
Polimorfismo MT	1.40 (0.40,2.20)	0.133	1.42 (0.92,2.20)	0.111
Agrupado: Grupo 2: TT	1.0		0.71 (0.45,1.10)	0.128
Recesivo: MM+MT vs TT	1.34 (0.86,2.10)	0.190	1.34 (0.87,2.07)	0.179
No aditivo: TT vs MT	0.72 (1.14,3.49)	0.155	0.71 (0.45,1.10)	0.128

*Valores obtenidos por apareamiento del sexo y edad, presentes las otras variables definitivas del modelo
** Valores de $p \leq 0.05$
*** Valores obtenidos por ajuste de la edad y el sexo, por el levantamiento del apareamiento, forzando la entrada de la variable raza en el modelo.
R.L.C. Regresión logística condicional
R.L.N.C. Regresión logística no condicional

11.11 ANEXO K

Tabla 22. Variables incluidas en el modelo apareado por sexo y edad del efecto de los polimorfismos del SRA sobre la HTA.

MODELO Nº 2

HTA/Variables independientes	Valor de RRE pareado	Valor de p
Raza	1.47 (0.97, 2.23)	0.070
Hacer ejercicio	0.62 (0.41, 0.93)	0.022
Historia de hta en familiar paterno o materno	1.93 (1.27, 2.94)	0.002
Grupo de índice masa corporal:		
Grupo 1:≥25 sobrepeso	1.42 (0.88, 2.28)	0.141
Grupo 2:≥30 obesidad	2.07 (1.19, 3.61)	0.010
ECA (otros polimorfismos II e ID)	1.0	
ECA (polimorfismo DD)	1.47 (0.96, 2.23)	0.070

MODELO Nº 3

HTA/Variables independientes	Valor de RRE pareado	Valor de p
Raza	1.50 (0.99, 2.28)	0.056
Hacer ejercicio	0.61 (0.40, 0.92)	0.020
Historia de hta en familiar paterno o materno	1.99 (1.30, 3.02)	0.001
Grupo de índice masa corporal:		
Grupo 0:< 25 normal	1.0	
Grupo 1:≥25 sobrepeso	1.42 (0.88, 2.27)	0.141
Grupo 2:≥30 obesidad	2.04 (1.17, 3.59)	0.011
ECA dominante II	1.0	
ECA dominante (DD+ID vs II)	1.64 (0.93, 2.88)	0.082

MODELO Nº 4

Tabla 22. Variables incluidas en el modelo apareado por sexo y edad del efecto de los polimorfismos del SRA sobre la HTA.

HTA/Variables independientes	Valor de RRE pareado	Valor de p
Raza	1.47 (0.87, 2.23)	0.067
Hacer ejercicio	0.62 (0.41, 0.93)	0.022
Historia de hta en familiar paterno o materno	1.93 (1.27, 2.94)	0.002
Grupo de índice masa corporal:		
Grupo 0:< 25 normal		
Grupo 1:≥25 sobrepeso	1.42 (0.88, 2.28)	0.141
Grupo 2:≥30 obesidad	2.07 (0.64, 2.59)	0.010
ECA recesivo ID+II	1.0	
ECA recesivo (DD vs ID+II)	1.47 (0.96, 2.23)	0.070

MODELO Nº 5

HTA/Variables independientes	Valor de RRE pareado	Valor de p
Raza	1.55 (1.98, 2.46)	0.058
Hacer ejercicio	0.59 (0.37, 0.93)	0.026
Historia de hta en familiar paterno o materno	1.66 (1.04, 2.67)	0.033
Grupo de índice masa corporal:		
Grupo 0:< 25 normal		
Grupo 1:≥25 sobrepeso	1.31 (0.77, 2.22)	0.305
Grupo 2:≥30 obesidad	2.41 (1.19, 3.61)	0.006
ECA aditivo II	1.0	
ECA aditivo (DD vs II)	1.29 (0.82, 2.04)	0.265

MODELO Nº 6

Tabla 22. Variables incluidas en el modelo apareado por sexo y edad del efecto de los polimorfismos del SRA sobre la HTA.

HTA/Variables independientes	Valor de RRE pareado	Valor de p
Raza	1.55 (1.89, 2.69)	0.117
Hacer ejercicio	0.69 (0.40, 1.20)	0.195
Historia de hta en familiar paterno o materno	1.28 (1.33, 3.91)	0.003
Grupo de índice masa corporal:		
Grupo 0:< 25 normal		
Grupo 1:≥25 sobrepeso	1.02 (0.55, 1.89)	0.931
Grupo 2:≥30 obesidad	1.29 (0.64, 2.59)	0.470
ECA no aditivo ID	1.0	
ECA no aditivo (II vs ID)	0.63 (0.33, 1.18)	0.153

Tabla 24. Variables incluidas en el modelo ajustado por sexo y edad del efecto de los polimorfismos del SRA sobre la HTA.

HTA/Variables independientes		Valor de RRE ajustado	Valor de p
Sexo*		1.16 (0.75, 1.79)	0.490
Edad*		1.01 (0.99, 1.03)	0.195
Raza		1.40 (0.94, 2.09)	0.092
Hacer ejercicio		0.56 (0.37, 0.84)	0.006
Historia de hta en familiar paterno o materno		1.84 (1.24, 2.74)	0.002
Grupo de índice masa corporal:			
Grupo 0 <25	normal	1.0	
Grupo 1:≥25	sobrepeso	1.36 (0.86, 2.13)	0.179
Grupo 2:≥30	obesidad	2.03 (1.18, 3.51)	0.011
ECA agrupado:			
Grupo 0: II		1.0	
Grupo 1: ID		1.23 (0.69, 2.17)	0.480
Grupo 2: DD		**1.93 (1.06, 3.49)**	**0.031**

***Variables que ajustan el modelo**

MODELO Nº 2

HTA/Variables independientes		Valor de RRE ajustado	Valor de p
Sexo*		1.17 (0.76, 1.80)	0.470
Edad*		1.01 (0.99, 1.03)	0.194
Raza		1.39 (0.93, 2.06)	0.101
Hacer ejercicio		0.56 (0.37, 0.84)	0.006
Historia de hta en familiar paterno o materno		1.83 (1.24, 2.72)	0.002
Grupo de índice masa corporal:			
Grupo 0:< 25	normal	1.0	
Grupo 1:≥25	sobrepeso	1.37 (0.87, 2.14)	0.167
Grupo 2:≥30	obesidad	2.03 (1.18, 3.50)	0.011
ECA (otros polimorfismos ID e II)		1.0	
ECA (polimorfismo DD)		**1.64 (1.09, 2.47)**	**0.016**

MODELO Nº 3

HTA/Variables independientes	Valor de OR ajustado	Valor de p
Sexo*	1.13 (0.74, 1.74)	0.553
Edad*	1.01 (0.99, 1.03)	0.152
Raza	1.41 (0.95, 2.10)	0.084
Hacer ejercicio	0.56 (0.37, 0.84)	0.005
Historia de hta en familiar paterno o materno	1.85 (1.25, 2.74)	0.002
Grupo de índice masa corporal:		
Grupo 0:< 25 normal	1.0	
Grupo 1:≥25 sobrepeso	1.33 (0.85, 2.09)	0.199
Grupo 2:≥30 obesidad	1.97 (1.14, 3.39)	0.014
ECA dominante II	1.0	
ECA dominante (DD+ID vs II)	1.49 (0.86, 2.56)	0.147

MODELO Nº 4

HTA/Variables independientes	Valor de OR ajustado	Valor de p
Sexo*	1.17 (0.76, 1.80)	0.470
Edad*	1.01 (0.99, 1.03)	0.194
Raza	1.39 (0.93, 2.06)	0.101
Hacer ejercicio	0.56 (0.37, 0.84)	0.006
Historia de hta en familiar paterno o materno	1.83 (1.24, 2.72)	0.002
Grupo de índice masa corporal:		
Grupo 0:< 25 normal	1.0	
Grupo 1:≥25 sobrepeso	1.37 (0.87, 2.14)	0.167
Grupo 2:≥30 obesidad	2.03 (1.18, 3.50)	0.011
ECA recesivo ID+II	1.0	
ECA recesivo (DD vs ID+II)	**1.65 (1.10, 2.47)**	**0.016**

MODELO Nº 5

Tabla 24. Variables incluidas en el modelo ajustado por sexo y edad del efecto de los polimorfismos del SRA sobre la HTA.

HTA/Variables independientes	Valor de OR ajustado	Valor de p
Sexo*	1.08 (0.67, 1.72)	0.747
Edad*	1.02 (0.99, 1.04)	0.075
Raza	1.44 (0.93, 2.21)	0.095
Hacer ejercicio	0.53 (0.34, 0.82)	0.005
Historia de hta en familiar paterno o materno	1.52 (0.99, 2.34)	0.053
Grupo de índice masa corporal:		
Grupo 0:< 25 normal	1.0	
Grupo 1:≥25 sobrepeso	1.42 (0.87, 2.32)	0.155
Grupo 2:≥30 obesidad	2.51 (1.36, 4.61)	0.003
ECA aditivo II	1.0	
ECA aditivo (DD vs II)	**1.55 (1.01, 2.38)**	**0.044**

MODELO Nº 6

HTA/Variables independientes	Valor de OR ajustado	Valor de p
Sexo*	1.14 (0.67, 1.94)	0.625
Edad*	1.01 (0.98, 1.03)	0.462
Raza	1.46 (0.88, 2.41)	0.133
Hacer ejercicio	0.66 (0.40, 1.10)	0.115
Historia de hta en familiar paterno o materno	2.32 (1.41, 2.81)	0.001
Grupo de índice masa corporal:		
Grupo 0:< 25 normal	1.0	
Grupo 1:≥25 sobrepeso	0.98 (0.55, 1.75)	0.963
Grupo 2:≥30 obesidad	1.42 (0.72, 2.82)	0.305
ECA no aditivo ID	1.0	
ECA no aditivo (II vs ID)	0.79 (0.44, 1.40)	0.427

* Variables utilizadas para el ajuste del modelo por el levantamiento del apareamiento

Tabla 28. Valores del modelo apareado para evaluar asociación entre los polimorfismos del SRA e HTA sin incluir los datos anómalos.

HTA/Variables independientes		Valor de RRE apareado	Valor de p
Raza		4.11 (1.55, 10.89)	0.004
Hacer ejercicio		0.48 (0.19, 1.15)	0.102
Historia de hta en familiar paterno o materno		3.69 (1.43, 9.51)	0.007
Grupo de índice masa corporal:			
Grupo 0 <25	normal	1.0	
Grupo 1≥25	sobrepeso	1.0	
Grupo 2:≥30	obesidad	1.13 (0.44, 2.89)	0.791
ECA agrupado:			
Grupo 0: II		1.0	
Grupo 1: ID		4.24 (1.07, 16.7)	0.039
Grupo 2: DD		**24.5 (3.99, 150.3)**	**0.001**

Tabla 26. Valores según individuos y variables del modelo

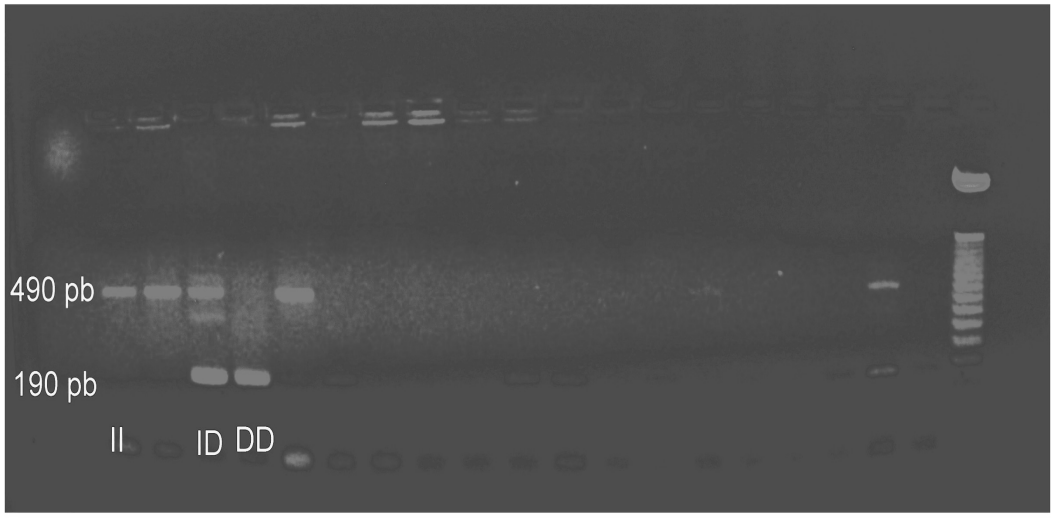
código	caso	afire	caso	ecagen	raza	imcgru	hist	ecage1	ecage2	imcgr2
18	caso	1	1	ID	blanco	1	0	1	0	0
83	caso	0	1	ID	otros	1	0	1	0	0
85	control	0	0	DD	otros	1	0	0	1	0
92	control	1	0	DD	otros	1	0	0	1	0
100	caso	1	1	DD	otros	1	0	0	1	0
105	control	1	0	ID	blanco	2	1	1	0	1
149	caso	0	1	ID	otros	2	1	1	0	1
153	caso	1	1	ID	otros	2	0	1	0	1

Tabla 27. Valores anómalos de dx2

código	p	_hat	_dx2	_dbeta	_gdx2	_gdbeta
18	0.21	0,02	2	0,04	23.490.917	.04479663
83	0.13	0,05	2,2	0,12	19.125.784	.06663767
85	0.25	0,02	1,7	0,03		
92	0.05	0,05	2	0,09		
100	0.04	0,04	2,3	0,08		
105	0.12	0,06	1,8	0,11	.45424035	.02927782
149	0.06	0,03	1,6	0,06	.97660298	.04537326
153	0.05	0,04	1,9	0,07	.97664259	.021896

11.12 ANEXO L

Gráfico 6. Electroforesis para el polimorfismo I/D del gen ECA

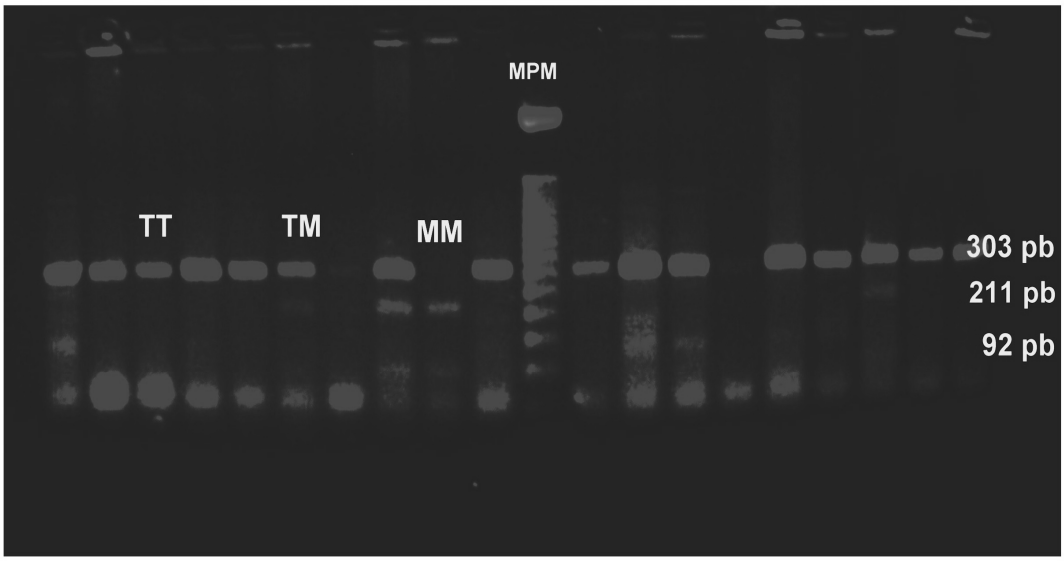


1 2 3 4

Banda 490 pb corresponde al alelo I
Banda 190 pb corresponde al alelo D
MPM: Marcador de peso molecular

1: Genotipo homocigoto II
2: Genotipo heterocigoto ID
3: Genotipo homocigoto DD
4: Marcador de peso molecular (MPM)

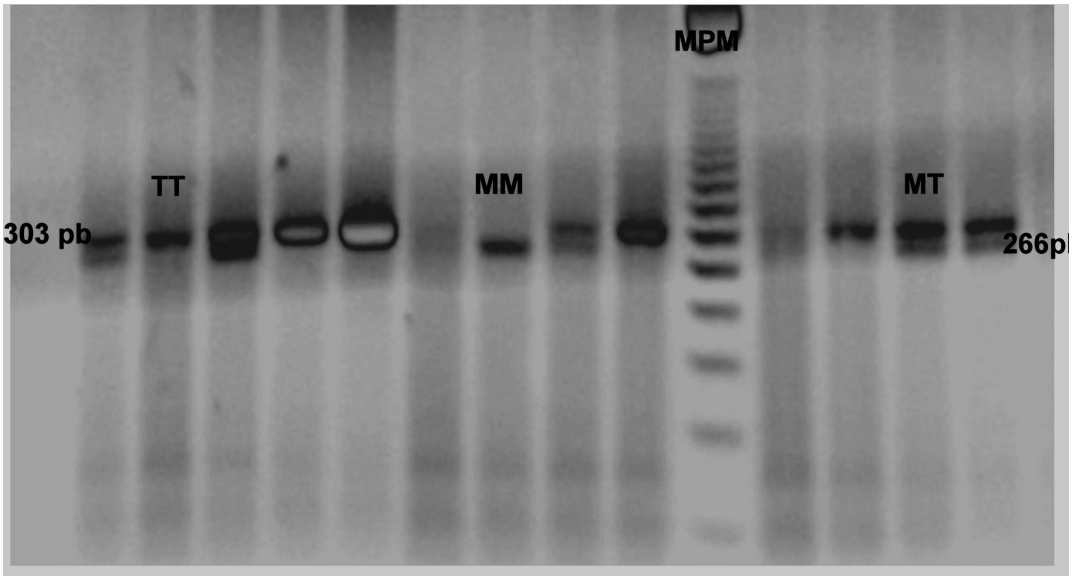
Gráfico 7. Electroforesis para el polimorfismo T174M del gen AGT



Digestión con la enzima de restricción NcoI que produce tres bandas que corresponden:
Banda 303 pares de bases (pb) corresponde al alelo T
Banda 211 pb corresponde al alelo M
Banda de 92 pb inespecífica

1: Genotipo homocigoto TT
2: Genotipo heterocigoto TM
3: Genotipo homocigoto MM
4: Marcador de peso molecular (MPM)

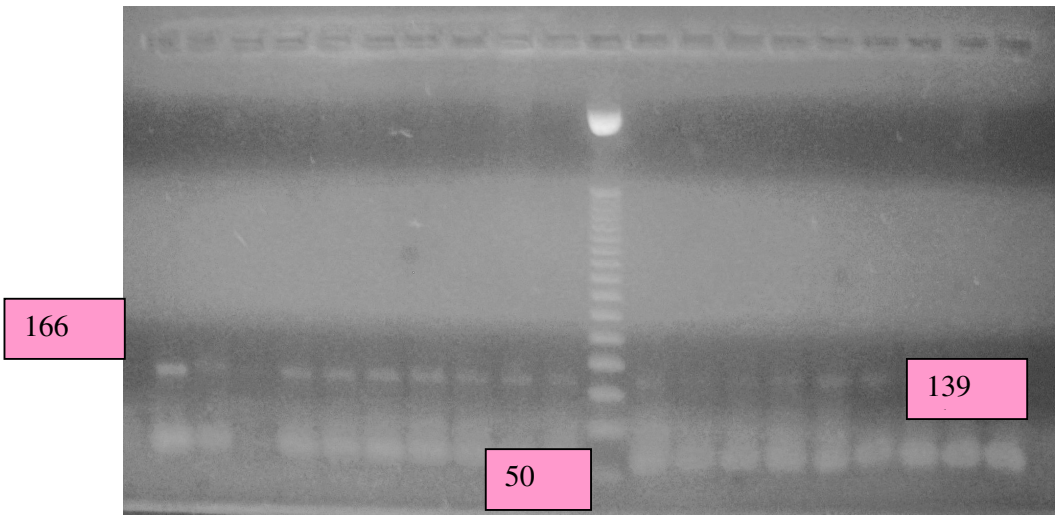
Gráfico 8. Electroforesis para el polimorfismo M235T del gen AGT



Digestión con la enzima LweI produce dos bandas de restricción que corresponden a:
Banda de 303 pares de bases (pb) alelo T
Banda de 266 pb alelo M

1: Genotipo homocigoto TT
2: Genotipo homocigoto MM
3: Marcador de peso molecular (MPM)
4: Genotipo heterocigoto TM

Gráfico 9. Electroforesis para el polimorfismo A1166C del gen r1AT



Enzima de restricción Afl II que produce los siguientes fragmentos:
1 Banda de 166 pb que corresponde al alelo A
2 Bandas de 139 y de 27 pb que corresponde al alelo C

1: Genotipo homocigoto AA
2: Genotipo heterocigoto AC
3: MPM
4: Genotipo homocigoto CC

11.13 ANEXO LL

Gráfico 10. Ajuste del modelo condicional comparando los valores dx2 con la probabilidad

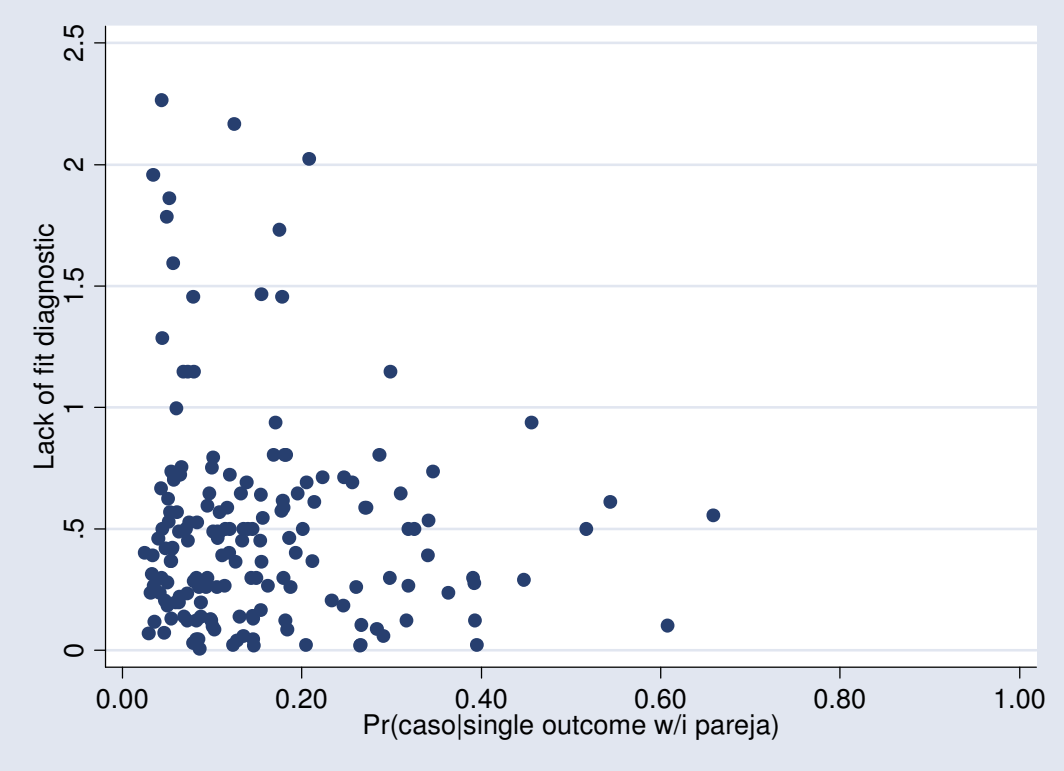


Gráfico 11. Ajuste del modelo condicional al comparar los valores dbeta contra el predict por cada grupo analizado

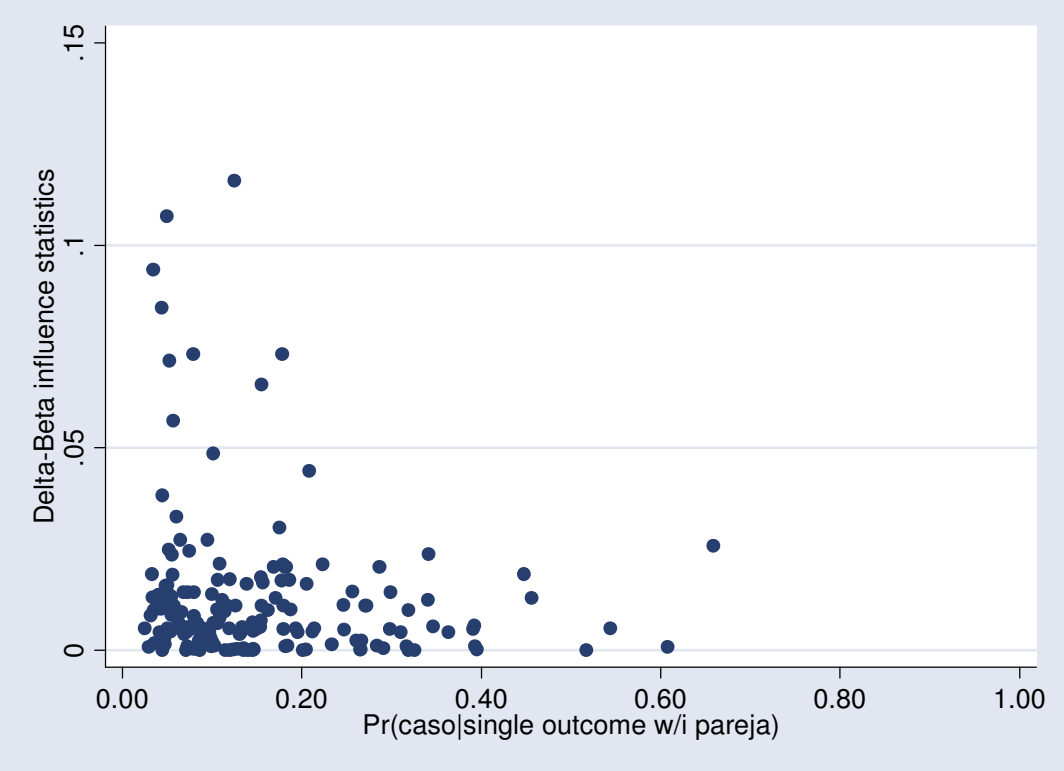


Gráfico 12. Ajuste del modelo condicional mostrando los valores gdx2 o datos que no ajustan por grupo analizado

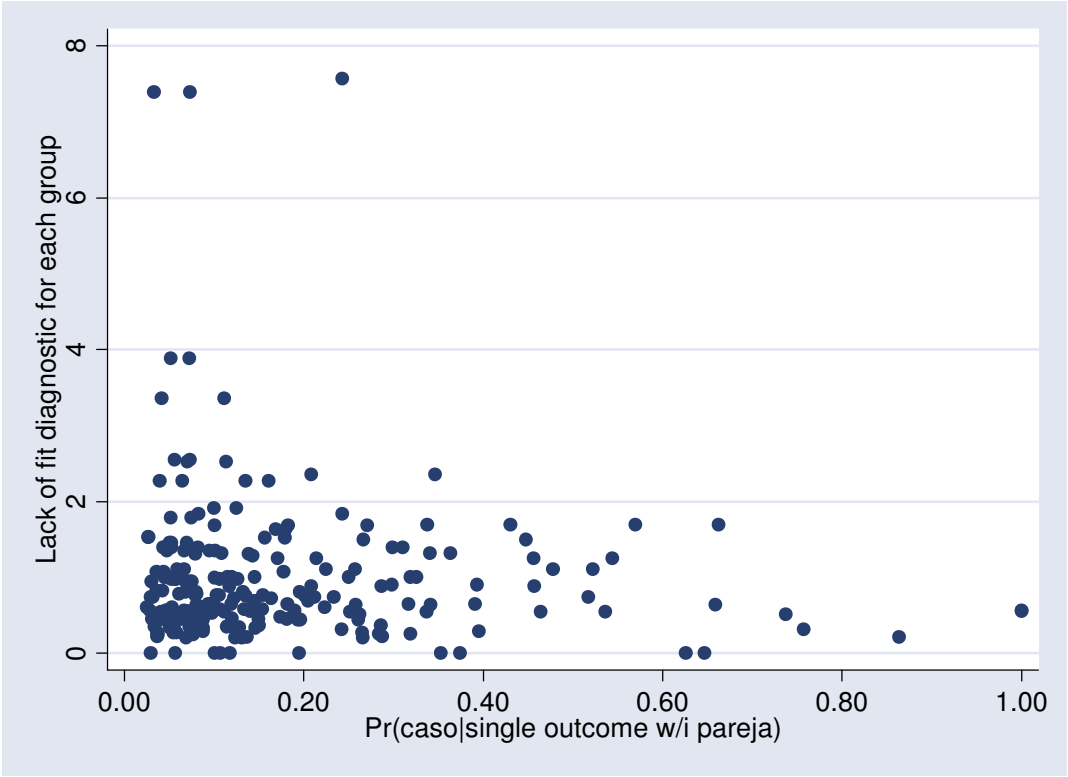


Gráfico 13. Ajuste del modelo condicional sin valores outliers compara dx2 y probabilidad por grupos

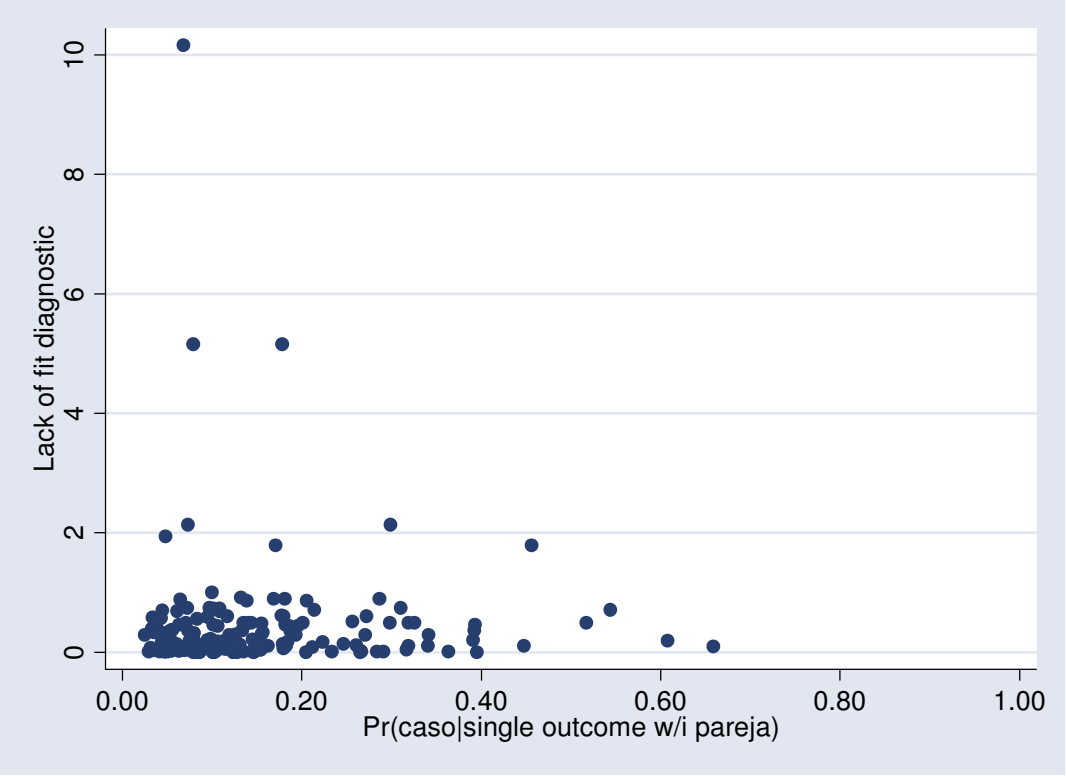
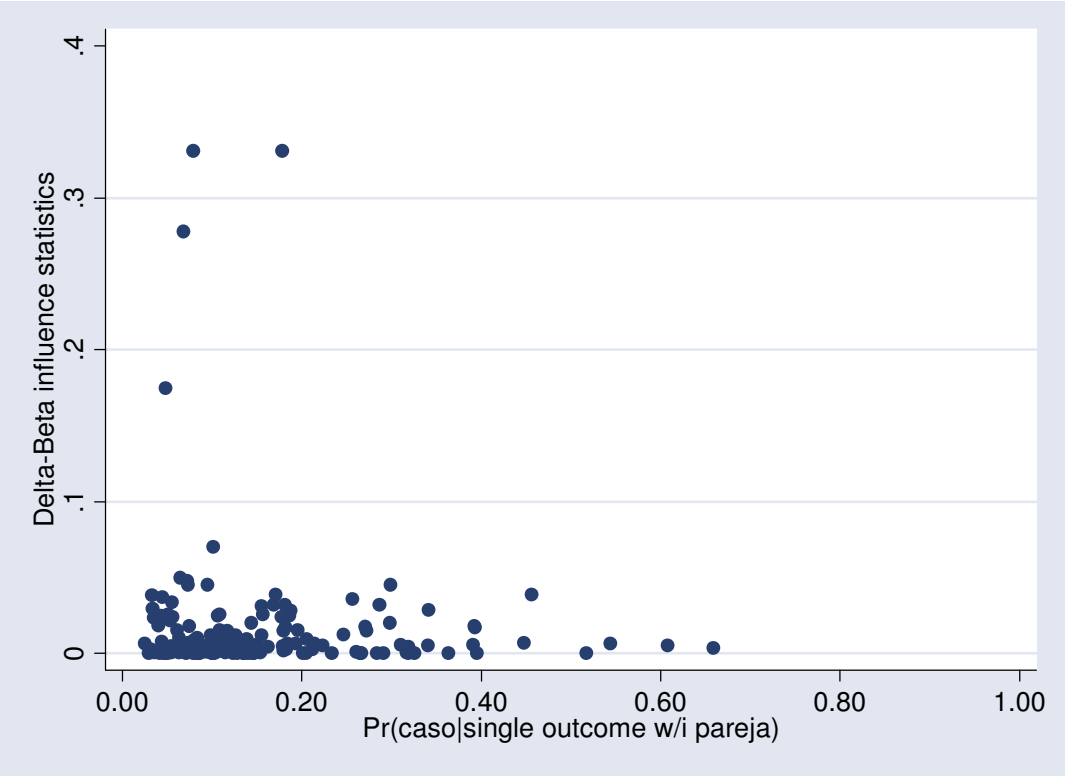
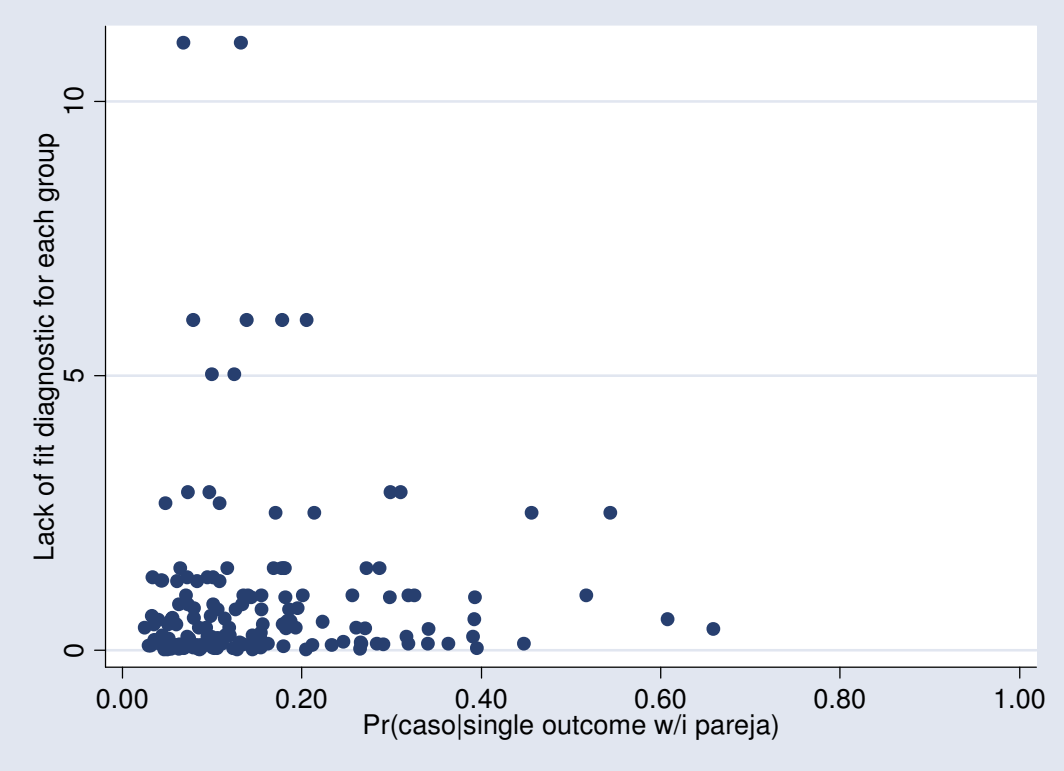


Grafico 14. Ajuste del modelo condicional sin valores outliers compara dbeta y probabilidad por grupos



Gráfica 15. Ajuste del modelo condicional sin valores outliers compara gdx2 y probabilidad por grupos



11.14 ANEXO M

Gráfico 16. Prueba de bondad de ajuste del modelo no condicional comparando los valores dx2 y la probabilidad de caso

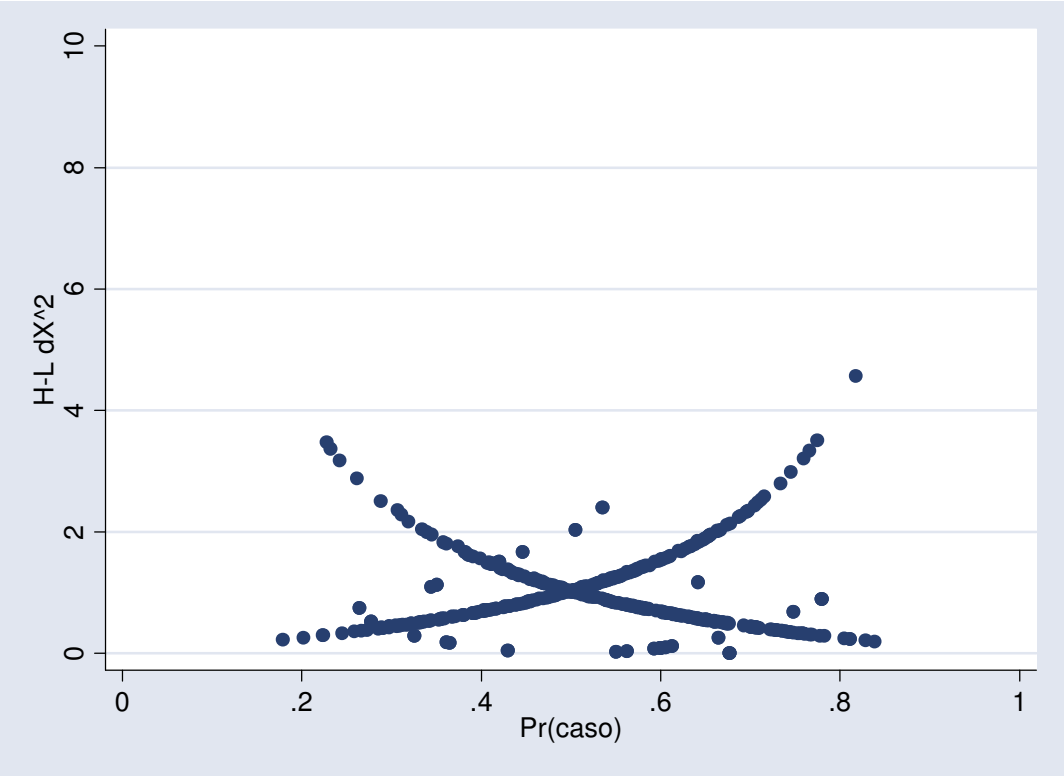


Grafico 17. Prueba de bondad de ajuste del modelo no condicional comparando los valores del leverage (hat) y la probabilidad de caso

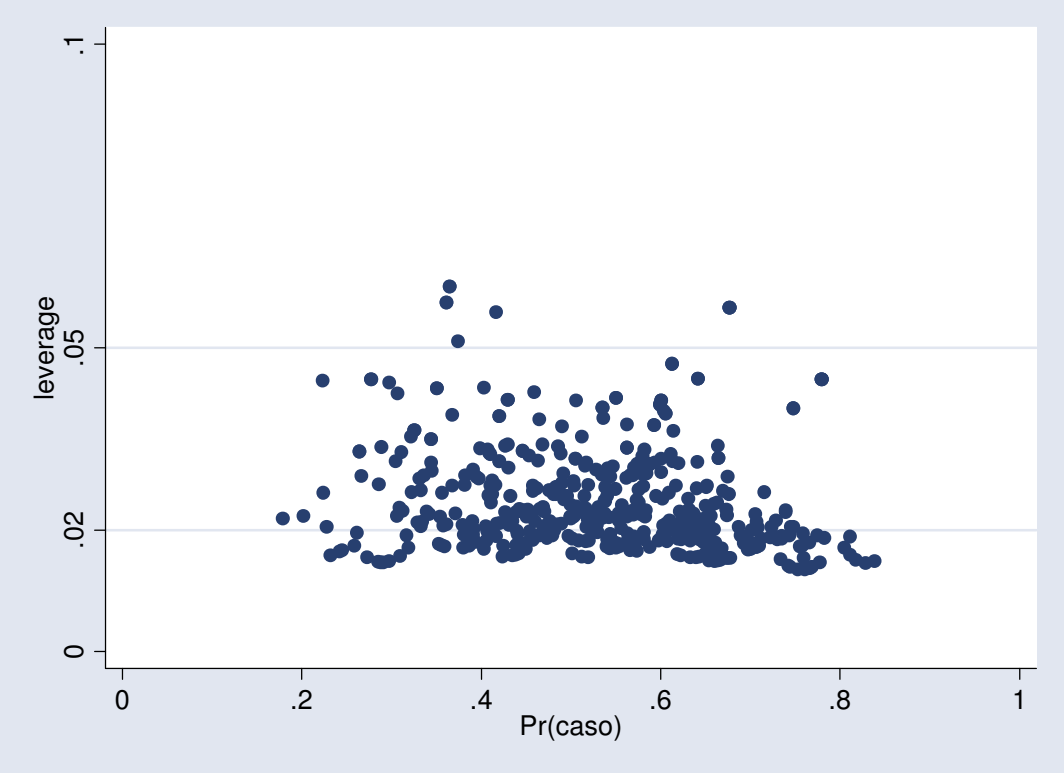
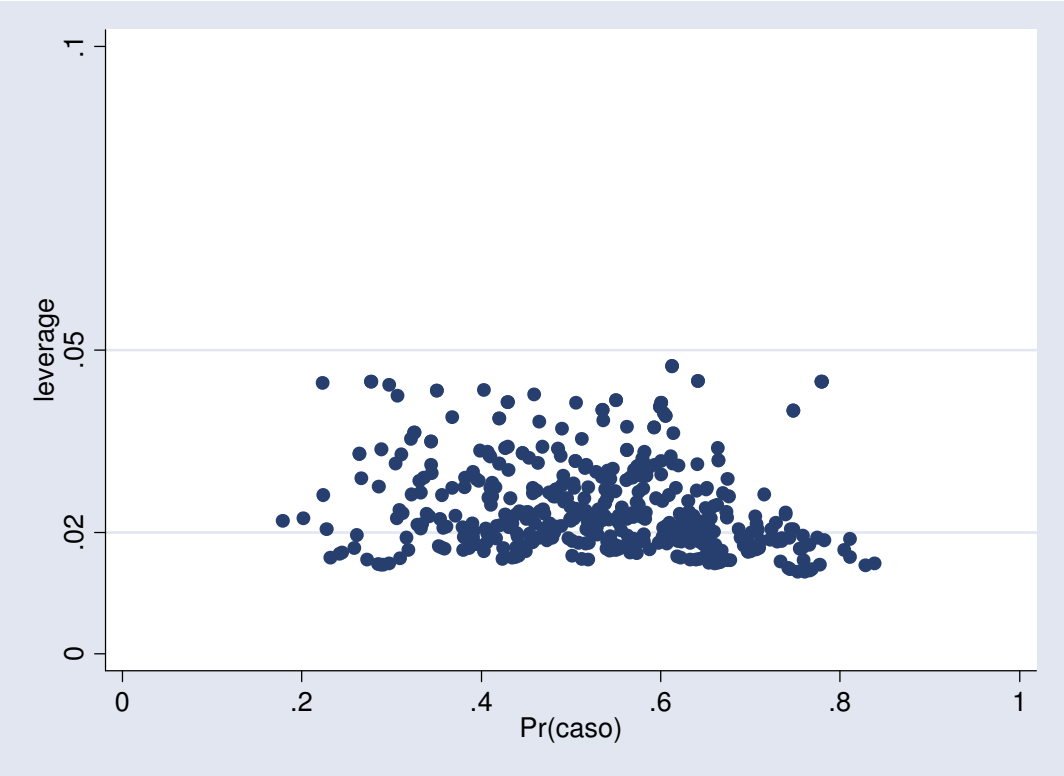


Gráfico 18. Prueba de bondad de ajuste del modelo no condicional comparando los valores del leverage (hat) y la probabilidad de caso, eliminando los datos anómalos.



11.15 ANEXO N

Tabla 29. Datos del individuo y variables del modelo, valor anómalo para dx2

número	caso	ecagen	sexo	edad	raza	hist	afire	imcgru	hat	**dx2**
82	0	2	0	52	otros	1	0	2		**4.5647**

Tabla 30. Datos del individuo y variables del modelo, valores anómalos del leverage (hat)

encnu	caso	sexo	edad	afire	hist	raza	imc	ecagen	Ieca_1	Ieca_2	Iimc_1	Iimc_2	p	h	dx
40365	1	0	33	0	0	otros	0	1	1	0	0	0	.36528	.06007	.166
80609	1	0	17	0	1	blanc	0	1	1	0	0	0	.37444	.05107	1,76
110885	1	1	23	1	1	blanc	2	0	0	0	0	1	.41644	.05586	1,48
181371	0	1	59	0	0	otros	1	2	0	1	1	0	.67707	.05664	.001
211656	1	1	59	0	0	otros	1	2	0	1	1	0	.67707	.05664	.001
221700	1	1	59	0	0	otros	1	2	0	1	1	0	.67707	.05664	.001
191481	0	0	45	1	1	blanc	1	0	0	0	1	0	.36150	.05742	.176
261975	1	0	45	1	1	blanc	1	0	0	0	1	0	.36150	.05742	.176
372812	1	0	33	0	0	otros	0	1	1	0	0	0	.36528	.06007	.166

Tabla 31. Valores del modelo ajustado por sexo y edad para evaluar asociación entre los polimorfismos del SRA e HTA sin incluir el dato anómalo para dx2.

HTA/Variables independientes		Valor de RRE ajustado	Valor de p
Sexo*	Masculino	1.15 (0.75, 1.79)	0.524
Edad*		1.01 (0.99, 1.03)	0.208
Raza	Negra	1.42 (0.95, 2.12)	0.079
Hacer ejercicio		0.55 (0.36, 0.82)	0.004
Historia de hta en familiar paterno o materno		1.88 (1.26, 2.80)	0.002
Grupo de índice masa corporal:			
Grupo 0 <25	normal	1.0	
Grupo 1:≥25	sobrepeso	1.36 (0.86, 2.14)	0.177
Grupo 2:≥30	obesidad	2.12 (1.22, 3.67)	0.007
ECA agrupado:			
Grupo 0: II		1.0	
Grupo 1: ID		1.23 (0.69, 2.18)	0.470
Grupo 2: DD	**grupo de riesgo**	**1.98 (1.09, 3.60)**	**0.024**

* Variables utilizadas para el ajuste del modelo por el levantamiento del apareamiento

Tabla 32. Valores del modelo ajustado por sexo y edad para evaluar asociación entre los polimorfismos del SRA e HTA sin incluir los datos anómalos para leverage.

HTA/Variables independientes		Valor de RRE ajustado	Valor de p
Sexo*	masculino	1.18 (0.75, 1.83)	0.461
Edad*		1.02 (0.89, 1.04)	0.086
Raza	negra	1.47 (0.98, 2.20)	0.060
Hacer ejercicio		0.55 (0.36, 0.83)	0.004
Historia de hta en familiar paterno o materno		1.87 (1.25, 2.79)	0.002
Grupo de índice masa corporal:			
Grupo 0 <25	normal	1.0	
Grupo 1:≥25	sobrepeso	1.40 (0.88, 2.21)	0.149
Grupo 2:≥30	obesidad	2.13 (1.22, 3.70)	0.007
ECA agrupado:			
Grupo 0: II			
Grupo 1: ID		1.29 (0.71, 2.32)	0.395
Grupo 2: DD	**grupo riesgo**	**2.11 (1.14, 3.89)**	**0.017**

* Variables utilizadas para el ajuste del modelo por el levantamiento del apareamiento

11.16 ANEXO O

Gráfico 19. Distribución de los promedios de la presión arterial sistólica

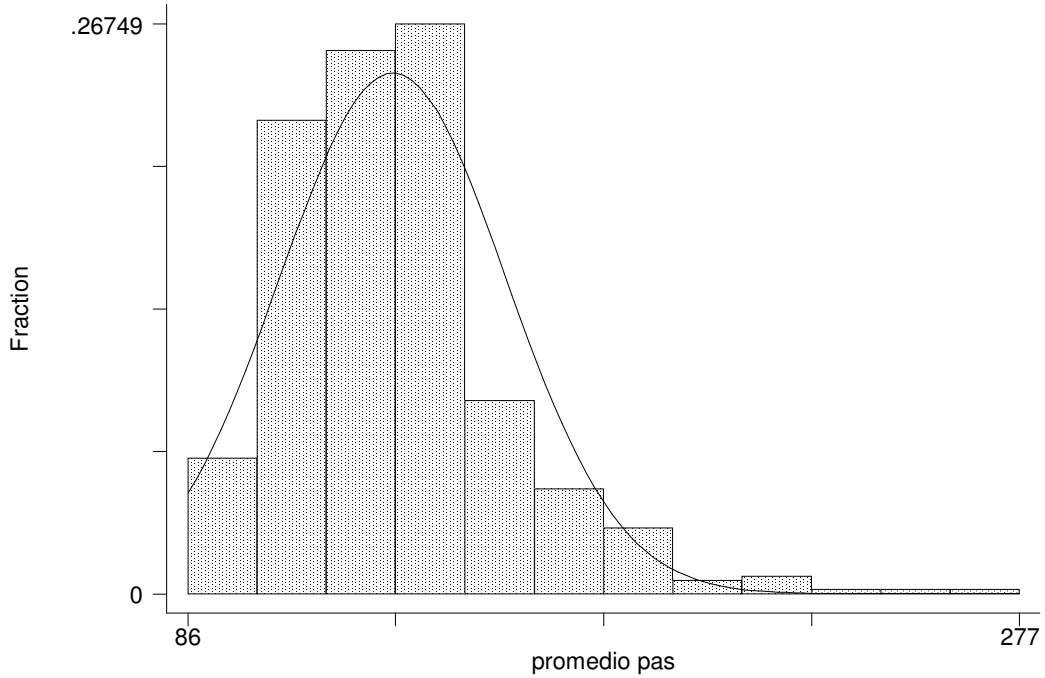


Gráfico 20. Distribución de los promedios de la presión arterial diastólica

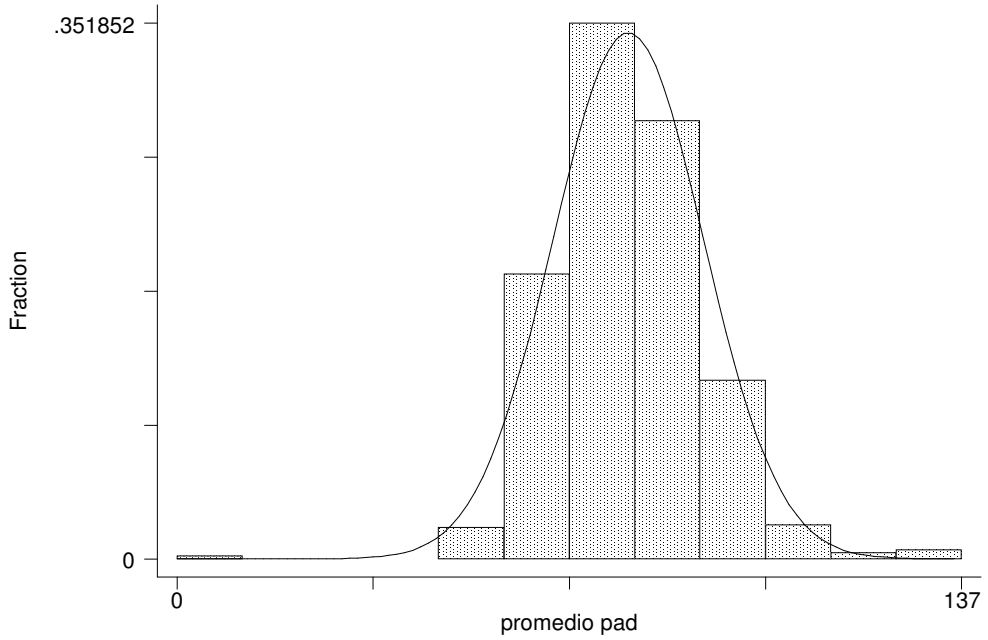


Tabla 33. Variables transformadas a partir de los promedios de la presión sistólica y de la diastólica.

Variable	Valor de p test S-W
Promedio de dos medidas de la presión sistólica (prompas)	0.000
Promedio de dos medidas de la presión diastólica (prompad)	0.000
Recíproco de promedio presión sistólica 1/prompas	0.1796
Logaritmo de promedio presión diastólica log prompad	0.2468

Gráfico 21. Distribución del inverso de los promedios de la presión arterial sistólica

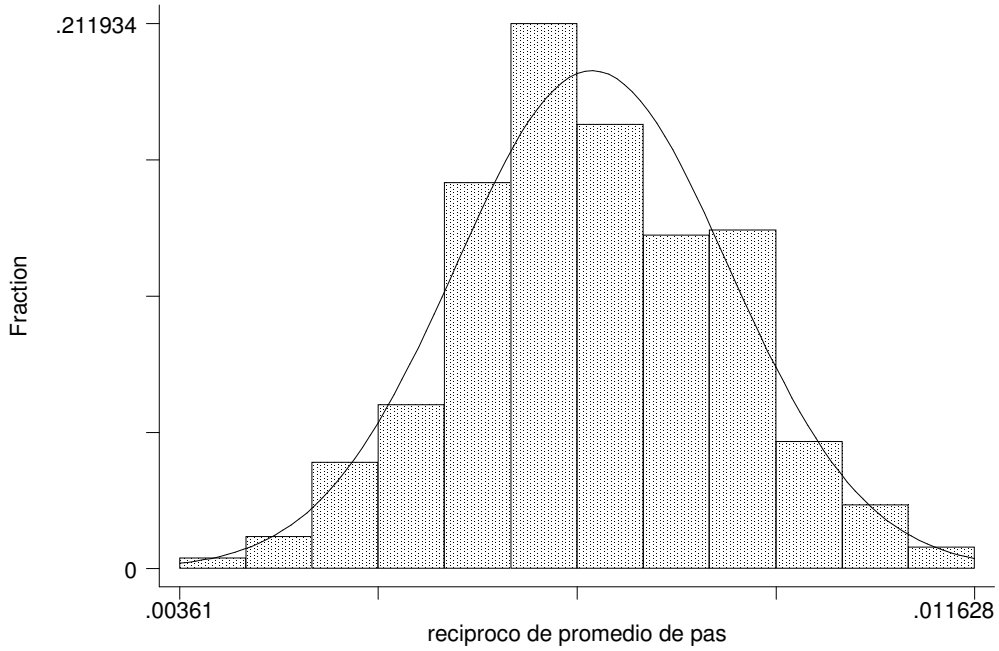


Gráfico 22. Distribución de ln de los promedios de la presión arterial diastólica

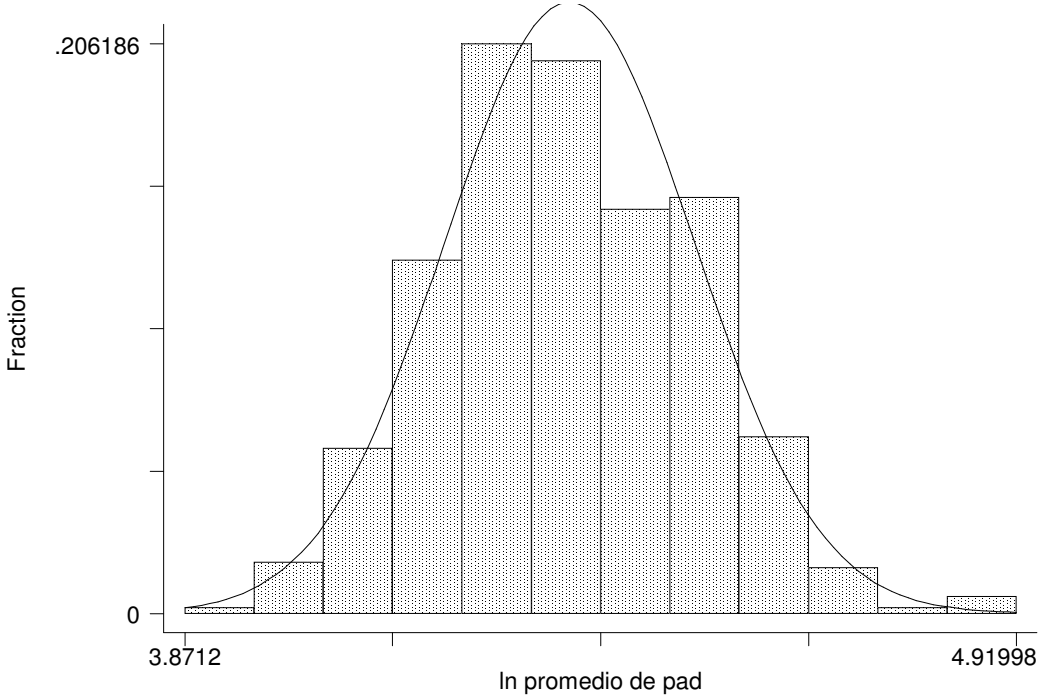


Gráfico 23. Distribución de la variable edad.

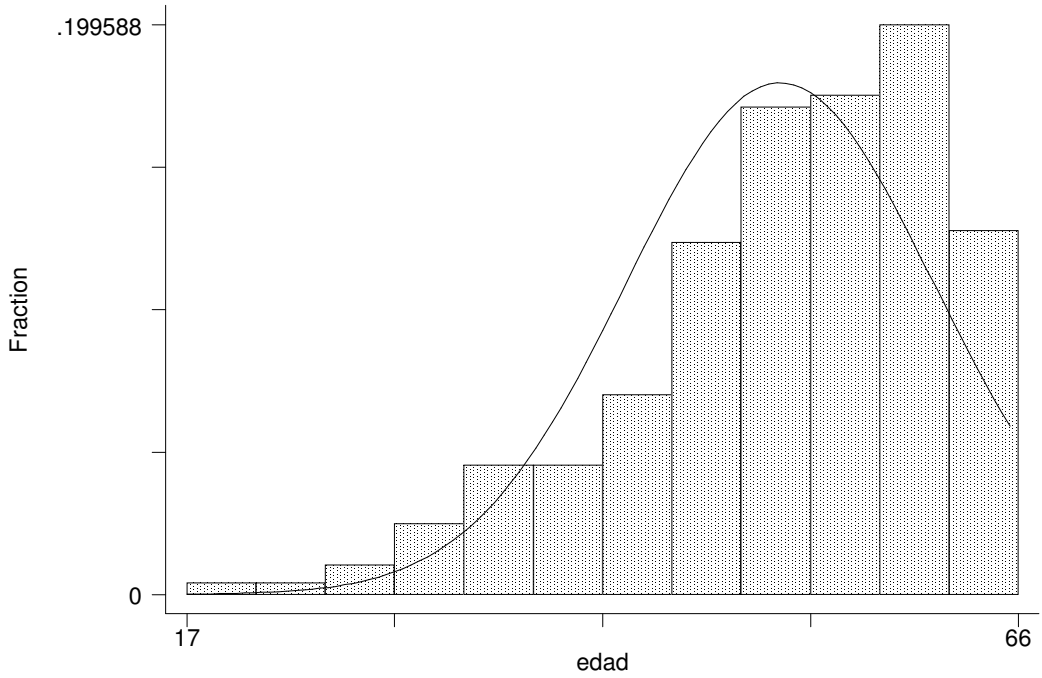


Tabla 34. Resultados de la regresión lineal múltiple de la presión sistólica para los casos y los controles

prompas	Coef.	P>|t|	[95% Conf.	Interval]
_Iecagen_1	-5.37352	0.040	-10.50225	-0.2447847
_Iecagen_2	-3.81798	0.161	-9.157003	1.521044
caso	30.08899	0.000	26.4194	33.75859
sexo	4.833521	0.019	0.7902828	8.876758
edad	0.5551584	0.000	0.3561008	0.7542159
raza	-2.275702	0.225	-5.956836	1.405431
afire	2.870177	0.130	-0.8486763	6.58903
_Iimcgrupo_1	1.483418	0.488	-2.722364	5.6892
_Iimcgrupo_2	-0.8163582	0.753	-5.92076	4.288044
_cons	90.37367	0.000	78.72613	102.0212

ecagen 0: II referencia. Grupo par ael polimorfismo del gen de la ECA
ecagen 1: ID
ecagen 2: DD
imcgrupo 0:<25 normal. Grupo del Indice de masa corporal
imcgrupo 1 ≥25: sobrepeso
imcgrupo 2 ≥30: obesidad
Afire: Hacer ejercicio.

Tabla 35. Resultados de la regresión lineal múltiple de la presion diastólica para los casos y los controles

prompad	Coef.	P>|t|	[95% Conf.	Interval]
_Iecagen_1	-2.911583	0.068	-6.044799	0.2216323
_Iecagen_2	-0.1486343	0.929	-3.410318	3.11305
caso	12.81084	0.000	10.56904	15.05265
sexo	5.238602	0.000	2.768532	7.708673
edad	-0.1747779	0.005	-0.2963849	-0.0531708
raza	-1.016472	0.375	-3.265328	1.232384
afire	-0.5004413	0.665	-2.772341	1.771458
_Iimcgrupo_1	3.745823	0.004	1.176452	6.315193
_Iimcgrupo_2	4.699459	0.003	1.581109	7.817809
_cons	78.85922	0.000	71.74357	85.97487

Tabla 36. Resultados de la regresión lineal múltiple del inverso del promedio presion sistólica para los casos y los controles

recipas	Coef.	P>|t|	[95% Conf.	Interval]
_Iecagen_1	0.0002893	0.045	6.28e-06	0.0005723
_Iecagen_2	0.000227	0.131	-0.0000676	0.0005216
caso	-0.0017169	0.000	-0.0019194	-0.0015144
sexo	-0.0003568	0.002	-0.0005799	-0.0001337
edad	-0.0000342	0.000	-0.0000452	-0.0000233
raza	0.0000846	0.413	-0.0001185	0.0002878
afire	-0.0001786	0.088	-0.0003838	0.0000266
_Iimcgrupo_1	-0.0001215	0.304	-0.0003536	0.0001106
_Iimcgrupo_2	-0.0000212	0.883	-0.0003028	0.0002605
cons	0.0104133	0.000	0.0097706	0.011056

F (3, 369)=38.12 p=0.0000

Tabla 37. Resultados de la regresión lineal múltiple del inverso del promedio presión diastólica para los casos y los controles

logpad	Coef.	Std. Err.	[95% Conf.	Interval]
_Iecagen_1	-0.0272091	0.141	-0.0634446	0.0090263
_Iecagen_2	-0.002119	0.912	-0.0398169	0.0355789
caso	0.1667825	0.000	0.140793	0.1927719
sexo	0.0656527	0.000	0.0371008	0.0942045
edad	-0.0018449	0.010	-0.0032513	-0.0004386
raza	-0.0179205	0.177	-0.0439703	0.0081292
afire	0.0025409	0.850	-0.0237921	0.0288739
_Iimcgrupo_1	0.0389628	0.011	0.009157	0.0687686
_Iimcgrupo_2	0.0502541	0.007	0.0140448	0.0864634
_cons	4.338252	0.000	4.256011	4.420493

F(3, 36)=23.16 p=0.000

Tabla 38. Resultados de la regresión lineal múltiple del promedio presión sistólica para los casos y los controles polimorfismo t174m

prompas	Coef.	P>|t|	[95% Conf.	Interval]
_Igenagt_1	5.979166	0.638	-18.99167	30.95
_Igenagt_2	4.174576	0.051	-0.0251173	8.374269
caso	29.98389	0.000	26.3211	33.64669
sexo	4.350411	0.036	0.2951255	8.405697
edad	0.5637821	0.000	0.3658526	0.7617116
raza	-2.012531	0.281	-5.68144	1.656378
afire	2.753847	0.147	-0.9688109	6.476505
_Iimcgrupo_1	1.550741	0.469	-2.656676	5.758159
_Iimcgrupo_2	-0.6199633	0.811	-5.727491	4.487564
_cons	82.86812	0.000	71.5325	94.20374

genagt 0: MT referencia. Grupo del polimorfismo del AGT . F(9, 369) = 34.56 P=0.0000
genagt 1: MM
genagt 2: TT
imcgrupo 0:<25 normal
imcgrupo 1 ≥25: sobrepeso
imcgrupo 2 ≥30: obesidad

Tabla 39. Resultados de la regresión lineal múltiple del promedio presión sistólica para los casos y los controles polimorfismo A1166C del r1AT

prompas	Coef.	P>|t|	[95% Conf.	Interval]
_Ir1ATII_1	-0.6268519	0.819	-5.998011	4.744307
_Ir1ATII_2	-26.43968	0.144	-61.96968	9.090316
caso	29.84441	0.000	26.17469	33.51412
sexo	4.590796	0.026	0.5395509	8.642042
edad	0.566065	0.000	0.3676604	0.7644697
raza	-1.830966	0.329	-5.517305	1.855374
afire	3.065459	0.108	-0.6757752	6.806694
_Iimcgrupo_1	1.043906	0.627	-3.172031	5.259843
_Iimcgrupo_2	-1.101351	0.672	-6.217833	4.01513
_cons	86.63768	0.000	74.82028	98.45508

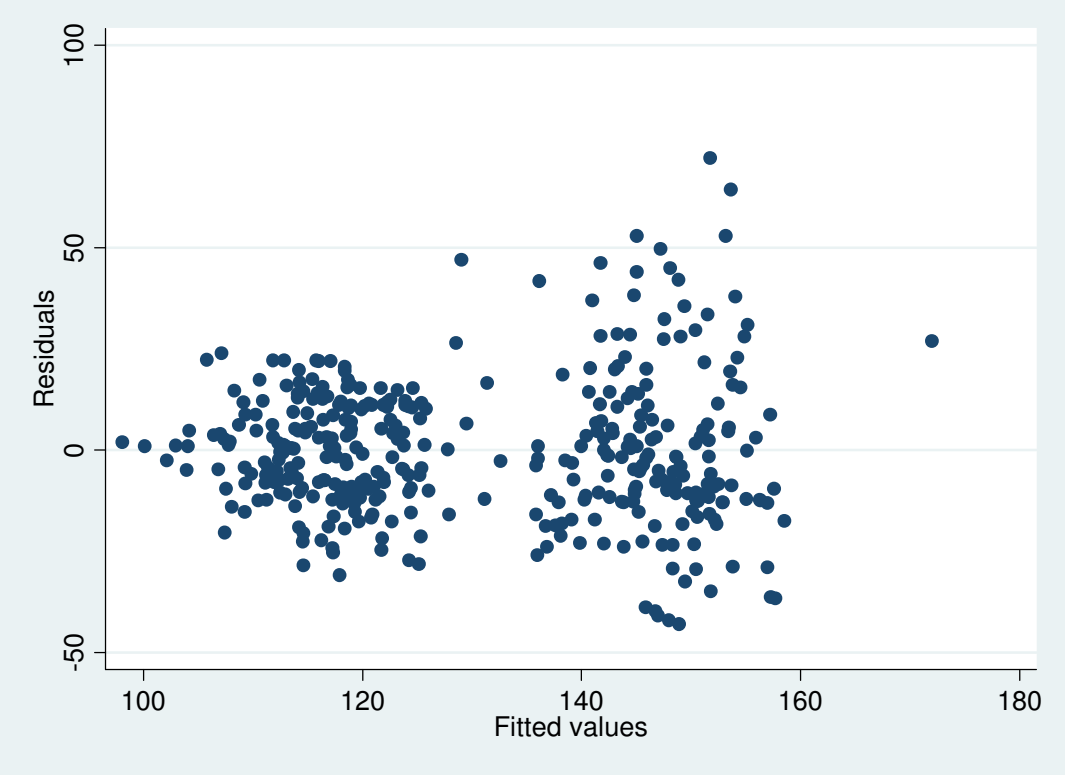
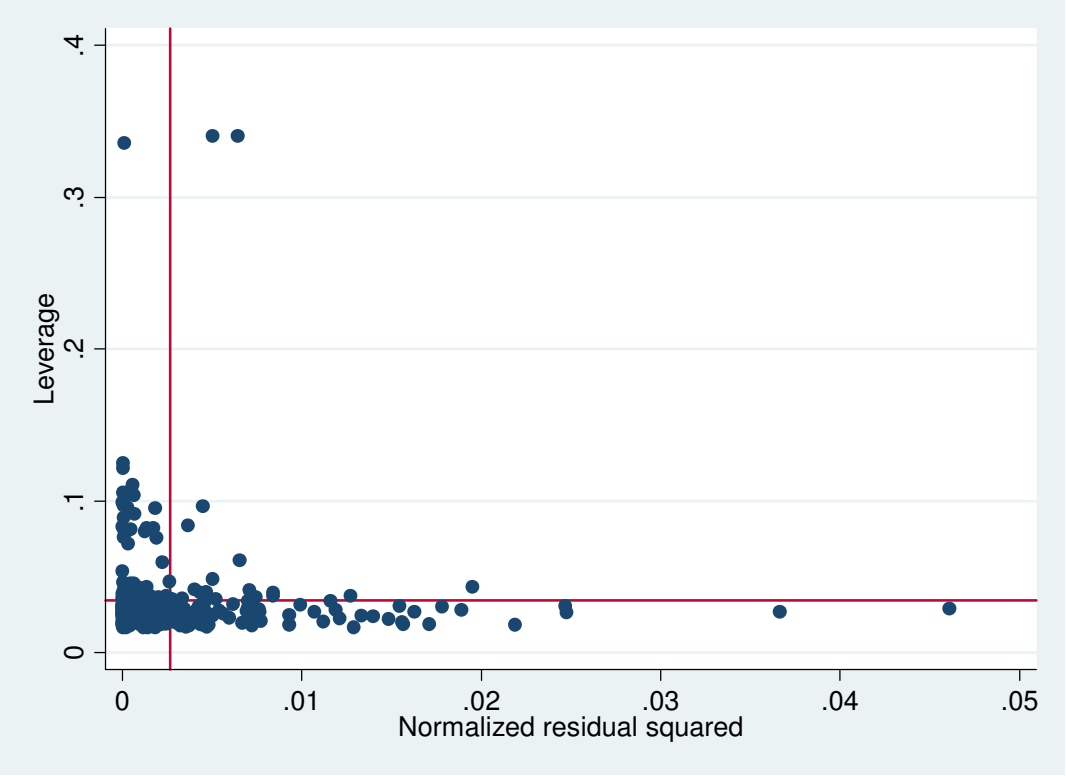
r1ATII 0: AC referencia. Grupo para el polimorfismo A1166C F(9, 369) = 34.21 p=0.000
r1ATII 1: AA
r1ATII 2: CC
imcgrupo 0:<25 normal
imcgrupo 1 ≥25: sobrepeso
imcgrupo 2 ≥30: obesidad

Tabla 40. Resultados de la regresión lineal múltiple del promedio presión diastólica para los casos y los controles polimorfismo A1166C del r1AT

prompad	Coef.	P>|t|	[95% Conf.	Interval]
_Ir1ATII_1	-0.3916777	0.815	-3.68892	2.905564
_Ir1ATII_2	-8.172794	0.462	-29.98391	13.63833
caso	12.88798	0.000	10.63522	15.14074
sexo	5.255106	0.000	2.768131	7.74208
edad	-0.1587316	0.011	-0.280528	-0.0369351
raza	-0.8828443	0.443	-3.145811	1.380122
afire	-0.4207535	0.719	-2.717419	1.875912
_Iimcgrupo_1	3.408494	0.010	0.8204182	5.996569
_Iimcgrupo_2	4.405891	0.006	1.26499	7.546792
_cons	77.0479	0.000	69.79344	84.30235

F(9, 369) = 18.79 p=0.0000

Gráfica 24. Valores residuales de la regresión lineal para promedio de presión arterial sistólica y el polimorfismo DD"



Gráfica 25. Valores estándar para la predicción de la regresión lineal para promedio de presión arterial sistólica y el polimorfismo DD