

**POLIMORFISMO DEL GEN DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE  
ANGIOTENSINA ASOCIADO A PREECLAMPSIA EN MUJERES DE  
SANTANDER, COLOMBIA**

**ADRIANA INÉS GONZÁLEZ QUITIÁN**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE SALUD – ESCUELA DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA  
BUCARAMANGA  
2005**

**POLIMORFISMO DEL GEN DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE  
ANGIOTENSINA ASOCIADO A PREECLAMPSIA EN MUJERES DE  
SANTANDER, COLOMBIA**

**ADRIANA INÉS GONZÁLEZ QUITIÁN**

**Trabajo de Investigación**

**Directores**

**NORMA SERRANO, MD, MSc  
CARLOS HERNAN BECERRA, MD**

**Asesores**

**CAROLINA PAEZ, MD  
LUIS ALFONSO DÍAZ, MD, MSc**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE SALUD – ESCUELA DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA  
BUCARAMANGA**

**2005**

A mi amiga y colega Elizabeth por su inspiración, ella es un ejemplo de profesionalismo y de vida.

A mis hermanos: Freddy por su compañía constante y Alexander por su fortaleza para continuar su tratamiento.

A mis padres por su colaboración y cariño sin límites.

A mi esposo John por su amor incondicional y tolerancia.

A mi hija del alma, María Luisa, por su comprensión y espera.

## AGRADECIMIENTOS

La autora expresa sus agradecimientos a:

**Las pacientes** que participaron en el estudio, su aporte fue indispensable para la realización de la investigación.

**Mi familia González Quitián y Rosales Núñez**, porque me acompañaron en momentos difíciles y siempre cuidaron de mi hija en mi ausencia.

**Doctora María Elizabeth Ardila**, Médica Internista, quien compartió conmigo ésta línea de investigación y me asesoró en los inicios de ésta.

**Doctora María Carolina Páez**, Médica del Laboratorio de Genética de la UNAB, sin su valiosa orientación hubiese sido imposible éste logro. Ella siempre fue una motivación en mi actividad y un ejemplo a seguir por su dedicación y disciplina.

**Doctora Norma Serrano**, Médica Genetista, por brindarme la oportunidad de trabajar con su grupo, por su orientación y apoyo.

**Doctor Germán Gamarra**, Médico Internista-Nefrólogo y Epidemiólogo por impulsarme con su apoyo, consejo y gestión para establecer un vínculo de trabajo con la UNAB.

**Doctor Carlos Becerra**, Ginecobstetra- Perinatólogo, por su disponibilidad, asesoría y confianza.

**Doctoras Laura del Pilar Cadena y Paula Andrea Millán**, Médicas integrantes del grupo de Investigaciones de la UNAB, por su gran colaboración en la logística de la investigación.

**Doctor Luis Alfonso Díaz**, Pediatra Epidemiólogo, por sus aportes académicos y análisis, por su ánimo y principalmente por su amistad.

**Profesores del Departamento de Ginecología y Obstetricia** por su ánimo y apoyo.

**Universidad Autónoma de Bucaramanga UNAB**, por su apoyo logístico y económico.

**Universidad Industrial de Santander UIS y Hospital Universitario Ramón González Valencia HURGV**, por su apoyo logístico.

**Grupo de Investigación y Estudio Genético de Enfermedades Complejas de la UNAB**, por creer en mí y tener sus puertas siempre abiertas.

## CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	20
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	22
2. JUSTIFICACIÓN E IMPACTO	23
3. MARCO TEÓRICO	25
3.1. DEFINICIÓN	25
3.2. FACTORES DE RIESGO	25
3.3. GENÉTICA DE LA PREECLAMPSIA	28
3.4. SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA Y PREECLAMPSIA	29
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	34
5. OBJETIVO DEL ESTUDIO	35
6. METODOLOGÍA	36
6.1. TIPO DE ESTUDIO	36

6.2. MUESTRA	36
6.3. CARACTERISTICAS DEL SUJETO A ESTUDIO	37
6.3.1. Definición y criterios de inclusión de casos	37
6.3.2. Definición y criterios de inclusión de controles	37
6.3.3. Criterios de no inclusión de casos y controles	38
6.3.4. Criterios de exclusión de controles	38
6.4. VARIABLES	38
6.4.1. Entrevista.	38
6.4.1.1. Raza.	38
6.4.1.2. Antecedente de tabaquismo durante el embarazo	39
6.4.1.3. Antecedente de infecciones durante el embarazo	39
6.4.1.4. Antecedente de enfermedades auto inmunes	39
6.4.1.5. Antecedente familiar de preeclampsia	40
6.4.2. Estado clínico	40

6.4.2.1. Presencia de signos premonitorios de eclampsia	40
6.4.2.2. Presión arterial	40
6.4.3. Laboratorios	40
6.4.3.1. Proteinuria por tira reactiva	40
6.4.3.2. Proteinuria en orina al azar	40
6.4.3.3. Proteinuria en orina de 24 horas	41
6.5. GENOTIPIFICACIÓN	41
6.5.1. Recolección y almacenamiento de la muestra de sangre	41
6.5.2. Extracción de DNA.	41
6.5.3. Amplificación del DNA por PCR	41
6.5.4. Visualización por electroforesis	42
7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	44
8. ASPECTOS ÉTICOS	46
9. ASPECTOS AMBIENTALES	47
10. RESULTADOS	48

10.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN DISTRIBUIDAS EN CASOS Y CONTROLES	48
10.2. FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO I/D DEL GEN DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA EN CASOS Y CONTROLES	50
10.3. ANÁLISIS MULTIVARIADO	52
11. DISCUSIÓN	53
12. CONCLUSIÓN	56
13. RECOMENDACIONES	57
REFERENCIAS	58
BIBLIOGRAFIA	65
ANEXOS	72

## LISTA DE TABLAS

	<b>pag.</b>
Tabla 1. Principales genes asociados a Preeclampsia	28
Tabla 2. Tamaño de la muestra	36
Tabla 3. Características de Raza	39
Tabla 4. Características demográficas y clínicas distribuidas en casos y controles	49
Tabla 5. Frecuencia del polimorfismo del gen de la ECA en casos y controles (Modelo codominante)	50
Tabla 6. Modelo dominante	51
Tabla 7. Modelo recesivo	52

## LISTA DE FIGURAS

	<b>pag.</b>
Figura 1. Polimorfismos del gen de la Enzima convertidora de Angiotensina	31

## LISTA DE ANEXOS

	<b>pag.</b>
Anexo A. Formato de recolección de la información	72

## GLOSARIO

**ADN:** abreviatura de ácido desoxirribonucleico (en inglés *desoxyribonucleic acid* o DNA). Es la molécula que contiene y transmite la información genética de los organismos excepto en algunos tipos de virus (retrovirus). Está formada por dos cadenas complementarias de nucleótidos que se enrollan entre sí formando una doble hélice que se mantiene unida por enlaces de hidrógeno entre bases complementarias. Los cuatro nucleótidos que forman el ADN contienen las bases adenina (A), guanina (G), citosina (C) y timina (T). Dado que en el ADN la adenina se empareja sólo con la timina y la citosina sólo con la guanina, cada cadena del ADN puede ser empleada como molde para fabricar su complementaria.

**AMPLIFICACIÓN:** aumento del número de copias de una secuencia de ADN, bien mediante un proceso biológico en la célula, o bien mediante técnicas de laboratorio.

**ALELO:** cada una de las formas en que puede presentarse un gen en un determinado locus de cromosomas homólogos.

**ALU, SECUENCIAS REPETITIVAS DISPERSAS:** cortas secuencias de ADN muy repetidas que parecen tener homología con elementos transponibles de otros organismos.

**CROMOSOMAS:** estructura filamentosa auto replicativa constituida por cromatina.

**DELECIÓN:** pérdida de material genético de un cromosoma que puede ir desde la pérdida de un solo nucleótido (delección puntual) hasta la pérdida de grandes regiones visibles cito genéticamente.

**ELECTROFORESIS:** técnica para separar en un gel, mediante un campo eléctrico, los distintos componentes de una mezcla de una molécula (DNA o RNA).

**ENZIMA:** proteína que funciona como catalizador.

**EQUILIBRIO HARDY-WEINBERG:** exposición en términos matemáticos del principio de que las frecuencias genotípicas permanecen constantes en una población grande en condiciones de panmixia, siempre que no haya mutación, selección ni migración. En genética humana se utiliza para calcular las frecuencias alélicas a partir de la prevalencia de una enfermedad.

**GEN:** unidad de herencia que ocupa una posición concreta en el genoma (locus) y está constituido por una secuencia de ADN que codifica un ARN funcional.

**GENOTIPO:** conjunto de los alelos de un individuo en uno, varios o todos sus loci

**HETEROCIGOTO:** célula o individuo diploide con alelos diferentes en uno o más loci de cromosomas homólogos

**INSERCIÓN:** fragmento adicional de ADN dentro del genoma.

**INTRON:** secuencia de pares de bases en el ADN que genera aquellas partes del ARN precursor que se escinde durante la transcripción y que no entrará a formar parte del ARN mensajero por lo que no especificará la estructura primaria del producto de los genes

**LOCUS: (PLURAL=LOCI):** posición que ocupa un gen en el genoma.

**PREECLAMPSIA:** enfermedad exclusiva de la especie humana que se presenta durante el embarazo, después de la semana 20 de gestación y cuya característica clínica es la elevación de la tensión arterial por encima de 140 y/o 90 mm Hg asociado a proteinuria.

**POLIMORFISMO:** locus genético que está presente en dos o más alelos distintos, de forma que el alelo más raro tiene una frecuencia mayor o igual a 1% (0,01) en la población general. Un polimorfismo puede ser transitorio (las frecuencias alélicas tienden a cambiar debido a una ventaja selectiva o estable (las frecuencias alélicas permanecen constantes durante muchas generaciones).

## RESUMEN

**TITULO:** POLIMORFISMO DEL GEN DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA ASOCIADO A PREECLAMPSIA EN POBLACIÓN DE BUCARAMANGA, COLOMBIA\*

**AUTOR:** Adriana Inés González Quitián\*\*

**PALABRAS CLAVE:** Enzima Convertidora de Angiotensina, ECA, Preeclampsia, PE, Polimorfismo Genético.

### DESCRIPCIÓN:

**Objetivo:** Establecer si variantes polimórficas del gen que codifica para la ECA se asocian como factor de riesgo genético para el desarrollo de Preeclampsia.

**Diseño:** Estudio de asociación genética de casos y controles

**Lugar:** Realizado en el Hospital Universitario Ramón González Valencia de Bucaramanga y en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Bucaramanga con sede en Floridablanca - Santander Colombia.

**Método:** Fueron incluidas 232 pacientes. *Caso:* paciente @a 25 años, primigestante que presente los criterios clínicos de PE: tensión arterial  $\geq$  a 140 y/o 90 mm Hg asociado a proteinuria positiva (1 + ó más) medida por tira reactiva o 30 mg/dl en orina al azar o  $>$  de 0.3 gr en orina recolectada en 24 horas. *Control:* paciente @a 25 años, primigestante con parto  $\geq$  a 37 semanas que presente tensión arterial  $<$  a 140/90 mm Hg y proteinuria negativa medida por tira reactiva o en orina al azar.

**Intervenciones:** Consentimiento informado verbal, entrevista escrita, examen físico, medición de proteinuria por tira reactiva (caso y control) y en orina de 24 horas (caso), toma de muestra de sangre, amplificación de DNA por PCR y visualización del polimorfismo por electroforesis.

**Resultados:** Se incluyeron 88 pacientes con PE y 144 controles. No se encontró diferencias significativas en cuanto a edad materna, nivel socioeconómico, raza, consumo de cigarrillo ni infección de vías urinarias o vaginal entre el grupo de pacientes con PE y el grupo de gestantes normotensas. El antecedente de madre con historia de PE, fué mayor en el grupo de pacientes con PE comparada con los controles (OR 2.91 IC 95% 1.31-6.59,  $p = 0.04$ ). Los recién nacidos producto de pacientes con PE presentan una menor edad gestacional, menor peso y talla y un apgar menor de 7 a los 1 y 5 minutos comparado con los RN de madres normotensas. En los controles la frecuencia del polimorfismo II fue del 23.6%, ID del 56.9% y DD del 19.4% y en los casos fué de 23.8%, 59.1% y 17.0% respectivamente. El polimorfismo DD no se asoció a Preeclampsia (OR 0.99, IC 95% 0.51-1.95,  $p = 0.965$ ).

**Conclusión:** En la muestra analizada incluida en el presente estudio no se observó asociación de los polimorfismos DD o ID con preeclampsia.

\*Trabajo de investigación.

\*\* Facultad de Salud – Escuela de Medicina. Departamento de Ginecología y Obstetricia. Directores: NORMA SERRANO, MD, MSc, CARLOS HERNAN BECERRA, MD. Asesores: CAROLINA PAEZ, MD, LUIS ALFONSO DÍAZ, MD, MSc.

## SUMMARY

**TITLE:** ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME GENE POLYMORPHISM ASSOCIATE TO PRE-ECLAMPSIA IN POPULATION OF SANTANDER, COLOMBIA\*

**AUTHOR:** Adriana Inés González Quitián\*\*

**KEY WORDS:** Angiotensin-Converting Enzyme Gene, ACE, Pre-eclampsia, PE, Polymorphism Genetic.

**Objective:** To evaluate the association between polymorphisms of angiotensin-converting enzyme (ACE) gene and genetic risk for development Pre-eclampsia (PE).

**Design:** Cases and controls of genetic association study.

**Place:** We conducted this study in the University Hospital Ramón Gonzalez Valencia of Bucaramanga and the School of Medicine of the University Autonomo of Bucaramanga in Floridablanca - Santander Colombia.

**Methods:** Were including 232 patients. *Case:* patient @25 years old, first pregnancy that presents the approaches of PE: blood pressure  $\geq$  140 and/or 90 mmHg associated with proteinuria positive (1 + or more) or 30 mg/dl in urine sample or  $>$  de 300mg in a 24 hours collection. *Control:* patient @25 years old, first pregnancy with delivery  $\geq$  37 week and blood pressure  $<$  to 140/90 mmHg and proteinuria negative in urine sample.

**Interventions:** Verbal informed consent, interviews written, physical exam, proteinuria in ribbon reactivates (case and control) and in collection of 24 hours (case), sample of blood, amplification of DNA by the polymerase chain reaction (PCR) and visualization of the polymorphism by agarose electrophoresis.

**Results:** The study was carried out on 88 patients with PE and 144 controls. There were no statistically significant differences in maternal characteristics (maternal age, socioeconomic level, race, cigarette consumption neither infectious urinary or vaginal among the group of patient with PE and the group of normotensive pregnancies. Mother's antecedent with history of PE, bigger in the group of patient with PE compared with the controls (OR 2.91 IC 95% 1.31-6.59,  $p = 0.04$ ). The new born product of patient with PE presents a smaller gestacional age, smaller weight and it size and an apgar smaller than 7 to the 1 and 5 minutes compared with the new born of normoten's mothers. In the controls the frequency of the polymorphism II were of 23.6%, ID of 56.9% and DD of 19.4% and in the cases were of 23.8%, 59.1% and 17.0% respectively. The polymorphism DD didn't associate to pre-eclampsia (OR 0.99, IC 95% 0.51-1.95,  $p = 0.965$ ).

**Conclusion:** In the analyzed sample included in this study, no association of the polymorphisms DD or DD with preeclampsia was found.

---

\*Investigation work..

\*\* Medicine School. Department of obstetrics and Gynecology. Directors: NORMA SERRANO, MD, MSc, CARLOS HERNAN BECERRA, MD. Asesores: CAROLINA PAEZ, MD, LUIS ALFONSO DÍAZ, MD, MSc.

## INTRODUCCIÓN

La Preeclampsia (PE) es una enfermedad exclusiva de la gestación humana, caracterizada por aumento de la presión arterial y presencia de proteinuria<sup>1</sup>. Es una de las principales causas de morbimortalidad tanto materna como fetal en todo el mundo influyendo de manera global en un 22% en la mortalidad fetal y un 30% en la mortalidad materna<sup>2</sup>. En Colombia, la PE es la responsable de un alto porcentaje de muertes maternas, que varía entre 28.8% y 42% según datos del Ministerio de Salud<sup>3,4</sup> y además se asocia con un aumento de cinco veces en la mortalidad perinatal principalmente por parto pretérmino y RCIU. En efecto, un total de 15% de los partos pretérminos, con toda la morbimortalidad fetal que esto acarrea, son determinados por PE<sup>2</sup>. Esta patología produce un gran impacto económico y social en países en vía de desarrollo, más aún si consideramos que en Colombia la mortalidad materna es 10 veces mayor a la observada en Estados Unidos<sup>4</sup>, alcanzando una tasa de 185 muertes maternas por cada 100.000 recién nacidos vivos<sup>3</sup>.

A pesar de la importancia de la PE en términos de salud pública en cuanto a morbilidad, mortalidad materno-fetal y por ende el costo social y económicos derivados, los mecanismos fisiopatológicos involucrados en la génesis y desarrollo de la enfermedad, no están totalmente determinados. Se propone que la PE es una enfermedad compleja<sup>5</sup>, donde la susceptibilidad genética<sup>6</sup>, representada por el efecto aditivo de varios genes, asociada a una diversa contribución de factores medio ambientales, determina la generación de una respuesta que conduce a la aparición de hipertensión, proteinuria y edemas, signos del desarrollo de la PE<sup>7</sup>.

Por plausibilidad biológica, dentro de los posibles genes candidatos asociados al desarrollo de la PE, se encuentra el gen que codifica para la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA)<sup>8,9,10</sup>. Se plantea que variantes polimórficas del gen llevan a un aumento en su transcripción y por ende al incremento de los niveles séricos de ECA<sup>11,12,13</sup>, desencadenando vasoconstricción arteriolar, disminución en la producción de óxido nítrico (NO), y alteraciones en el proceso de placentación<sup>14</sup>, lo que favorecería la generación de disfunción endotelial, factor que caracteriza a esta patología y es responsable de las manifestaciones clínicas: hipertensión, proteinuria, edema<sup>15</sup>.

La presente investigación pretende por medio de un estudio de casos y controles, establecer si la variante polimórfica en estado homocigoto DD o en estado heterocigoto I/D del gen que codifica para la ECA se asocia como factor de riesgo genético para el desarrollo de PE en la población captada en el HURGV de Bucaramanga.

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La preeclampsia (PE) en Colombia se constituye en uno de los principales problemas de la mujer gestante. La PE ha sido descrita en todas las poblaciones, con una incidencia general del 7 a 10%, pero diferencias étnicas, geográficas, socio-culturales hacen que la incidencia sea mayor, llevando a incrementar las tasas de morbilidad materno-fetal, en Colombia estas tasas son elevadas con un aporte del 22% a la mortalidad perinatal y 30% a la mortalidad materna<sup>2</sup>.

La PE se ha asociado con múltiples factores de riesgo convencionales, tales como dieta inadecuada, procesos infecciosos e inmunológicos, bajo nivel socio-económico y patologías crónicas preexistentes<sup>16</sup>, pero también se reconoce como una enfermedad familiar, con un riesgo incrementado en aquellas mujeres donde hay antecedente de madre o hermanas que hayan padecido la enfermedad<sup>17</sup>.

Esto hace que la PE se clasifique dentro del grupo de Enfermedades Complejas<sup>5</sup>, donde existe de base una predisposición genética individual dada por un número variable de genes, y sobre la cual los factores medio ambientales actúan como disparadores de esa susceptibilidad genética, generando un amplio espectro de fenotipo, desde salud hasta diferentes grados de severidad de la enfermedad<sup>6</sup>.

Considerada la PE como una disfunción endotelial<sup>18</sup>, con hallazgos clínicos claros de hipertensión y proteinuria<sup>19</sup>, y dado que, en la regulación de la presión arterial actúa de manera importante el Sistema Renina Angiotensina<sup>11</sup>, consideramos que el gen que codifica para la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA), es un buen candidato que pudiera estar relacionado con el origen y desarrollo de la enfermedad, donde las variaciones genéticas representadas en polimorfismos del gen podrían comportarse como uno de los factores de riesgo involucrados en el desarrollo de la PE<sup>12</sup>.

## 2. JUSTIFICACIÓN E IMPACTO

La PE es una enfermedad que afecta a un gran número de mujeres en el mundo, con una gran influencia sobre la morbilidad y mortalidad materna y neonatal y cuya patogenia no está clara<sup>2</sup>. Entre los factores que pudieran estar asociados está la presencia de los polimorfismos de varios genes que pertenecen al sistema renina angiotensina aldosterona particularmente el polimorfismo DD en el gen de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA)<sup>8,9</sup>.

El presente estudio permitirá establecer si existe asociación entre un polimorfismo del gen de la ECA con Preeclampsia (PE), como un posible factor de riesgo heredable para el desarrollo de esta patología. Este conocimiento podría permitir una mejor elaboración de programas de prevención para Trastornos Hipertensivos asociados al Embarazo (THAE), escogencia más efectiva de terapias farmacológicas y en un futuro manipulación génica a través de la biología molecular.

Un alto porcentaje de casos de PE, en rangos de severidad como eclampsia y síndrome HELLP, ocurre en maternas que no tienen los hallazgos clínicos característicos<sup>16</sup>, incluso se presentan con cifras de hipertensión leve en 15-50% de los casos o ausente en 12-18% de los casos, además de ausencia de proteinuria en 13% de los mismos<sup>20</sup>. Lo anterior hace suponer que pudieran existir determinantes genéticos en la PE asociados a los diferentes espectros de presentación de la enfermedad<sup>21</sup> y esto es motivo de importantes controversias e investigación, de lo cual se han realizado pocos estudios de este tipo en nuestro país y en Latinoamérica.

Si además de los factores ambientales, se pudieran determinar los factores genéticos, entraríamos en una era de mayor control de las enfermedades

maternofetales, que nos permita en un futuro modificar la “historia natural de la enfermedad”, interviniendo oportunamente en mujeres genéticamente susceptibles, y así disminuir el número de complicaciones identificadas en estas pacientes.

Gestantes con predisposición genética para el desarrollo de la preeclampsia deberían recibir durante su gestación un control prenatal más estricto, donde se disminuya al máximo los factores de riesgo no convencionales, para tratar de impedir que éstos disparen la predisposición genética propia del paciente.

Estas gestantes deben recibir consejería genética sobre la posibilidad de desarrollar preeclampsia en embarazos posteriores, la posibilidad de heredar este polimorfismo a sus hijas, y por consiguiente, sobre el riesgo que éstas y sus hermanas tendrían en el desarrollo de la patología.

Es más económico para un sistema de salud ofrecer un control prenatal más estricto en aquellas pacientes con predisposición genética, que tener que atender la patología en sí, máxime que la preeclampsia no sólo aumenta la morbi-mortalidad materna, sino también la perinatal.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. DEFINICIÓN

La Preeclampsia es un síndrome específico del embarazo, exclusivo de la gestación humana, que cursa con una alta morbimortalidad materno-fetal<sup>1,2</sup>. Se caracteriza por el aumento de la presión arterial y aparición de proteinuria, después de la semana 20 de embarazo<sup>2</sup>.

La PE se presenta en todas las poblaciones, con una incidencia global que varía entre el 5 y el 7%; sin embargo, diferencias raciales, geográficas y socioeconómicas hacen que la incidencia en algunas poblaciones sea hasta tres veces mayor<sup>2</sup>.

Hasta hace poco el diagnóstico de PE se hacía por la presencia de hipertensión inducida por el embarazo más proteinuria y edema generalizado<sup>22</sup>. De acuerdo con la medicina basada en la evidencia y el último consenso emitido por el *National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy*, el diagnóstico de PE se determina por el incremento en la presión arterial ( $\geq 140$  mm Hg la sistólica,  $\geq 90$  mm Hg la diastólica o ambas) y la presencia de proteinuria, la cual se define como la excreción urinaria de 0.3 gr o más de proteína en orina de 24 horas o 30 mg/dl o más (1 o más + en tira reactiva) en una muestra de orina tomada al azar<sup>19</sup>.

#### 3.2. FACTORES DE RIESGO

Los factores de riesgo asociados a PE son múltiples y se pueden clasificar en preconcepcionales o crónicos y los vinculados al embarazo<sup>16</sup>. Dentro de los

primeros se encuentran la nuliparidad y la primipaternidad, estos probablemente asociados a una de las hipótesis más conocidas como causa de la PE, la inadaptación inmunitaria<sup>16,23</sup>.

Otros factores de riesgo preconcepcionales no vinculados con el compañero son, raza negra, antecedente personal o familiar de PE, edad materna (mayor riesgo en edades extremas), periodo intergenésico mayor, estrato socioeconómico bajo y dieta baja en calcio previo al embarazo<sup>23</sup>. La presencia de factores subyacentes crónicos en la madre como diabetes, obesidad, resistencia a la insulina, hipertensión y nefropatía crónica<sup>16</sup>, también se han asociado a mayor incidencia de PE.

Entre los factores de riesgo involucrados con PE aún en discusión, se encuentran el estrés, la tensión psicosocial y las alteraciones del perfil lipídico (incremento de triglicéridos y LDL con disminución de HDL). Dentro de los factores de riesgo para PE vinculados con el embarazo están, el embarazo múltiple, diabetes gestacional, anomalías fetales congénitas estructurales y la mola hidatiforme. Por otra parte, el tabaquismo se asocia a un decremento en la incidencia de PE, es decir, se considera un factor protector<sup>7</sup>.

Los procesos infecciosos, principalmente la infección del tracto genitourinario, se han asociado con la PE, posiblemente por el aumento en la síntesis de productos inflamatorios, que incluyen ciertas citoquinas, radicales libres y enzimas proteolíticas<sup>17</sup>. Igualmente se ha asociado la PE con anomalías homeostáticas o metabólicas que llevan a trastornos trombofílicos, los cuales están vinculados con tendencia a trombosis vascular<sup>24</sup>.

Sin embargo, a pesar de controlar de manera estricta algunos de los factores medioambientales previamente descritos, la PE sigue presentándose en un porcentaje importante de las mujeres embarazadas, lo que refleja la importancia

de estudiar otros factores de riesgo no convencionales, como los factores genéticos, para comprender integralmente el origen y la fisiopatología de esta enfermedad<sup>21</sup>.

La PE está influenciada por una compleja interrelación entre factores ambientales y genéticos, involucrando como principales participantes de su patogénesis al Sistema Renina Angiotensina (SRA)<sup>8,9</sup>, el metabolismo lipídico y la reactividad endotelial<sup>25</sup>.

Esto ha llevado a definir a la PE como la enfermedad de las múltiples teorías, debido a que ninguna de ellas ha podido explicar en su totalidad su origen y desarrollo.

Por su alta predisposición familiar se propone que la PE debe estudiarse dentro del grupo de Enfermedades Complejas<sup>5</sup>, donde la susceptibilidad genética dada por un número variable de genes<sup>6</sup>, asociada a una diversa contribución de factores medioambientales determina los diferentes eventos que caracterizan la enfermedad<sup>7</sup>. En las Enfermedades Complejas los factores genéticos pueden ser múltiples, interactuando dos o más genes entre sí, *herencia poligénica*; o pueden interactuar dos o más genes con diferentes factores medioambientales, *herencia multifactorial*, donde la heterogeneidad genética del individuo determina la respuesta a un factor externo<sup>26</sup>.

Para el abordaje etiopatogénico de la PE, al igual que para otras enfermedades complejas<sup>5</sup>, se proponen dos metodologías: a través de estudios de asociación, tratando de identificar genes candidatos que puedan estar asociados con la fisiopatología de la enfermedad, y por estudios de ligamiento genético, utilizando grandes familias afectadas en las cuales se analizan marcadores polimórficos en cada uno de los cromosomas y su frecuencia de segregación con la enfermedad<sup>26</sup>.

### 3.3. GENÉTICA DE LA PREECLAMPSIA

La PE se considera una enfermedad con tendencia familiar, donde los factores genéticos juegan papel importante en su desarrollo, aunque no siguen los modelos clásicos de la herencia Mendeliana<sup>27</sup>. Estudios en familias han determinado que familiares en primer grado de consanguinidad de una mujer que presentó PE, tienen 4 a 5 veces más riesgo de presentar la enfermedad, incluso familiares en segundo grado tienen un riesgo 2 a 3 veces mayor, comparado con mujeres en cuyas familias no hay historia de la enfermedad<sup>27,28</sup>.

Considerada la PE como una Enfermedad Compleja<sup>5</sup>, los estudios de asociación han perfilado e interpretado la participación de diferentes genes en las principales teorías fisiopatológicas de esta entidad<sup>29</sup> (Tabla 1.).

**Tabla 1. Principales genes asociados a la Preeclampsia**

GEN ASOCIADO	POLIMORFISMO	MECAN FX-PX INVOLUCRADO
Enzima Metilendetrahidro - folatoredutasa	G677T	Pro-aterogénico trombofílico
Gen de la ECA	DD	Placentación anormal
Enzima lipoprotein-lipasa	Asp9Asn 939 promotora Asn291Ser	Peroxidación lipídica: estrés oxidativo
Enzima óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS)	Glu 298Asp	Vasoconstricción
Factor V de Leiden	G506A	Procoagulante
Gen del angiotensinógeno	Rc tipo 1	Placentación anormal
El HLA-G	HLA-G3	Placentación anormal
Factor de necrosis tumoral alfa	sTNFp55	Inflamación

### 3.4. SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA Y PREECLAMPSIA

En el embarazo normal, las células trofoblásticas invaden la pared de las arterias espirales transformándolas en canales largos y tortuosos capaces de transportar gran cantidad de sangre al interior del espacio intervelloso y resistir a la acción de principales agentes vasomotores<sup>30</sup>. Evidencias obtenidas en los últimos 20 años indican que el desarrollo anormal de la placenta es uno de los factores iniciales y comunes en el desarrollo de esta enfermedad<sup>31</sup>.

Como factor importante de este proceso se ha sugerido y estudiado en la unidad utero-placentaria el *Sistema Renina Angiotensina (SRA) local*<sup>10</sup>. A este nivel la expresión de renina en la decidua y células musculares lisas de las arterias en remodelación, la presencia de enzima convertidora de angiotensina (ECA) en el endotelio, y la identificación del receptor 1 del angiotensinógeno (AT<sub>1</sub>) en el estroma perivascular, se describen como factores que intervienen de forma activa y determinante en los cambios fisiológicos de remodelación de las arterias espirales<sup>12</sup>. La sobreexpresión de estas proteínas se ha asociado a una anormal remodelación microvascular, generando alteraciones en la placentación y actuando como factor disparador de los eventos subsecuentes en el marco fisiopatológico de la enfermedad<sup>11</sup>.

El aumento en la expresión local del SRA a nivel uteroplacentario lleva a una mayor producción de Angiotensina II (AgII), factor que al ser un potente agente mitogénico y angiogénico, causaría hiperplasia de la media y angiogénesis, generando incremento de la resistencia vascular y alteración en la remodelación de las arterias espirales<sup>12</sup>. Un hallazgo que apoya esta teoría, fue reportado por Laskowska en el 2001, al evaluar la actividad de la ECA en suero de mujeres con PE frente a gestantes normotensas; los resultados demostraron un incremento en la actividad de la ECA en pacientes con PE y su diferencia fue estadísticamente significativa ( $41.831 \pm 16.967$  Vs  $25.022 \pm 14.797$   $p < 0.01$ )<sup>13</sup>. Esta relación se

mantuvo cuando la muestra fue tomada de cordón umbilical, razón por la cual esta molécula se considera actualmente como un factor a estudio en la fisiopatología de la PE<sup>8,9</sup>.

La ECA, también llamada dipeptidilcarboxipeptidasa II o kininasa II, es una metalopeptidasa que juega un papel importante en el sistema renina-angiotensina, regulando la presión arterial, actuando sobre la fisiología vascular por medio de sus sustratos, la Angiotensina I y la Bradicininina. La ECA se localiza principalmente en la membrana de las células endoteliales de los vasos sanguíneos, particularmente de la circulación pulmonar, pero también se encuentra en células epiteliales, monocitos, macrófagos, células germinales masculinas, útero, placenta y membranas fetales<sup>32</sup>, y en forma circulante en varios fluidos biológicos<sup>33</sup>.

En el plasma y en la superficie de las células endoteliales, la ECA convierte la angiotensina I (decapéptido inactivo) en angiotensina II, un octapéptido con una potente acción vasoconstrictora que estimula la producción de aldosterona, induce o modula el crecimiento de células musculares lisas del vaso sanguíneo y actúa como un factor mitogénico en las arterias espirales<sup>11</sup>.

Por otra vía, la ECA corta dos dipéptidos del terminal carboxilo de la bradicininina, suprimiendo sus efectos biológicos. La bradicininina es un potente vasodilatador, inhibidor de la proliferación de células musculares lisas arteriolares y antiagregante plaquetario, que puede actuar directamente o por la liberación de factores endoteliales, particularmente óxido nítrico y prostaciclina<sup>15</sup>.

Análisis de segregación sugieren que aproximadamente el 50% de la variación individual de los niveles de ECA son genéticamente determinados y su concentración en el plasma de sujetos normales puede tener fluctuaciones hasta de 5 a 6 veces entre unos y otros<sup>34</sup>. Esta variación es determinada por un polimorfismo basado en la presencia (I: inserción) o ausencia (D: delección) de

287 pares de bases de la secuencia repetida Alu en el intrón 16 del gen de la ECA ubicado en el cromosoma 17q23<sup>33</sup>. La presencia del polimorfismo en su versión homocigota (DD) o heterocigota (DI) se correlaciona directamente con aumento de los niveles y por ende con incremento de la actividad de la enzima en suero<sup>11</sup> (Figura 1).

**Figura 1. Polimorfismo I/D de la Enzima Convertidora de Angiotensina**



La prevalencia del polimorfismo en sujetos sanos varía de acuerdo a la población estudiada. Así, en la población europea se ha informado prevalencia del polimorfismo en su forma homocigota de 27.3% y heterocigota de 53.2%<sup>35</sup>; en Estados Unidos, se han reportado frecuencias de 30.9% y 49.2%<sup>34</sup> respectivamente; en Brasil los valores son muy similares para ambos genotipos, de 40.1% para el DD y 41.6% para el DI<sup>36</sup>, mientras que en población colombiana sana, la prevalencia determinada hasta el momento es de 27% para DD y 64% para DI<sup>37</sup>.

Sujetos con genotipo DD tienen un alto nivel de actividad de ECA con riesgo incrementado para desarrollar varias patologías como hipertrofia de ventrículo izquierdo, falla renal aguda en nefropatía por IgA, nefropatía diabética, arterioesclerosis e infarto agudo de miocardio<sup>35,38</sup>. Este aumento del riesgo se asocia a la presencia de niveles plasmáticos elevados de aldosterona<sup>39</sup>, y aumento en la degradación de bradicininas<sup>40</sup>, contribuyendo a un estado crónico de incremento de resistencia vascular periférica y a la retención de sodio y agua, favoreciendo la vasoconstricción arteriolar y por ende el aumento de la presión arterial<sup>12</sup>.

En síntesis, en la fisiopatología de la PE se establece un desbalance entre sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras, aumento en la degradación de la bradicinina, alterándose así su función de oposición a los efectos presores de la angiotensina II, disfunción endotelial que lleva a alteración en la producción de NO<sup>6,14,31</sup>, y todo esto asociado a una sobreexpresión del SRA<sup>11,12,13</sup>. Lo anterior nos hace suponer que el gen de la ECA es un buen candidato dentro del grupo de genes que confieren susceptibilidad genética al desarrollo de la PE, por tener una plausibilidad biológica importante con la enfermedad. Si se logra establecer asociación, la modulación en la expresión de este gen podría ser una fuente de investigaciones futuras, más aún considerando que los actuales fármacos inhibidores de la ECA, altamente recomendados en alteraciones cardiovasculares,

están contraindicados en el embarazo por sus efectos deletéreos sobre la función renal y pulmonar fetal<sup>14,41</sup>.

Los resultados de los estudios de asociación entre el polimorfismo DD del gen de la ECA y PE publicados desde 1996 varían de acuerdo a la población a estudio. Se hizo una búsqueda del tema en las bases de datos Medline y EMBASE y los trabajos revisados debían tener una metodología comparable en cuanto a tipo de estudio (casos y controles) y criterios de selección de pacientes, hallando que las poblaciones más estudiadas han sido la raza blanca (8 estudios realizados en países europeos) y raza amarilla (8 estudios realizados en países asiáticos), mientras que sólo se ha hecho un estudio en raza latina (o múltiple) realizado en Brasil<sup>52</sup> y dos estudios en raza negra (población afroamericana). Los resultados son controversiales encontrando que los estudios realizados en mujeres afroamericanas –Tamura<sup>42</sup>, Roberts<sup>43</sup>- y 4 de los estudios europeos -Heiskanen<sup>44</sup> y Morgan<sup>12</sup>- , no indicaron asociación con OR 1.09, CI 95%: 0.55-2.16<sup>12</sup>. Igualmente en 4 de los estudios en población oriental no se halló asociación del gen de la ECA con PE<sup>45</sup> con una  $p > 0.05$  entre los dos grupos. De otro lado, en 4 estudios llevados a cabo en población europea (mujeres de Italia, Polonia, Turquía y Reino Unido)<sup>9</sup> y otros 4 estudios en población asiática<sup>8,10,46</sup> , reportan resultados positivos en asociación de hipertensión inducida por el embarazo con polimorfismo DD del gen de la ECA, encontrando dicho genotipo en 65.7% del grupo de pacientes con PE y sólo un 8% en el grupo control ( $P < 0.001$ )<sup>8</sup>. Wang en un reciente estudio<sup>46</sup> , reporta que el 65% de las pacientes con la enfermedad tenían el polimorfismo DD en comparación con un 10.5% de los controles y concluye que el genotipo DD es un factor de riesgo para PE.

Por lo anterior consideramos investigar la asociación entre el polimorfismo del gen de la ECA y PE en población latina, dado su relación biológica con la enfermedad y por que su frecuencia depende de la composición étnica de la población estudiada<sup>47</sup>.

#### **4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿En una muestra de mujeres captadas en el HURGV de Santander, la presencia del genotipo DD o ID de la Enzima Convertidora de Angiotensina aumenta el riesgo de desarrollar Preeclampsia?

## **5. OBJETIVO DEL ESTUDIO**

Determinar si los polimorfismos DD e ID del gen que codifica para la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA), son un factor de riesgo genético para el desarrollo de Preeclampsia.

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1. TIPO DE ESTUDIO

Para probar la hipótesis se propuso un estudio de asociación genética de casos y controles entre primigestantes, jóvenes no relacionadas, sin enfermedad crónica o comorbilidad gestacional mayor.

### 6.2. MUESTRA

Estimando una asociación con probabilidad de error tipo I del 5% y error tipo II del 20% y aceptando que el polimorfismo homocigoto DD tiene una prevalencia en la población sana de Colombia de un 27%, se obtuvieron los tamaños de muestra que aparecen en la tabla 2.

Tabla 2. Tamaño de muestra

<b>OR a detectar</b>	<b>Casos : Controles</b>		
	<i>1 : 1</i>	<i>1 : 2</i>	<i>1 : 3</i>
<b>2</b>	160 : 160	121 : 242	108 : 324
<b>2.5</b>	92 : 92	<b>70 : 140</b>	62 : 186
<b>3</b>	64 : 64	49 : 98	43 : 129
<b>4</b>	41 : 41	31 : 62	28 : 84
<b>5</b>	31 : 31	24 : 48	21 : 63
<b>7</b>	23 : 12	17 : 34	15 : 45
<b>10</b>	18 : 18	13 : 26	11 : 33

Dada las características del problema a analizar, la prevalencia del polimorfismo y de la preeclampsia, lo más prudente fue evaluar un OR de 2.5 y se tomó por cada caso dos controles, por lo tanto el tamaño de muestra a captar fué de 70 casos y 140 controles (210 gestantes).

### **6.3. CARACTERÍSTICAS DE LOS SUJETOS A ESTUDIO**

**6.3.1. Definición y criterios de inclusión de casos.** Pacientes con presentación de preeclampsia en su primer embarazo, menores de 25 años de edad, que ingresen al Hospital Ramón González Valencia de la ciudad de Bucaramanga (Santander – Colombia), con los siguientes criterios de inclusión:

**Definición de caso:**

Primigestante

Edad  $\leq$  25 años

PAS  $\geq$ 140 mmHg y/o PAD  $\geq$ 90 mmHg

Proteinuria de 30 mg (+) en orina al azar o  $\geq$  0.3 gr en orina de 24 horas

Embarazo > de 20 semanas

**6.3.2. Definición y criterios de inclusión de Controles.**

Primigestante

Edad  $\leq$  25 años

PAS <140 mmHg y/o PAD < 90 mmHg

Proteinuria negativa

Parto a término  $\geq$  37 semanas.

**6.3.3. Criterios de no inclusión de casos y controles.** Gestantes que cumplen los criterios de inclusión pero que no desean participar en el estudio

**6.3.4. Criterios de exclusión de controles.** Se excluyeron las pacientes que luego de incluirla, en algún momento de la hospitalización presentaron elevación de cifras tensionales o que en muestra al azar de orina presentaron proteinuria.

Todas las pacientes incluidas en el estudio deben estar libres de enfermedades crónicas, como hipertensión esencial y enfermedades reumatológicas o inmunológicas.

## **6.4. VARIABLES**

**6.4.1. Entrevista.** (Formato Anexo A)

- **Raza.** La raza será atribuida en cada paciente de acuerdo a las características fenotípicas: inspección de sus rasgos faciales, color de la piel y tipo de cabello de acuerdo a si es de raza Blanca, Negra o Indígena sea pura o con predominio marcado de alguna de ellas, de la siguiente manera (Tabla 3).

En caso de poca claridad respecto a la raza de la paciente, hubo la posibilidad de marcar “Mestiza” con las diversas combinaciones posibles, teniendo en cuenta las características citadas en la tabla 3. Si la paciente procedía de un grupo étnico distinto a los anteriores (judío, árabe, oriental), era posible considerar “Otra” raza para describirla.

**Tabla 3. Características de raza.**

<b>Características</b>	<b>Indígena</b>	<b>Negro</b>	<b>Blanco</b>
Piel	Clara u Oscura	Oscura	Clara
Cabello	Liso (Oscuro)	Ensortijado (Oscuro)	Liso (Claro u oscuro)
Pómulos	Sobresalientes	No sobresalientes	No sobresalientes
Labios	Delgados	Gruesos	Delgados
Nariz	Fina	Ancha	Fina

- **Antecedente de tabaquismo durante el embarazo.** Se definió tabaquismo como aquella gestante que fume o haya fumado durante el embarazo más de un cigarrillo al día.

- **Antecedentes de infecciones durante el embarazo.** Se incluyeron específicamente la infección de vías urinarias y vaginosis.

- **Antecedente de enfermedades autoinmunes.** Gestante que presentó o presenta al momento de ser incluida en el estudio, cualquier enfermedad del colágeno o afines (lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoidea, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos), con o sin tratamiento. La presencia de este parámetro la determina no elegible.

- **Antecedente familiar de PE.** Si existe el antecedente de PE en familiares de primer grado (madre y hermanas)

#### 6.4.2. Estado clínico

- **Presencia de signos premonitorios de Eclampsia.** Si al indagar sobre presencia de síntomas, la gestante afirmó presentar epigastralgia, cefalea o fosfenos.

- **Presión arterial.** Se mide en mmHg y se consideran preclámpticas aquellas gestantes con PAS  $\geq$  140, PAD  $\geq$  de 90, o ambas, tomada en posición sentada con el brazo extendido a la altura del corazón. Se hicieron dos tomas, mínimo con un intervalo de 6 horas.

#### 6.4.3. Laboratorios

- **Proteinuria por tira reactiva.** Se midió en tira Cambur test por presencia de una + o más de proteínas en muestra de orina al azar.

- **Proteinuria en orina al azar.** se midió en mg/dl y se definió como excreción de 30 mg/dl o más de proteínas en muestra de orina al azar.

- **Proteinuria en orina de 24 horas:** se midió en gramos y se definió como excreción de 0.3 gramos (300 mg) o más de proteínas en muestra de orina recolectada durante 24 horas.

## **6.5. GENOTIPIFICACIÓN**

**6.5.1. Recolección y almacenamiento de la muestra de sangre.** Previa asepsia y antisepsia en antebrazo, se hizo punción de una vena periférica con vacutainer y recolección de 4,5 cc de sangre periférica en 2 tubos Becton Dickenson con EDTA como anticoagulante (tapa lila) y sin anticoagulante (tapa roja). Las muestras fueron llevadas de inmediato a nevera a 4°C. y posteriormente en el laboratorio de Genética Molecular de la UNAB se fraccionó la muestra original en tubos Eppendorf de 1.5 cc en cabina de flujo laminar y se congeló a – 70 °C, previa rotulación con el código de la paciente y almacenamiento individual en bolsa de cierre hermético debidamente identificada con el nombre y código de la paciente.

**6.5.2. Extracción de DNA.** Todo el procedimiento se hizo en cabina de flujo laminar. Se descongeló un eppendorf de sangre completa, y a partir de una muestra de 200 µl se hizo extracción del DNA con el QIAamp DNA Blood Mini Kit, según las instrucciones de fabricante. El DNA obtenido se verificó por medio de electroforesis horizontal en gel de agarosa al 1% teñido con 5µg de Bromuro de Etidio (Sigma) y visualizado en Minitransiluminador UV (Life Technologies Gibco).

**6.5.3. Amplificación del DNA por PCR.** Los alelos *D* de 319 pb y el alelo *I* de 597 pb fueron identificados por medio de Reacción en Cadena de la Polimerasa

(PCR), amplificando un fragmento del intrón 16 del gen de ECA y visualizando el tamaño del fragmento amplificado a través de electroforesis horizontal en gel de agarosa al 2%. El par de primer a utilizar en la primera PCR fué:

5'GCCCTGCAGGTGTCTGCAGCATGT3'

5'GGATGGCTCTCCCCGCCTTGTCTC3'

El volumen final de la mezcla de PCR fué de 25  $\mu$ l, que contenía 12,5  $\mu$ l de PCR Master MIX (Promega), 8.5  $\mu$ l de agua libre de DNAsa y RNAsa, 1 $\mu$ l de cada uno de los primers a una concentración de 12.5 pmol y 2 $\mu$ l de DNA; esta mezcla se llevó a un termociclador programable PTC-100 (Mj Research), bajo las siguientes condiciones:

1. Desnaturalización inicial a 94<sup>0</sup>C por 1 minuto
2. Desnaturalización a 94<sup>0</sup>C por 45 segundos
3. Alineación a 62<sup>0</sup>C por 1 minuto
4. Extensión a 72<sup>0</sup>C por 1 minuto
5. Repetir los pasos 2 a 4 por 30 ciclos
6. a 4<sup>0</sup>C indefinido

**6.5.4. Visualización por electroforesis.** Se toman 10  $\mu$ l del producto de la PCR y se mezcló con 2  $\mu$ l de buffer de carga (Tipo I, 6X Sigma), y la mezcla final se corrió en electroforesis en gel de agarosa al 2%, el cual contenía 5  $\mu$ l de Bromuro de Etidio. Las bandas fueron visualizadas en Minitransiluminador UV (Life Technologies Gibco) y fotografiadas para documentación.

Dado que en las muestras heterocigotas el alelo *D* es preferencialmente amplificado, cada muestra genotificada como *DD* en la PCR inicial, fue sujeta de

una segunda amplificación independiente, utilizando un par de primers que reconoce la secuencia de inserción específica.

El par de primer utilizado fue el siguiente:

5'TGGGACCACAGCGCCCGCCACTAC3'

5'TCGCCAGCCCTCCCATGCCCATAA3'

Las condiciones de la PCR fueron idénticas a las iniciales excepto por la temperatura de alineación que fue de 67<sup>0</sup>C. En ésta segunda amplificación por PCR se genera un fragmento amplificado de 335 pb, solo en la presencia del alelo *I* y ningún producto de amplificación en presencia de homocigocidad para el alelo *D* (*DD*). Este procedimiento permitió identificar de manera correcta el 4 a 5% de las muestras que son *ID* y que con la PCR inicial fueron clasificadas como *DD*.

Los resultados de la PCR fueron interpretados por dos investigadores independientes, los cuales no tenían conocimiento de la condición de caso o control de la muestra analizada. Cuando no existió concordancia entre la lectura de los dos investigadores la muestra se repitió.

## 7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Toda la información obtenida fue transcrita por duplicado en una base de datos electrónica, Epi Info 6.04c, para su posterior análisis, así:

- **Análisis univariado** de casos y controles. Se estimaron proporciones o promedio  $\pm$  desviación estándar según si la variable era nominal/ordinal o discreta/continúa.
- **Evaluación del equilibrio de Hardy-Weinberg** del gen que codifica para la ECA, dado que para que un estudio de casos y controles sea válido debe existir equilibrio al menos en el grupo de controles<sup>48</sup>.
- **Comparación** de cada una de las anteriores variables entre casos y controles, incluyendo las variantes del gen que codifica para la ECA. Las variables cuantitativas se compararon con la prueba t de Student, para aquellas que tenían distribución normal, o de Kruskal-Wallis para las que no; las variables cuantitativas se compararon por medio de la prueba  $\chi^2$  directamente o con corrección de Yates. Adicionalmente, para algunas variables cualitativas, se estimó la fuerza de la asociación por medio de la estimación de la razón de disparidades (OR por su nombre en inglés, odds ratio) junto con su intervalo de confianza; en todos los casos, se tomó como referente la categoría que representa menor riesgo de desarrollar preeclampsia.
- **Análisis multivariado** por medio de análisis estratificado y regresión logística a fin de estimar el OR de las variables polimórficas del gen que codifica la ECA y la preeclampsia, ajustando por los potenciales factores de confusión. El modelamiento se realizó teniendo en cuenta las recomendaciones de Greenland<sup>49</sup> y Tsiatis<sup>50</sup>.

- **Análisis del poder** del estudio para detectar OR de la asociación en estudio, en caso que no se encontrara una asociación no significativa.

Todos los análisis se realizaron en STATA 8.0. Se aceptaron como significativas aquellas diferencias con probabilidad tipo I inferior al 5% ( $p < 0.05$ ).

## **8. ASPECTOS ÉTICOS**

Este es 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.

Para la realización del estudio se solicitó aprobación a la Dirección de Investigaciones de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander, a la Escuela de Ciencias Biológicas y de la Salud UNAB, al Comité de Ética y Oficina de Dirección del Hospital Universitario Ramón González Valencia. A todas las participantes se les solicitó consentimiento informado verbal para la realización de pruebas genéticas en sus muestras de sangre almacenadas.

Las pruebas genéticas se hicieron de forma anónima y los participantes en el estudio original no fueron ni podrán ser individualmente identificados.

## **9. ASPECTOS AMBIENTALES**

Una vez tomadas las muestras en los servicios de sala de partos, puerperio o Alto Riesgo del HURGV, se rotularon con numeración progresiva, se guardaron en la nevera de sala de partos y fueron llevadas posteriormente al laboratorio de Genética de la UNAB.

Para la genotipificación, el manejo de las muestras y de los productos de la electroforesis que contiene material tóxico para el ambiente y para el personal que realiza las pruebas, el laboratorio de genética de la UNAB tiene un protocolo para disponer de estos desechos tóxicos en una forma tal que evita la contaminación ambiental y del personal encargado de su manipulación.

## **10. RESULTADOS**

En el Hospital Universitario Ramón González Valencia de la ciudad de Bucaramanga (Santander - Colombia), se capturaron 237 pacientes desde el 1 de Enero de 2002 hasta Noviembre 23 de 2004, de las cuales fueron genotipificadas 232 muestras (88 casos y 144 controles), puesto que la muestra de 5 pacientes no fue adecuada.

### **10.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN**

Las características de la población distribuida en casos y controles se observan en la tabla 1. No se encontraron diferencias significativas en la edad materna, nivel socioeconómico, raza, consumo de cigarrillo ni infección de vías urinarias o vaginales entre el grupo de pacientes con PE y el grupo de gestantes normotensas. Solo se encontró diferencias significativas en el antecedente de madre con historia de PE, pues hay una mayor proporción de pacientes con la enfermedad que tienen el antecedente de madre con preeclampsia en algún embarazo.

Al analizar el resultado perinatal, se encontraron diferencias significativas en la edad gestacional, peso, talla y apgar del recién nacido (RN), encontrando que los recién nacidos producto de pacientes con PE presentan una menor edad gestacional, peso y talla, así como una mayor proporción de RN con Apgar menor de 7 al minuto y a los cinco minutos comparado con los RN de madres normotensas.

**Tabla 4. Características demográficas y clínicas de las pacientes estudiadas**

Variable	Tipo de paciente		Valor de p	OR (IC 95%)
	Caso (n = 88)	Control (n = 144)		
Raza			0.219	
Mestiza (%)	78 (88.63%)	128 (88.88%)		2.74 (0.55-26.6)
Blanca (%)	2 (2.27%)	9 (6.25%)		Referente
Negra (%)	3 (3.4%)	1 (0.69%)		4.13 (0.55-784.5)
Indígena (%)	5 (5.68%)	6 (4.16%)		2.50 (0.40-48.8)
Edad (años)	19.17 ± 2.74	19.38 ± 2.68	0.564	N/A
Nivel socioeconómico bajo (%)	84 (95.45%)	138 (95.83%)	0.567	0.91 (0.75-2.06)
Tabaquismo en gestación (%)	0 (0.0%)	3 (2.08%)	0.291	0 (0-3.96)
Infección genitourinaria (%)	42 (47.72%)	79 (54.86%)	0.292	0.75 (0.43-1.32)
Antecedente PE madre (%)	21 (23.86%)	14 (9.72%)	0.004	2.91 (1.31-6.59)
Antecedente PE hermana (%)	6 (6.81%)	8 (5.55%)	0.696	1.24 (0.34-4.25)
Edad gestacional (sem)	36.35 ± 3.82	39.3 ± 1.3	0.000	N/A
Embarazo múltiple (%)	2 (2.27%)	1 (0.69%)		3.26 (0.17-193.9)
PAS (mm Hg)	153.09 ± 11.77	114.51 ± 9.42	0.000	N/A
PAD (mm Hg)	98.31 ± 6.65	71.43 ± 6.31	0.000	N/A
Talla del RN (cm)	46.80 ± 4.40	50.65 ± 3.46	0.000	N/A
Peso del RN (grs)	3190.78 ± 520	2462.02 ± 743	0.000	N/A
Sexo del RN (masculino)	53 (60.22%)	76 (52.77%)	0.269	1.35 (0.76-2.41)
Apgar <7 al minuto (%)	12 (13.63%)	5 (3.47%)	0.004	4.39 (1.37-16.4)
Apgar <7 a los 5 minutos (%)	4 (4.54%)	0 (0.0%)	0.020	Indefinido

PAS: Presión Arterial Sistólica, PAD: Presión Arterial Diastólica, N/A: No aplica.

## 10.2. FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO I/D y DD DEL GEN DE LA ECA EN CASOS Y CONTROLES

Dentro del grupo de controles, se halló la forma silvestre del gen que codifica la ECA (I) con una prevalencia del 23.6%, mientras que los genotipos ID y DD se hallaron en el 56.9% y 19.4% respectivamente. Entre los casos estas prevalencias fueron 23.8%, 59.1% y 17.0% respectivamente, diferencias que no son estadísticamente significativas ( $p = 0.898$ ). (Tabla 5)

**Tabla 5. Frecuencia del polimorfismo de la ECA entre las pacientes con o sin Preeclampsia (Modelo codominante)**

VARIANTE	PACIENTES	
	CONTROLES (%)	CASOS (%)
I/I	34 (23.6%)	21 (23.8%)
I/D	82 (56.9%)	52 (59.1%)
D/D	28 (19.4%)	15 (17.0%)
TOTAL	144	88

*Valor  $p=0.898$*

Tanto casos como controles se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg. Para casos, el  $\chi^2 = 2.858$  y  $p = 0.241$ , mientras que para controles el  $\chi^2$  es de 3.088 con  $p = 0.213$ .

Se evaluaron tres modelos de herencia. En el primero, modelo codominante, se asumió que los efectos del alelo D son aditivos, es decir se compararon mujeres

con alelo DD contra II e ID contra II no observando diferencias entre casos y controles ( $\chi^2$  de tendencia lineal = 0.091, p= 0.763).

En el segundo modelo, se asume un efecto dominante del alelo D, por lo cual se combinaron los grupos ID + DD en una sola categoría y se compararon con el grupo II, y allí tampoco se observó diferencia (OR 0.99, IC 95% 0.51 – 1.95;  $\chi^2 = 0.001$ , p= 0.965) (Tabla 6).

**Tabla 6. Modelo dominante**

POLIMORFISMO	PACIENTES	
	CONTROLES (%)	CASOS (%)
II	34 (23.6%)	21 (23.8%)
ID , D/D	110 (76.4%)	67 (76.2%)
TOTAL	144	88

Igualmente no hubo diferencia en el tercer modelo evaluado, en donde se asume un efecto recesivo del alelo D, comparando el grupo DD con la combinación ID + II (OR 0.85, IC 95% 0.39 – 1.78;  $\chi^2 = 0.213$ , p = 0.649) (Tabla 7).

**Tabla 7. Modelo recesivo**

POLIMORFISMO	PACIENTES	
	CONTROLES (%)	CASOS (%)
I/I, I/D	116 (80.6%)	73 (83.0%)
D/D	28 (19.4%)	15 (17.0%)
TOTAL	144	88

### **10.3. EVALUACIÓN MULTIVARIADA**

Dado que no existe asociación entre PE y cualquiera de los tres modelos de los polimorfismos no es pertinente realizar análisis multivariado; sin embargo, dado que sí existe asociación entre PE y el antecedente materno de PE, se exploró el efecto que pudiera tener este antecedente y la asociación entre PE y el polimorfismo de la ECA. No se encuentra asociación entre PE y el polimorfismo de la ECA en el modelo dominante entre las mujeres que tienen el antecedente (OR 2.57, IC 95% 0.35-29.9) ni entre las que no lo tienen (OR 0.69, IC 95% 0.28 y 1.61). En la prueba de homogeneidad de Mantel y Haenzel estos dos OR proceden de la misma población ( $\chi^2_{M-H} = 0.213$ ,  $p = 0.649$ ,) y al ajustar la medida del OR entre PE y polimorfismo de la ECA (OR = 0.87, IC 95% 0.43-1.76), persiste la falta de asociación.

Finalmente, el poder que tiene este estudio para detectar OR de 2.5 o más para la posible asociación entre PE y el polimorfismo bajo el modelo dominante es de 86.2%, mientras que en el recesivo es de 80.3%.

## 11. DISCUSIÓN

La Preclampsia (PE) a nivel mundial, pero con mayor proporción en países en vía de desarrollo, sigue siendo una de las mayores causas de morbimortalidad materno-fetal<sup>1,2,22</sup>. Se calcula que en Colombia, la mortalidad materna alcanza hasta un 42%<sup>3</sup> y que la mortalidad fetal se ve aumentada hasta en 5 veces<sup>3,4</sup> asociada a ésta enfermedad.

Los factores de riesgo convencionales para PE, considerados hasta el momento<sup>7,17</sup>, no logran establecer claramente una causa para la presentación de la enfermedad<sup>16</sup>, ni tampoco predicen sus rangos más severos como la PE severa, la Eclampsia o el Síndrome HELLP<sup>20</sup>. La enfermedad lleva inherente una tendencia familiar<sup>27</sup> y aunque el factor de herencia no ha sido plenamente establecido, las investigaciones apuntan a implicar que ciertos genes se asocian a la enfermedad cuando se combinan con factores ambientales<sup>6,26</sup>. El antecedente de PE en la madre o hermana implica un riesgo de 3 a 5 veces mayor para presentar la enfermedad que en pacientes sin el antecedente familiar<sup>27,28</sup>. La predisposición genética, dada por genes candidatos, seleccionados a partir de plausibilidad biológica o por estudios de ligamiento, puede ser investigada en estudios de asociación genética<sup>29</sup>, método utilizado en el presente estudio.

Dentro de los factores de riesgo convencionales definidos para PE y que fueron tenidos en cuenta en el presente estudio, no se observó diferencia estadísticamente significativa entre casos y controles para raza, nivel socioeconómico, tabaquismo o infección genitourinaria. Sin embargo la variable del factor de riesgo familiar denominado como antecedente materno de PE sí fue estadísticamente significativo, observándose que las pacientes con el antecedente tuvieron 2.91 veces más riesgo de PE que aquellas que no lo tenían, lo cual se acerca a lo reportado en la literatura mundial<sup>27,28</sup>.

El genotipo DD, ha sido previamente implicado en enfermedades cardiovasculares<sup>35</sup>. En cuanto a Preeclampsia el polimorfismo DD del gen de la ECA ha sido evaluado en mujeres Afroamericanas, Europeas y Orientales<sup>12,42,43,44</sup>, quienes no hallaron asociación positiva. Por lo contrario, estudios más recientes, también en raza blanca y amarilla<sup>8,9,10</sup>, realizados en mujeres preeclámplicas de Italia, Polonia, Turquía, Reino Unido, China y Korea, sí se ha encontrado asociación positiva del genotipo DD de la ECA con PE.

Con ésta información conocida, el papel del gen de la ECA en la incidencia de la PE no ha sido claramente establecido, incluso se estipula que diferencias étnicas o las diferentes distribuciones de los genotipos en la población estudiada, marcarían variaciones en la presentación de la frecuencia de la enfermedad. En población latinoamericana hay solo un estudio conocido que evalúa la asociación de los polimorfismos de la ECA con PE, el cual informó asociación negativa<sup>52</sup>, por lo cual diseñamos un estudio de asociación de casos y controles para responder esta pregunta, teniendo en cuenta la gran discrepancia de resultados entre las poblaciones estudiadas. Desde el principio, la muestra fué claramente establecida con un OR a determinar del 2.5, igualmente los criterios de inclusión y de exclusión estuvieron plenamente definidos. El proceso de genotificación fue enmascarado respecto a ser caso o control y fue realizado por dos investigadores independientes; cuando no coincidió el resultado, se hizo una tercera genotipificación.

En nuestro caso, no hallamos asociación estadísticamente significativa entre ser portadora del polimorfismo ID o DD de la ECA y PE (OR 0.99, IC 95% 0.51-1.95,  $p= 0.965$ ).

Adicionalmente el hallazgo de la prevalencia del genotipo DD de la ECA en pacientes sanas colombianas según el presente estudio, coincide con lo

reportado por el grupo de Ardila<sup>37</sup> también realizado en población colombiana (19.4% vs 27%) , igualmente el genotipo ID (56.9 % vs 64%), mientras que el II difiere ostensiblemente (23.6% vs 9%).

Considerando la PE como una enfermedad compleja, en donde múltiples factores ambientales y determinantes genéticos estarían implicados en la presentación de la enfermedad, se estima que cada uno de los genes o sus variantes contribuyen en porcentajes bajos a la etiología de la enfermedad, con un efecto sumatorio. De acuerdo a las últimas recomendaciones sobre estudio de enfermedades complejas en poblaciones, sería conveniente calcular un OR < 2 (recomendable OR de 1.5) para evaluar el impacto independiente de cada variante genética dentro de la presentación de la PE. Así, se propone aumentar la muestra del estudio para aumentar el poder del mismo.

## **12. CONCLUSION**

El genotipo DD de la Enzima Convertidora de Angiotensina no se asocia como factor de riesgo para desarrollar Preeclampsia en la muestra analizada.

## **12. RECOMENDACIONES**

Es claro que aún controlando los factores de riesgo medioambientales, la PE se sigue presentando, por ello consideramos importante continuar los estudios sobre factores de riesgo no convencionales que ayuden a un mejor entendimiento de la enfermedad, redundando en un diagnóstico precoz y direccionando hacia un control prenatal más estricto en aquellas pacientes con predisposición para THAE.

Se sugiere continuar con el presente estudio, involucrando más pacientes a fin de aumentar la muestra con el objetivo de aumentar el poder del estudio.

## REFERENCIAS

1. MONTAN, S; SJOBERG, NO. and SVENNINGSSEN N. Hypertension in pregnancy - fetal and infant outcome: A cohort study. Clin Exp Hypertens (1987); B6: p. 337.
2. ROBERTS, JM; PEARSON, G; and CUTLER, J. Summary of the NHLBI Working Group on Research on Hypertension During Pregnancy. Hypertension, Vol 41 (2004); p. 437-455.
3. Presidencia de la República. Departamento Nacional de Planeación. Ministerio de Salud. En: Mortalidad materna en Colombia (sep. 2001).
4. Encuesta demográfica y de salud familiar (ENDES 2000). En: [URL:http://www.minsa.gov.pe/enfermedad/salud-materna.htm](http://www.minsa.gov.pe/enfermedad/salud-materna.htm)
5. CARDON, LR. and BELL, J. Association study designs for complex diseases. Nature Reviews Genetics, Vol 2 (2001); p. 91-99.
6. ROBERTS, JM. and COOPER, DW. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. Lancet, Vol 357 (2001); p. 53-56.
7. DEKKER, GA. and SIBAI, BM. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: Current concepts. Am J Obstet Gynecol, Vol 179 (1998); p. 1359-1375.
8. ZH, M; XIA, Y. and CHENG W. Study on deletion polymorphisms of the angiotensin converting enzyme gene in pregnancy induced hypertension. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi, Vol. 33, No. 2 (1998); p. 83-5.

9. MELLO, G. et al. Maternal-Fetal flow, negative events and Preeclampsia – Role of ACE I/D Polymorphism. *Hypertension*, Vol. 41 (2003); p. 932-937.
10. ITO M. et al. Possible activation of the Renin-Angiotensin System in the Feto-Placental Unit in Preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*, Vol. 87 (2002); p. 1871-1878.
11. MORGAN, T; CRAVEN, C. and WARD, K. Human Spiral Artery Renin-Angiotensin System. *Hypertension*, Vol. 32 (1998); p. 683-687.
12. MORGAN, L. et al. Angiotensin-converting enzyme insertion-deletion polymorphism in normotensive and pre-eclamptic pregnancies. *J Hypertens*, Vol. 17 (1999); p. 765-768.
13. LASKOWSKA, M; LASKOWSKA, K. and OLESZCZUK, J. Angiotensin-converting enzyme activity in pre-eclampsia. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, Vol. 77 (2002); p. 33-34.
14. REISENBERGER, K. et al. Placental passage of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Am J Obstet Gynecol*, Vol. 174 (1996); p. 1450-1452.
15. LÓPEZ-JARAMILLO, P. Disfunción endotelial en la preeclampsia. En: *Bioquímica del endotelio vascular: implicaciones fisiológicas y clínicas*. Quinta edición, Bogotá: (2001); p. 187-202.
16. DEKKER, GA. The risk factors for preclampsia. In: *Clinical Obstetrics and Gynecology*, Vol. 42, No. 3 (1999); p. 383-93.

17. SIBAI, BM. et al. Risk factors for preeclampsia in healthy nulliparous women: A prospective multicenter study. *Am J Obstet Gynecol*, Vol. 172 (1995); p. 642-8.
18. LÓPEZ-JARAMILLO, P; CASAS, JP. and SERRANO, N. Preeclampsia: from epidemiological observations to molecular mechanism. *Braz J Med Biol. Res*, Vol 10 (2001); p. 1227-35.
19. GIFFORD, RW. et al. The sixth report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, Vol. 183 (2000); S1-S22.
20. SIBAI, BM. Diagnosis, Controversies and Management of the Syndrome of Hemolysis, Elevated Liver Enzymes and Low Platelet Count. *Obstet Gynecol*, Vol. 103 (2004); p. 981-91.
21. MORGAN, T. and WARD, K. New Insights into the genetics of preeclampsia. *Seminars in Perinatology*, Vol. 23, No. 1 (1999); p. 14-23.
22. American College of Obstetricians and Gynecologist: Hypertension in pregnancy. Technical, Bulletin No. 219 (Jan 1996).
23. DEKKER, GA; TUBBERGEN, P. and VALK M. Change paternity: A risk factor for preeclampsia in multiparous women. *Am J Obstet Gynecol*, Vol. 178 (1988); S120.
24. DEKKER, GA. et al. Underlying disorders associated with severe early onset preeclampsia. *Am J Obstet and Gynecol*, Vol. 173 (1995); p. 1042-1048.

25. KOBASHI, G. et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene (NOS3) Variant and Hypertension in Pregnancy. *American Journal of Medical Genetics*, Vol. 103 (2001); p. 241-244.
26. SERRANO, NC. et al. Bases genéticas y moleculares de la preeclampsia. *Medunab*, Vol. 5, No 15 (2002); p. 185-194.
27. GRAVES, JV. Genomic imprinting, development and disease: is pre-eclampsia caused by a maternally imprinted gene? *Reprod Fertil Dev*, Vol. 10 (1998); p. 23-29.
28. ROS, HS. et al. Genetic effects on the liability of developing pre-eclampsia and gestacional hypertension. *Am J Med Genet*, Vol. 91 (2000); p. 256-260.
29. HIRSCHHORN, JN. et al. A comprehensive review of genetic association studies. *Genet Med*, Vol. 4, No. 2 (2002); p. 45-61.
30. FISHER, SJ. and ROBERTS, JM. Defects in Placentation and Placental Perfusion. In: Lindheimer MD, ROBERTS, JM. and CUNNINGHAM, FG. *Hypertensive disorders in pregnancy*. Second edition. Stamford Connecticut: (1999); p. 377-394.
31. COCKELL, AP. et al. Human placental syncytiotrophoblast microvillous membranes impair maternal vascular endothelial function. *Br J Obstet Gynecol*, Vol. 104 (1997); p. 235-240.
32. SVANE, D. et al. Angiotensin-converting enzyme activity and contractile effects of angiotensin I and II in human uteroplacental arteries. *Am J Obstet Gynecol*, Vol. 172 (1995); p. 991-997.

33. COSTEROUSSE, O; DANILOV, S. and ALHENS-GELAS, F. Genetics of angiotensin-converting enzyme. *Clin Exp Hypertens*, Vol. 19 (1997); p. 659-669.
34. ALHENC-GELAS, F. et al. Distribution of plasma angiotensin-converting enzyme levels in healthy men: relationship to environmental and hormonal parameters. *J Lab Clin Med*, Vol. 117 (1991); p. 33-39.
35. CAMBIEN, F; POIRIER, O. and LECERF, L. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature*, Vol. 359 (1992); p. 641-644.
36. PADUA-MANSUR, A. et al. Angiotensin-converting enzyme and apolipoprotein B polymorphisms in coronary artery disease. *Am J Cardiol*, Vol. 85, No. 9 (2000); p. 1089-1093.
37. ARDILA, ME; GAMARRA, G; BAUTISTA, LE. And VARGAS, CI. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and risk of myocardial infarction in Colombia. *Med Sci Monit*, Vol. 10, No. 8 (Aug 2004); CR473-479.
38. LINDPAINTNER, K. et al. A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. *N Engl J Med*, Vol. 332, No. 11 (1995); p. 706-711.
39. CICOIRA, M. et al. Failure of aldosterone supresión despite angiotensin-converting enzyme inhibitor administration in cronic Heart failure is associated with ACE DD genotype. *J am coll Cardiol*, Vol. 37 (2001); p. 1808.

40. MURPHEY, LJ. et al. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism modulates the human in vivo metabolism of bradykinin. *Circulation*, Vol. 102 (2000); p. 829.
41. REISENBERGER, K. et al. Placental passage of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Am J Obstet Gynecol*, Vol. 174 (1996); p. 1450-1455.
42. TAMURA, T. et al. Effect of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism on pregnancy outcome, enzyme activity and zinc concentration. *Obstet Gynecol*, Vol. 88 (1996); p. 497-502.
43. ROBERTS, CB. et al. Hypertension-related gene polymorphisms in preeclampsia, eclampsia and gestational hypertension in Black South African women. *J Hypertens*, Vol. 22, No. 5 (2004); p. 945-948.
44. HEISKANEN, TM. et al. Insertion-deletion polymorphism in the gene for ECA is associated with obstetric cholestasis but not with preeclampsia. *Am J Obstet and Gynecol*, Vol. 185, No. 3 (2001); p. 600-603.
45. HUAI, B. A Common Genetic Variant of the Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Gene and Pregnancy Induced Hypertensive Disorders. *Hua Xi Yi Ke Da Xue X Bao*. Vol. 33, No.2 (2002); p. 233-237.
46. WANG, HY. Relationships between polymorphisms of angiotensin-converting enzyme and methylenetetrahydrofolate reductase genes and genetic susceptibility to pregnancy induced hypertension. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. Chin J Obstet Gynecol*, Vol. 39, No. 6 (2004); p. 369-372

47. ZHOU, N. et al. Deletion of insertion/deletion polymorphisms of angiotensin converting enzyme gene in Preeclampsia. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, Vol. 16, No. 1 (1999); p. 29-31.
48. PINTO, YM. And VAN GLIST, WH. The ACE polymorphism: the good, the bad and the ugly. *Cardiovascular Research*, Vol. 43 (1999); p. 23-24.
49. CHAKRABORTY R. Hardy-Weimberg equilibrium. In: ELSTON, R; OLSON, J. and PALMER, L. (eds). *Bioestatistical genetics and genetic epidemiology*. Wiley, (2002); p. 369-370.
50. GREENLAND, S. Modeling and variable selection in epidemiologic analysis. *Am J Public Health*, Vol. 79 (1989); p. 340-9.
51. TSIATIS, AA. A note on a goodness-of-fit test for the logistic regression model. *Biometrika*, Vol. 67 (1980); p. 250-251.
52. GALAO, AO; SOUZA LH. and PIHNEIRO, B. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in preeclampsia and normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, Vol. 191, No. 3 (2004); p. 821-824.

## BIBLIOGRAFÍA

ALHENC-GELAS, F. et al. Distribution of plasma angiotensin-converting enzyme levels in healthy men: relationship to environmental and hormonal parameters. *J Lab Clin Med*, Vol. 117 (1991); p. 33-39.

American College of Obstetricians and Gynecologist: Hypertension in pregnancy. Technical, Bulletin No. 219 (Jan 1996).

ARDILA, ME; GAMARRA, G; BAUTISTA, LE. And VARGAS, CI. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and risk of myocardial infarction in Colombia. *Med Sci Monit*, Vol. 10, No. 8 (Aug 2004); CR473-479.

CAMBIEN, F; POIRIER, O. and LECERF, L. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature*, Vol. 359 (1992); p. 641-644.

CARDON, LR. and BELL, J. Association study designs for complex diseases. *Nature Reviews Genetics*, Vol 2 (2001); p. 91-99.

CHAKRABORTY R. Hardy-Weimberg equilibrium. In: ELSTON, R; OLSON, J. and PALMER, L. (eds). *Bioestatistical genetics and genetic epidemiology*. Wiley, (2002); p. 369-370.

CICOIRA, M. et al. Failure of aldosterone supresión despite angiotensin-converting enzyme inhibitor administration in cronic Heart failure is associated with ACE DD genotype. *J am coll Cardiol*, Vol. 37 (2001); p. 1808.

COCKELL, AP. et al. Human placental syncytiotrophoblast microvillous membranes impair maternal vascular endothelial function. Br J Obstet Gynecol, Vol. 104 (1997); p. 235-240.

COSTEROUSSE, O; DANILOV, S. and ALHENS-GELAS, F. Genetics of angiotensin-converting enzyme. Clin Exp Hypertens, Vol. 19 (1997); p. 659-669.

DEKKER, GA. and SIBAI, BM. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: Current concepts. Am J Obstet Gynecol, Vol 179 (1998); p. 1359-1375.

DEKKER, GA. et al. Underlying disorders associated with severe early onset preeclampsia. Am J Obstet and Gynecol, Vol. 173 (1995); p. 1042-1048.

DEKKER, GA. The risk factors for preclampsia. In: Clinical Obstetrics and Gynecology, Vol. 42, No. 3 (1999); p. 383-93.

DEKKER, GA; TUBBERGEN, P. and VALK M. Change paternity: A risk factor for preeclampsia in multiparous women. Am J Obstet Gynecol, Vol. 178 (1988); S120.

Encuesta demográfica y de salud familiar (ENDES 2000). En:  
URL:<http://www.minsa.gov.pe/enfermedad/salud-materna.htm>

FISHER, SJ. and ROBERTS, JM. Defects in Placentation and Placental Perfusion. In: Lindheimer MD, ROBERTS, JM. and CUNNINGHAM, FG. Hypertensive disorders in pregnancy. Second edition. Stamford Connecticut: (1999); p. 377-394.

GALAO, AO; SOUZA LH. and PIHNEIRO, B. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in preeclampsia and normal pregnancy. Am J Obstet Gynecol, Vol. 191, No. 3 (2004); p. 821-824.

GIFFORD, RW. et al. The sixth report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure in Pregnancy. Am J Obstet Gynecol, Vol. 183 (2000); S1-S22.

GRAVES, JV. Genomic imprinting, development and disease: is pre-eclampsia caused by a maternally imprinted gene? Reprod Fertil Dev, Vol. 10 (1998); p. 23-29.

GREENLAND, S. Modeling and variable selection in epidemiologic analysis. Am J Public Health, Vol. 79 (1989); p. 340-9.

HEISKANEN, TM. et al. Insertion-deletion polymorphism in the gene for ECA is associated with obstetric cholestasis but not with preeclampsia. Am J Obstet and Gynecol, Vol. 185, No. 3 (2001); p. 600-603.

HIRSCHHORN, JN. et al. A comprehensive review of genetic association studies. Genet Med, Vol. 4, No. 2 (2002); p. 45-61.

HUAI, B. A Common Genetic Variant of the Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Gene and Pregnancy Induced Hypertensive Disorders. Hua Xi Yi Ke Da Xue X Bao. Vol. 33, No.2 (2002); p. 233-237.

ITO M. et al. Possible activation of the Renin-Angiotensin System in the Feto-

Placental Unit in Preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*, Vol. 87 (2002); p. 1871-1878.

KOBASHI, G. et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene (NOS3) Variant and Hypertension in Pregnancy. *American Journal of Medical Genetics*, Vol. 103 (2001); p. 241-244.

LASKOWSKA, M; LASKOWSKA, K. and OLESZCZUK, J. Angiotensin-converting enzyme activity in pre-eclampsia. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, Vol. 77 (2002); p. 33-34.

LINDPAINTNER, K. et al. A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. *N Engl J Med*, Vol. 332, No. 11 (1995); p. 706-711.

LÓPEZ-JARAMILLO, P. Disfunción endotelial en la preeclampsia. En: *Bioquímica del endotelio vascular: implicaciones fisiológicas y clínicas*. Quinta edición, Bogotá: (2001); p. 187-202.

LÓPEZ-JARAMILLO, P; CASAS, JP. and SERRANO, N. Preeclampsia: from epidemiological observations to molecular mechanism. *Braz J Med Biol. Res*, Vol 10 (2001); p. 1227-35.

MELLO, G. et al. Maternal-Fetal flow, negative events and Preeclampsia - Role of ACE I/D Polymorphism. *Hypertension*, Vol. 41 (2003); p. 932-937.

MONTAN, S; SJOBERG, NO. and SVENNINGSSEN N. Hypertension in pregnancy - fetal and infant outcome: A cohort study. *Clin Exp Hypertens* (1987);

B6: p. 337.

MORGAN, L. et al. Angiotensin-converting enzyme insertion-deletion polymorphism in normotensive and pre-eclamptic pregnancies. *J Hypertens*, Vol. 17 (1999); p. 765-768.

MORGAN, T. and WARD, K. New Insights into the genetics of preeclampsia. *Seminars in Perinatology*, Vol. 23, No. 1 (1999); p. 14-23.

MORGAN, T; CRAVEN, C. and WARD, K. Human Spiral Artery Renin-Angiotensin System. *Hypertension*, Vol. 32 (1998); p. 683-687.

MURPHEY, LJ. et al. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism modulates the human in vivo metabolism of bradykinin. *Circulation*, Vol. 102 (2000); p. 829.

PADUA-MANSUR, A. et al. Angiotensin-converting enzyme and apolipoprotein B polymorphisms in coronary artery disease. *Am J Cardiol*, Vol. 85, No. 9 (2000); p. 1089-1093.

PINTO, YM. And VAN GLIST, WH. The ACE polymorphism: the good, the bad and the ugly. *Cardiovascular Research*, Vol. 43 (1999); p. 23-24.

Presidencia de la República. Departamento Nacional de Planeación. Ministerio de Salud. En: *Mortalidad materna en Colombia* (sep. 2001).

REISENBERGER, K. et al. Placental passage of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Am J Obstet Gynecol*, Vol. 174 (1996); p. 1450-1455.

REISENBERGER, K. et al. Placental passage of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Am J Obstet Gynecol*, Vol. 174 (1996); p. 1450-1452.

ROBERTS, CB. et al. Hypertension-related gene polymorphisms in preeclampsia, eclampsia and gestational hypertension in Black South African women *J Hypertens*, Vol. 22, No. 5 (2004); p. 945-948.

ROBERTS, JM. and COOPER, DW. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *Lancet*, Vol 357 (2001); p. 53-56.

ROBERTS, JM; PEARSON, G; and CUTLER, J. Summary of the NHLBI Working Group on Research on Hypertension During Pregnancy. *Hypertension*, Vol 41 (2004); p. 437-455.

ROS, HS. et al. Genetic effects on the liability of developing pre-eclampsia and gestacional hypertension. *Am J Med Genet*, Vol. 91 (2000); p. 256-260.

SERRANO, NC. et al. Bases genéticas y moleculares de la preeclampsia. *Medunab*, Vol. 5, No 15 (2002); p. 185-194.

SIBAI, BM. Diagnosis, Controversies and Management of the Syndrome of Hemolysis, Elevated Liver Enzymes and Low Platelet Count. *Obstet Gynecol*, Vol. 103 (2004); p. 981-91.

SIBAI, BM. et al. Risk factors for preeclampsia in healthy nulliparous women: A prospective multicenter study. *Am J Obstet Gynecol*, Vol. 172 (1995); p. 642-8.

SVANE, D. et al. Angiotensin-converting enzyme activity and contractile effects of angiotensin I and II in human uteroplacental arteries. *Am J Obstet Gynecol*, Vol. 172 (1995); p. 991-997.

TAMURA, T. et al. Effect of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism on pregnancy outcome, enzyme activity and zinc concentration. *Obstet Gynecol*, Vol. 88 (1996); p. 497-502.

TSIATIS, AA. A note on a goodness-of-fit test for the logistic regression model. *Biometrika*, Vol. 67 (1980); p. 250-251.

WANG, HY. Relationships between polymorphisms of angiotensin-converting enzyme and methylenetetrahydrofolate reductase genes and genetic susceptibility to pregnancy induced hypertension. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. Chin J Obstet Gynecol*, Vol. 39, No. 6 (2004); p. 369-372.

ZH, M; XIA, Y. and CHENG W. Study on deletion polymorphisms of the angiotensin converting enzyme gene in pregnancy induced hypertension. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, Vol. 33, No. 2 (1998); p. 83-5.

ZHOU, N. et al. Deletion of insertion/deletion polymorphisms of angiotensin converting enzyme gene in Preeclampsia. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, Vol. 16, No. 1 (1999); p. 29-31.



- No\_\_\_ (pase a la pregunta 15)  
 Si\_\_\_ Cúal\_\_\_\_\_ ¿Tratada? si\_\_\_ no\_\_\_
15. ¿Su madre presentó preeclampsia en algún embarazo?  
 si\_\_\_ no\_\_\_ no sabe\_\_\_
16. ¿Tiene hermanas? no\_\_\_ si\_\_\_ → ¿cuántas?\_\_\_  
 ¿edades? \_\_\_\_, \_\_\_\_, \_\_\_\_, \_\_\_\_, \_\_\_\_
17. ¿Alguna hermana presentó preeclampsia? si\_\_\_ no\_\_\_ no sabe\_\_\_

### ESTADO CLINICO DE LA PACIENTE

18. Semanas de gestación al momento de la evaluación\_\_\_
19. Preeclampsia? no\_\_\_ si\_\_\_ Presenta: epigastralgia \_\_\_\_\_  
 cefalea \_\_\_\_\_  
 fosfenos \_\_\_\_\_  
 hiperreflexia \_\_\_\_\_  
 convulsiones \_\_\_\_\_
20. TA(1) \_\_\_/\_\_\_ TA(2) \_\_\_/\_\_\_ intervalo de toma (horas) \_\_\_\_\_
21. ¿Se administró tratamiento a la paciente entre las tomas? si\_\_\_ no\_\_\_
22. Proteinuria: tira reactiva\_\_\_\_\_ parcial de orina\_\_\_\_\_  
 orina de 24 horas \_\_\_\_\_
23. Presenta edemas? no\_\_\_ si\_\_\_ localización \_\_\_\_\_

### DATOS DEL RECIEN NACIDO

24. ¿Semanas de gestación al momento de finalizar el embarazo? \_\_\_\_\_
25. ¿Terminación del embarazo? parto vaginal\_\_\_ cesárea\_\_\_\_\_
26. Género: masculino\_\_\_ femenino\_\_\_
27. Peso \_\_\_ gr
28. Talla \_\_\_ cm
29. Apgar 1 min\_\_\_ 5 min\_\_\_\_\_

**OBSERVACIONES**

---

---

---

Datos tomados por: \_\_\_\_\_

Cargo: \_\_\_\_\_

Firma del encuestador: \_\_\_\_\_