

**ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA EN NIÑOS
HIPERCOLESTEROLÉMICOS Y NORMACOLESTEROLEMICOS.**

PRESENTADO

POR

PAOLA ANDREA RANGEL BARRETO

**CON EL OBJETIVO DE OPTAR AL TITULO
DE LICENCIATURA EN BIOLOGIA Y EDUCACIÓN AMBIENTAL**

**DIRECTORA DE TESIS
DOCTORA PATRICIA LANDAZURI Mc. Ph. D**

**UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO
FACULTAD DE EDUCACIÓN
PROGRAMA LIC EN BIOLOGÍA Y EDUCACIÓN AMBIENTAL
20 DE SEPTIEMBRE DEL 2005
ARMENIA QUINDIO**

TABLA DE CONTENIDO

	Pag.
1. INTRODUCCIÓN	3
2. OBJETIVOS	5
2.1 OBJETIVOS GENERAL	5
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	5
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	6
4. MARCO TEORICO	8
5. ESTADO DEL ARTE	20
6. MATERIALES Y METODOS	23
6.1 SUJETOS DE ESTUDIO	23
6.2 SUJETOS CASOS	23
6.3 SUJETOS CONTROLES	24
6.4 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	24
6.5 ANALISIS BIOQUÍMICO	25
7. RESULTADOS	27
8. DISCUSIÓN	32
9. CONCLUSIÓN	33
BIBLIOGRAFÍA	34

1. INTRODUCCIÓN

Los niños con hipercolesterolemia presentan una mayor probabilidad de tener cardiopatía coronaria cuando alcanzan más edad. Esta enfermedad se define tradicionalmente como condiciones en las cuales la concentración de lipoproteínas plasmáticas portadoras de colesterol o triglicéridos exceden un límite normal arbitrario.

La preocupación clínica surge porque esta concentración elevada de lipoproteínas puede acelerar el desarrollo de arterosclerosis, con su doble secuela de trombosis e infartos, estas afecciones son producto de disfunciones que se producen cuando el exceso de lípidos no se elimina ó utiliza, depositándose en los tejidos y paredes arteriales obstruyendo el flujo de la sangre. Por lo tanto, es fundamental la detección y tratamiento, su prevención mediante la adopción de estilos de vida saludables resultando más eficaz cuando se establece en la infancia que en la vida adulta. Mantener estos niveles séricos de colesterol en un rango deseable es una meta de salud general.

El conocimiento de la bioquímica es importante para la comprensión de muchas áreas biomédicas de interés actual, por este motivo se debe hacer un manejo practico de nuestros niños en base a estos conocimientos actuales para la detección y prevención de las enfermedades cardiovasculares.

Las enzimas tienen implicaciones significativas en las enfermedades, ya que son los principales biocatalizadores de nuestro organismo, de esta manera aumentan sus niveles cuando se producen lesiones celulares. Por lo tanto, los valores de la actividad de la enzima convertidora de angiotensina proporciona y representa un aspecto de interés en la evaluación de riesgo cardiovascular, ya que gracias a esta enzima clave en el sistema renina-angiotensina, da lugar al principio activo angiotensina II, un potente vasoconstrictor del organismo, que actúa directamente sobre la musculatura de fibra lisa arteriolar. Esto nos indica que los análisis enzimáticos de la enzima convertidora de angiotensina son determinantes de la salud y enfermedad.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar si existe asociación entre la actividad de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) y los niveles de colesterol en una población de niños hipercolesterolémicos y sus controles en Armenia Quindío.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los niveles de colesterol total en la población de estudio.
- Determinar la actividad la enzima convertidora de angiotensina en los niños.
- Establecer si existe asociación entre los niveles de colesterol y la actividad de la ECA
- Elaborar un documento de difusión científica que de a ofrecer una adecuada información de la prevención de la hipercolesterolemia, así despertar en la comunidad una conciencia frente a la vigilancia y control de la vida personal.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

La hipercolesterolemia es un factor de riesgo en las enfermedades cardiovasculares¹, por lo tanto es fundamental la detección y tratamiento; Prevenirlas mediante la adopción de estilos de vida saludables resultando más eficaz cuando se establece en la infancia que en la vida adulta.

El proceso de Hipercolesterolemia puede actuar desde la niñez y progresa en la adolescencia, pudiendo conducir con posterioridad al desarrollo de la enfermedad cardiovascular^{2,3}. Los niños y adolescentes con colesterol moderadamente elevado tienen una mayor probabilidad de presentar hipercolesterolemia en la edad adulta.

Se cree que tanto los factores ambientales como los genéticos contribuyen a la hipercolesterolemia, aunque está claro que estas enfermedades cardiovasculares pueden ser heredadas, se desconocen en gran medida los factores genéticos responsables⁴.

El departamento del Quindío enfrenta una carencia de investigación sobre la etiología de las enfermedades cardiovasculares especialmente sobre los factores relacionados con el Sistema Renina-Angiotensina (SRA), en niños el cual evidentemente esta relacionado con las enfermedades cardiacas.

También se observa la ausencia de campañas de prevención de enfermedades cardiovasculares que permitan llegar a la comunidad. Los resultados de este proyecto ofrecen datos e información que pueden ser utilizados para las campañas de promoción y prevención en la comunidad.

A medida que se cuente con la tecnología más avanzada, los análisis enzimáticos ofrecerán una sensibilidad y especificidad diagnóstica aún mayores dando un significado clínico a las enfermedades como la hipercolesterolemia la cual se relaciona a las enfermedades cardiovasculares.

Las enzimas tienen implicaciones como determinantes de la salud y la enfermedad. Las enfermedades que se llaman errores congénitos del metabolismo se deben a anormalidades en la síntesis de enzimas y son determinadas en forma genética. Cuando se producen lesiones celulares, como las provocadas por afecciones del suministro sanguíneo, ciertas enzimas aumentan sus niveles de actividad enzimática, estas son varias razones para determinar la actividad de la ECA.

Muchas investigaciones han afirmado que la actividad de la ECA esta relacionada en diversas enfermedades^{5,6}, por lo tanto es un marcador útil que proporciona apoyo a los tratamientos para reducir la mortalidad cardiovascular. Fisiológicamente esta enzima es clave en el sistema Renina-Angiotensina uno de los sistemas vasoconstrictores más potentes del organismo que nos brinda una especificidad del diagnóstico.

4. ESTADO DEL ARTE

El sistema renina angiotensina (SRA) es uno de los sistemas reguladores de la presión sanguínea y de los líquidos y electrolitos del ser humano. Los componentes del SRA son el angiotensinógeno, el cual es una alfa globulina circulante producida por el hígado, sobre la cual actúa la renina para producir angiotensina I (AI). Sobre esta actúa la enzima convertidora de angiotensina (ECA), produciendo angiotensina II (AII). Fisiológicamente la ECA es una enzima clave en SRA.

En 1898, Tiegerstedt y Bergman⁷, encontraron que los extractos salinos crudos de riñón contenían un principio presor, que denominaron renina. La ECA fue originalmente identificada por Skeggs⁸, en plasma equino; pero las concentraciones más altas fueron encontradas en pulmones, tejido reproductor masculino, riñón, etc.

La purificación de la ECA fue esencialmente realizada del pulmón de cerdo conejo, bovino, humano, riñón de cerdo y de humano y de cerebro de rata.

Su descubrimiento tuvo importancia sobre el problema de la hipertensión y su relación con la enfermedad renal que había sido planteado por Richard Bright ⁹ unos 60 años antes.

Goldblatt en 1934, demostró que era posible producir hipertensión y su relación persistentes en perros por constricción de la arteria renal.(9)

En 1940 el grupo de Braun(10), informaron por separado que la renina era una enzima que actuaba sobre una proteína plasmática catalizando la información de, un péptido que fue denominado hipertensina por el primer grupo y angiotonina por el segundo. Posteriormente se llamó angiotensina.

A mediados de la década de 1950 se reconocieron dos formas de Angiotensina, la primera Angiotensina I y la segunda Angiotensina II formada esta última a partir de la primera por la acción de la ECA.

En 1970 se introdujeron agentes farmacológicos que inhibían la formación de las angiotensinas o bloqueaban sus acciones en los receptores.

A principios de los 80 fueron propuestos varios métodos para determinar la actividad de la ECA en fluidos biológicos. Entre ellos el trabajo de Ronca-Testoni¹¹.

A partir de los años noventa y con los métodos de medición de la enzima en suero comienzan trabajos para establecer asociaciones entre los niveles de la enzima y la enfermedad cardiovascular.

En las dos décadas pasadas se han hecho progresos en encontrar los genes implicados en la regulación de la presión arterial, entre los cuales se encuentran los genes del sistema-renina angiotensina (SRA)¹². El gen humano de renina fue el primero en ser estudiado a nivel molecular por su posible relación con la patogénesis de la hipertensión esencial¹³. También se han investigado variaciones en el gen del angiotensinógeno (AGT) y el gen de la enzima convertidora de angiotensina (ECA)¹⁴

El trabajo de Alhenc -Gelas y colaboradores¹⁴ se encontró una correlación significativa entre la actividad de la ECA en suero y la presión sanguínea en hombres aparentemente sanos, estos hallazgos también han sido reproducidos en estudios realizados con grupos de niños y mujeres adultas.

Recientemente en un trabajo, mostró que diabetes tipo 1, los polimorfismos del gen de la ECA y los niveles de enzima son responsables posiblemente por su enfermedad cardiovascular. (15)

En otro estudio en el 2005¹⁶, mostraron que los niveles de ECA son un factor de riesgo independiente en mujeres con enfermedad coronaria.

5. MARCO TEORICO

Las grasas obtenidas a partir de los alimentos que ingerimos, los lípidos sintetizados por el hígado y el tejido adiposo, deben ser transportados a los diversos tejidos y órganos para su utilización y almacenamiento. Dado que el colesterol de nuestro cuerpo no puede viajar libre por el torrente sanguíneo en virtud de que este al igual que el resto de las grasas o lípidos son insolubles en la sangre, se transportan por el plasma humano asociados con proteínas en forma de lipoproteínas, que son grandes partículas globulares que contienen un centro oleoso de ésteres grasos no polares, rodeado por una capa polar de fosfolípidos.

Los componentes proteínicos, denominados apoproteínas, incrementan tanto la solubilidad de la partícula como la identificación por enzimas y receptores localizados en la superficie exterior de las lipoproteínas.

Cada clase de lipoproteínas tiene un tejido específico de origen y catabolismo que desempeña un papel definido en el transporte de lípidos. Estas lipoproteínas representan un espectro continuo de partículas de tamaño, densidad, composición y función variable.

Las lipoproteínas se clasifican, en función de su densidad, en lipoproteínas de alta densidad (HDL), de baja densidad (LDL), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y los quilomicrones que son partículas muy grandes de muy baja densidad.

Las HDL o lipoproteínas de alta densidad, se encargan de movilizar principalmente colesterol de regreso al hígado. Siendo denominado colesterol bueno, porque ubica y remueve las partículas de colesterol pegadas en las paredes de vasos sanguíneos permitiendo que estos luzcan limpios y despejados, de manera que la sangre pasa libremente, siendo los transportadores más importantes de los fosfolípidos. Estas HDL y las VLDL se sintetizan en el hígado y, en menor medida, en el intestino y son los principales vehículos de transportes de los triacilgliceroles.

Las LDL son los transportadores más importantes de colesterol y de su ésteres, contienen el colesterol malo, ya que cuando sus concentraciones sobrepasan los niveles adecuados comienzan a dejar partículas de colesterol que se van pegando a nivel de los vasos sanguíneos. Los receptores de LDL son esenciales para el metabolismo correcto del colesterol. En los tejidos periféricos, estos receptores unen los remanentes de las VLDL y los degrada. Si falta el receptor, estos remanentes de las VLDL se transforman en LDL ricas en colesterol, elevándose su concentración en el plasma. Los defectos en la síntesis del receptor proteico de LDL pueden ser de dos tipos.

En algunos individuos el receptor se sintetiza faltándole la región de unión de LDL; por eso las LDL no pueden ser eliminadas del plasma.

En otros individuos, el receptor es incapaz de unirse a las fosas recubiertas. En estos casos el número de receptores de LDL es normal, pero estos se encuentran repartidos al azar por toda la superficie celular en vez de localizarse en las fosas. Las LDL se unen a los receptores, pero no pueden ser absorbidas por endocitosis.

Estos defectos caracterizan la Hipercolesterolemia familiar un rasgo autosómico dominante que aparece en una de cada 500 personas. Los individuos homocigotos para el gen defectivo poseen concentraciones de colesterol en el plasma de 680mg por 100 ml, en comparación a los 175mg por 100ml de individuos normales. El colesterol se acumula rápidamente en las arterias de las personas afectadas, las cuales suelen morir de enfermedad cardiaca a los 20 años de edad. Los individuos heterocigotos, que han heredado un gen funcional y otro defectivos, tiene típicamente unas concentraciones de colesterol de 300mg por 100ml. Estas personas también padecen un alto riesgo de enfermedades cardiovasculares y suelen tener infartos cardiacos a los 40 años de edad.

Los quilomicrones y las VLDL que circulan por el plasma sanguíneo se unen a las paredes de los capilares de los tejidos corporales. Los quilomicrones se eliminan del torrente circulatorio muy rápidamente; la vida media de un quilomicron viene a ser de unos 5 minutos. La vida media de las VLDL y las partículas que quedan

después de que el núcleo lipídico se han eliminado es de aproximadamente 6 horas. La degradación de las VLDL por pérdida de triacilgliceroles genera las LDL.

Las anormalidades del metabolismo de los lípidos se presentan en los sitios de producción, almacenamiento, transporte o utilización causando enfermedades como la hipercolesterolemia, al cual es un factor de riesgo para aumentos de mortalidad cardíaca. La mayor parte de patologías que afectan el transporte lipídico se deben, principalmente, a defectos de la lipoproteína, de enzimas esenciales o de los receptores de lipoproteínas.

El término hipercolesterolemia designa una elevación aislada del colesterol- LDL en suero. Varias líneas de evidencia indican que la elevación de las concentraciones séricas de LDL promueven el proceso de arterogénesis e incrementan el riesgo de enfermedades cardiovasculares. El aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares es proporcional a la elevación de los niveles de LDL en suero. De hecho el riesgo se incrementa con concentraciones séricas de LDL que aumentan en forma progresiva. El mecanismo posible de esta transmisión de hipercolesterolemia puede ser la interacción de múltiples genes tanto de la madre como la del padre, a presencia de los factores ambientales, especialmente una dieta saturada en grasas contribuye a esta enfermedad. (18)

Los niños con esta hipercolesterolemia pueden tener las concentraciones de colesterol ligeramente elevadas o elevadas presentando una mayor probabilidad

de manifestar un infarto de miocardio más tardíamente. Estas afecciones coronarias son producto de disfunciones que se producen cuando el exceso de lípidos no se eliminan o utilizan, se depositan en tejidos y paredes arteriales obstruyendo el flujo de la sangre a órganos vitales .(19)

Anteriormente, se admitía en general que los niños prematuros con concentraciones de colesterol por encima del percentil 95 eran hipercolesterolémicos. Ahora existen pruebas que indican que, incluso los niños con elevación mas moderada de los niveles de colesterol, pueden tener mayor riesgo de cardiopatía coronaria prematura cuando alcanzan más edad. Debe subrayarse que, aunque no existen estudios longitudinales que pongan en relación la elevación moderada de las concentraciones de colesterol en los niños con una mayor prevalencia de cardiopatía en su vida posterior, la mayoría de las pruebas apoyan la existencia de dicha asociación. Es importante que estos niños mayores de dos años adopten una dieta adecuada con su familia, para que se cumpla lo mejor posible, este plan dietético son eficaces e inofensivos para tratar la hipercolesterolemia, sin embargo, la sencilla restricción de colesterol en la dieta no puede alcanzarse por general más que una modesta reducción en la concentración plasmática de colesterol. Esto solo puede conseguirse mediante la inhibición de la biosíntesis del colesterol. No obstante, casi siempre puede lograrse una modesta reducción de la cifra del colesterol plasmático disminuyendo ingestión de colesterol a partir de la dieta. Cuando la dieta es abundante en colesterol, las concentraciones plasmáticas se mantienen a niveles entre el 10 y

20% mayores que las que se pueden alcanzar si la única fuente de colesterol es la biosíntesis. De este modo la biosíntesis no puede compensarse por completo mediante una significativa reducción en la ingestión de colesterol por la dieta, ya que tan sólo resulta un ligero descenso en el nivel circulante, pero se considera que debido a los descensos en la concentración plasmática de colesterol observados con dietas que contengan altos porcentajes de ácidos grasos su administración sería beneficiosa para la salud. (20)

Los valores normales de colesterol plasmático en niños deben ser menores que 175mg/dl. Se consideran niños hipercolesterolémicos, aquellos que tienen valores mayores que 175 mg/dl.

Es importante que un niño que tenga unos resultados positivos en unas pruebas de detección de hipercolesterolemia no se sienta “marcado” ni adopte el papel de un enfermo crónico. Los planes terapéuticos deben indicar que una evaluación moderada de los niveles de colesterol constituye un factor de riesgo, pero deben insistir en los aspectos positivos de un cambio adecuado en los hábitos de vida. Al mismo tiempo, algunos niños y sus familiares pueden tener dificultades para aceptar los consejos dietéticos al percibir el carácter poco definido del riesgo que entrañan los niveles moderadamente elevados de colesterol. (21)

La enzima convertidora de angiotensina, esta involucrada en las enfermedades cardiacas. Fisiológicamente la ECA es una enzima clave en el sistema renina

angiotensina el cual es uno de los sistemas vasoconstrictores más potentes del organismo.

En estado de gasto cardiaco bajo, hay una activación del sistema renina – angiotensina. Este sistema interviene en la regulación de la presión sanguínea y del metabolismo de electrolitos.

La fisiología del sistema renina-angiotensina consiste en la liberación de la renina la cual es una enzima endopeptidasa altamente específica que se forma y almacena en las granulaciones de las células yuxtaglomerulares que rodean las arteriolas aferentes de los glomérulos renales. La renina actúa sobre su principal sustrato, el angiotensinógeno el cual es una alfa globulina circulante, sintetizada por el hígado.

La reacción enzimática separa el decapeptido aminoterminal de la molécula proteica. Este polipéptido, angiotensina I es muy inestable siendo desdoblado rápidamente por la enzima convertidora de angiotensina (ECA). Esta actúa como un dipeptidilcarboxipeptidasa separando el terminal C dipéptido desde angiotensina I, dando lugar al principio activo, la angiotensina II octapéptido un agente vasoconstrictor que actúa directamente sobre la musculatura de fibra lisa arteriolar. La vida media del octapéptido activo también es muy breve, al igual que su efecto vasoconstrictor directo, ya que es rápidamente degradada por

aminopeptidasas N a péptidos a su vez de menor peso molecular; entonces puede ser subsecuentemente dividida en angiotensina III.

El incremento de la actividad de angiotensina I fue reportada en patologías incriminadas en simulación de la línea monocítica en enfermedades granulomatosas primarias, sarcoidosis es la más frecuente y la más estudiada de estas enfermedades de alto incremento de la actividad de angiotensina I; no es solamente un marcador establecido para el diagnóstico, es también una herramienta útil para el seguimiento y el curso de la evaluación y el efecto de la terapia. También ha sido marcador en las enfermedades pulmonares granulomatosas no sarcoidiomas y en patologías granulomatosas extratorácicas como la enfermedad de Gauch y Lepra.

El decrecimiento de la actividad de la ECA fue reportada en patologías vasculares involucrando anomalía endotelial, trombosis profunda en venas y disfunciones en endotelio relacionadas con la toxicidad de quimioterapia y radioterapia usadas en cáncer, leucemias y trasplantes de órganos hematoyéticos.

Existen estudios que prueban que la angiotensina II actúa sobre la homeostasis del sodio de dos maneras: modifica el flujo sanguíneo renal de tal modo que mantiene constante la filtración glomerular, con el que cambia la fracción de filtración del sodio, y estimula la secreción de aldosterona por la corteza suprarrenal. Al elevarse los niveles de aldosterona en el plasma, aumenta la

retención de sodio y esto produce una expansión del volumen del líquido extracelular, lo cual a su vez amortigua la señal para que inicie la liberación de renina. De esta manera regula el volumen de los líquidos corporales modificando la hemodinámica renal y el transporte tubular del sodio. Si se aumenta la cantidad de sodio filtrado, la mayor liberación de renina es capaz de disminuir la filtración glomerular y reducir de este modo la carga de sodio filtrado. (22)(23)

La enzima convertidora de angiotensina (ECA) fue originalmente identificada por Skeggs(8) en plasma equino y fue subsecuentemente medida en muchos órganos de mamíferos, localizados sobre la superficie laminal de las células como una ectoglycoproteína, las concentraciones más altas fueron encontradas en pulmones, tejido reproductor masculino, riñón, corazón, cerebro, intestino, órganos endocrinos y en células de linaje macrófagos monocitos. Esta distribución y localización es variable encontrándose la gran parte de la actividad en el plasma endotelial: pero se sabe muy poco acerca de la regulación de esta biosíntesis.

La purificación de la ECA fue esencialmente realizada del pulmón (cerdo, conejo, bovino, humano), riñón (cerdo, humano), cerebro (cerebro de rata) y plasma humano. Esta enzima fue purificada satisfactoriamente por una combinación de cromatografía, técnicas electroforéticas y métodos usados afines a la cromatografía y técnicas de inmunoafinidad. (8)

En 1898, Tiegerstedt y Bergman (7) encontraron que los extractos salinos crudos de riñón contenían un principio presor, que denominaron renina. Su descubrimiento tuvo importancia sobre el problema de la hipertensión y su relación con la enfermedad renal que había sido planteado por Richard Bright (7) unos 60 años antes.

Goldblatt en 1934 (9) demostró que era posible producir hipertensión y su relación persistentes en perros por constricción de la arteria renal.

En 1940 Braun – Menéndez (10) informaron que la renina era una enzima que actuaba sobre un sustrato constituido por una proteína plasmática catalizando la información del verdadero compuesto presor, un péptido que fue denominado hipertensina por el primer grupo y angiotonina por el segundo. Estos dos términos persistieron durante casi 20 años hasta que se convino en designar angiotensinógena a la sustancia presora y, angiotensinógeno al sustrato plasmático. A mediados de la década de 1950 se reconocieron dos formas de Angiotensina, la primera un decapeptido (Angiotensina I) y la segunda un octapeptido (Angiotensina II) formado a partir de la angiotensina I por degradación provocada por otra enzima denominada ECA. Se demostró que el octapeptido era la forma más activa y su síntesis fue realizada en 1957 por SEHWYZER y por BAMPUS. (19)

Gross (19) en 1958 se realizaron nuevos progresos, sugirió que el sistema renina-angiotensina intervenía en la regulación de la secreción de aldosterona. Pronto se demostró que los riñones son importantes para esta regulación y que la angiotensina en cantidades pequeñas, estimula la producción de aldosterona en el ser humano. Además se observó una secreción elevada de renina cuando se reduce experimentalmente la concentración de sodio en el plasma. Así, el sistema renina angiotensina fue recomendado como un mecanismo que estimula la síntesis y la secreción de aldosterona y como un mecanismo fisiológico importante en la regulación homeostática del volumen, la tensión arterial y de la composición de los electrolitos de los líquidos orgánicos.

En 1970 se introdujeron agentes farmacológicos que inhibían la formación de las angiotensinas o bloqueaban sus acciones en los receptores. Estos inhibidores han aclarado las funciones homeostáticas del sistema renina-angiotensina y revelado su importante papel en el mantenimiento de la hipertensión arterial de diversa etiología. Estos hallazgos llevaron al desarrollo de una nueva y eficaz clase de agentes antihipertensivos, los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina.

Los primeros ensayos para la determinación de la actividad de la ECA fueron biológicos y/o basados en substratos fisiológicos. A principios de los 80, otros substratos fueron propuestos en el esfuerzo para desarrollar ensayos espectrofotométricos. El substrato Furilacribyfenil Alanina-Glicil-Glicina (FAPGG)

fue propuesto para la determinación de la actividad de la ECA. Ronca Testoni (11) adoptó este método para la determinación de la actividad de la ECA en fluidos biológicos el cual es de particular interés para estos estudios fisiológicos en angiotensina presentando muchas ventajas; el cambio de absorción a 345 nm puede ser monitoreado cinéticamente y la rata de la hidrólisis es triplicado enormemente más que con otros substratos previamente reportados así el tiempo de ensayo y la sensibilidad son mejoradas y el rango normal de referencia será más alto. Esto proporciona que el método sea de fácil adopción para muchos analizadores clínicos.

La determinación de la ECA desde el desarrollo de ensayos espectrofotométricos en sueros es ahora segura y simple dando una fuerte evidencia de apoyo para complementar el procedimiento de diagnóstico. Muchos descubrimientos sugieren que monitoreando la ECA como un indicador de integridad celular endotelial quizás contribuya en la búsqueda de eventos de anormalidad endotelial general.

MATERIAL Y METODOS

Sujetos de Estudio.

Se realizó un estudio de casos y controles donde se analizaron el colesterol total y la actividad de la ECA en niños de ambos sexos con edades entre 4 y 18 años. El proyecto contó con la aprobación del comité de bioética.

Sujetos casos: Los niños casos se seleccionaron a partir de una revisión de las historias clínicas pediátricas de los últimos 6 meses del año 2002, las historias fueron tanto del hospital universitario San Juan de Dios de Armenia, como de los laboratorios clínicos privados de la Ciudad. Los niños seleccionados, fueron aquellos en cuyas historias clínicas aparecía un reporte previo de colesterol total mayor de 175 mg/dl (4.5 mmol/L). Este valor ha sido definido por el NCEP (National Cholesterol Education Program)²⁴ y por el consenso español²⁵ como de riesgo moderado de padecer ECV.

Sujetos controles: Basados en un muestreo aleatorio para el grupo control se seleccionaron niños, aparentemente sanos de diferentes planteles educativos públicos de la ciudad, y cuyos niveles de colesterol una vez medidos en el laboratorio no fueron mayores de 175 mg/dl.

Criterios de exclusión: Se excluyeron del estudio niños con diabetes o tratamiento dietario y farmacológico para dislipidemias, y niños cuyos padres no acudieran voluntariamente al estudio.

A padres e hijos seleccionados se les informó sobre el estudio, y se les invitó a participar en forma voluntaria en el mismo, se les explicaron los procedimientos a realizar, lo mismo que los beneficios y riesgos en concordancia con el acuerdo de Helsinki. Una vez obtenido el consentimiento informado de los padres, se les invitó a presentarse con los niños en el laboratorio de bioquímica de la Universidad del Quindío para el diligenciamiento de la encuesta y la toma de la muestra.

Análisis Bioquímico:

Tras el consentimiento informado por escrito de los niños se tomó una muestra de sangre por venopunción, en tubo seco para las pruebas de perfil lipídico y enzima convertidora angiotensina, después de doce horas de ayuno.

El colesterol fue medido mediante un método enzimático utilizando un estuche comercial.

La actividad de la ECA se determinó en suero, usando el método de Ronca-Testoni¹¹, que se basa en la hidrólisis enzimática del Furiacriloil-L-fenil-glicil-glicina (FAPGG), por la ECA del suero, hasta Furiacriloil-L-fenil (FAP) y glicil-glicina (Gli-

Gli). Brevemente: 50-microlitros de buffer (0.8 mM/L FAPGG, 400 mM/L buffer HEPES, pH8.25). Como blancos se utilizó el mismo suero pero con EDTA 3.5 Mm, como inhibidor de la actividad de la enzima. La absorbancia se midió en un espectrofotómetro Milton Roy a 345nm, después de mantener los tubos de ensayo por 3 minutos a temperatura ambiente. Las muestras se procesaron por triplicado. La actividad de la enzima se calculó mediante la siguiente formula: $(\Delta A \times V_t \times 100/\text{min}) / (0.5 \times V_s)$, donde delta A es la diferencia de absorbancia entre el buffer con la muestra y el buffer con los blancos. V_t el volumen final del ensayo (1ml), 1000 convierte Unidades /ml a Unidades /litro, 0.5 es la absorbancia de la hidrólisis de 1mM de FAPGG bajo las condiciones del ensayo, y V_s volumen de la muestra.

Una unidad (1U) de ECA es la cantidad de enzima que convierte 1micromol de FAPGG en FA-Phe y Gly-Gly por minuto a 37°C

RESULTADOS

Descripción general de la población

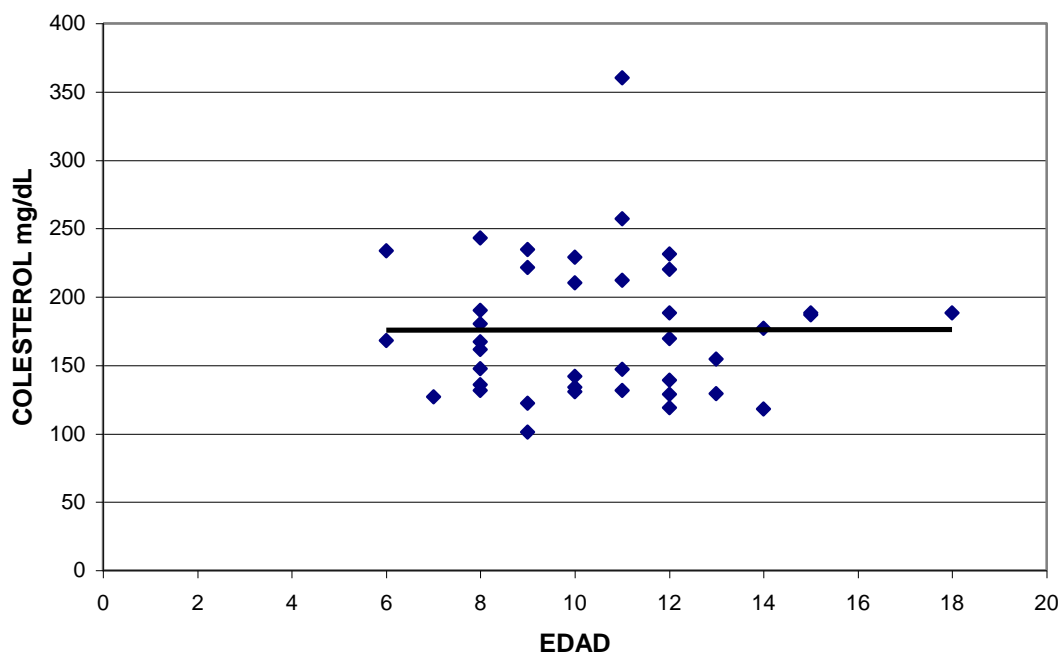
La población estudiada estuvo constituida por 39 niños de 6 a 18 años de edad, 19 hipercolesterolémicos y 20 normocolésterolemicos; para determinar la relación entre las variables: enzima convertidora de angiotensina con el colesterol total, Índice de Masa Corporal (IMC) y la edad.

TABLA 1. Descripción General de la población de estudio.

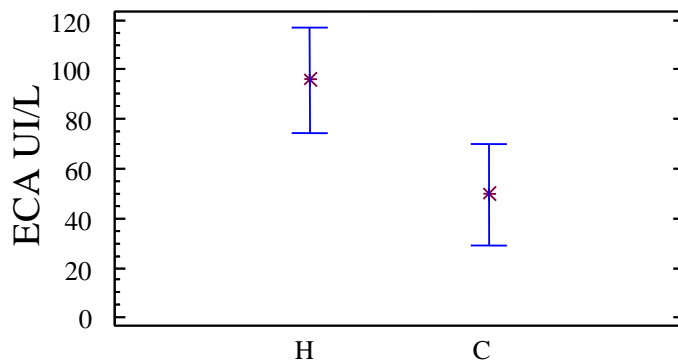
Variable	Niños Hipercolesterolémicos n=19	Niños Control n=20	P
Edad	10.9 ± 0.7	10.2 ± 0.5	0.16
Sexo M/F	7/12	13/7	
IMC	18.8 ± 0.6	18.4 ± 0.6	0.03
Colesterol Total	213.3 ± 11.3	140.2 ± 3.7	< 0.0001
ECA	96.5 ± 19.1	49.1 ± 8.3	0.015

La tabla 1 muestra que el aumento de los niveles de actividad de la ECA en los niños, es independiente de las variables IMC y la edad, ya que el valor es mayor que 0.05, indicando que la muestra no es significativa, sin embargo este estudio muestra que los niños hipercolesterolémicos están acompañados por un aumento de la actividad de enzimática de la ECA. Su valor P es de 0.0319, el cual muestra que las concentraciones de colesterol total elevado es un

factor que tiene efecto significativo en los aumentos de la actividad enzimática de la ECA.

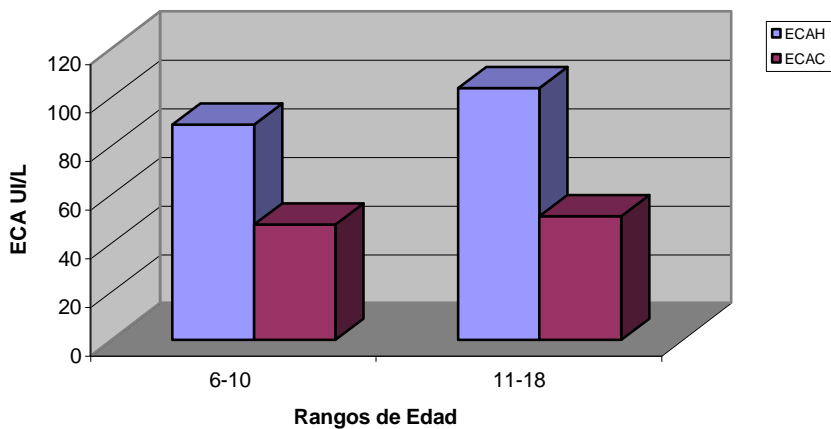


Grafica 1. Relación del colesterol con la edad en la población de estudio. Nos indica que la edad de 8 años es la que mayor población tiene cercana al valor de referencia 165mg/dl. En contraposición la de 11 años, es la que más valores dispersos representa con un valor extremo mayor que 350mg/dl. La edad de 12 años vuelve a un reagrupamiento cercano al valor de referencia.

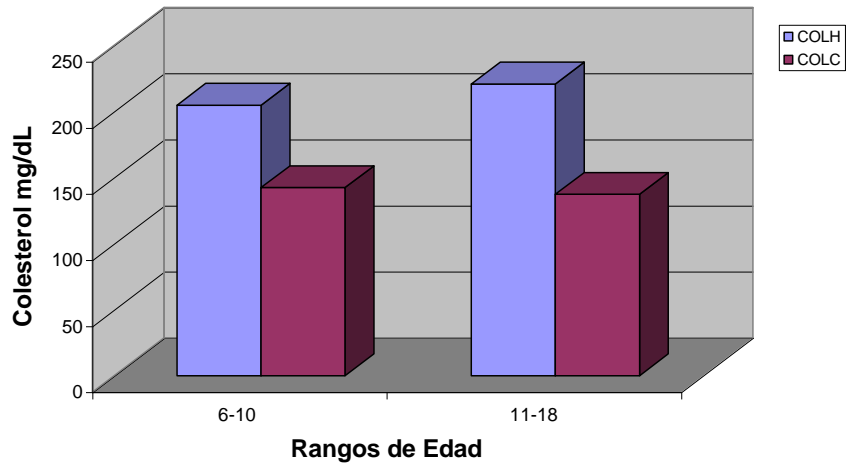


GRUPOS

Grafica 2. Relación entre la actividad de la ECA y los niveles de colesterol en los grupos de estudio. Esta grafica, muestra que existe un incremento de la actividad enzimática en el grupo de los niños hipercolesterolémicos en comparación con los niños control indica que la actividad enzima no es elevada.



Grafica 3: Relación entre niveles de ECA y rangos de edad. Muestra que el primer grupo de niños hipercolesterolémicos de 6 a 10 años de edad se presenta un alto nivel de ECA. Y en el siguiente grupo de estudio de niños de 11 – 18 hay una población de hipercolesterolémicos acompañado de un aumento de actividad enzimática.



Grafica 4: Relación entre niveles de Colesterol y rangos de edad. Muestra que el grupo de niños hipercolesterolémicos de 11 – 18 de edad presentan mayor incidencia de alto colesterol. Aunque el grupo de 6 a 10 años ya viene mostrando esta tendencia

DISCUSIÓN

La ECA es una dipeptidil carboxilasa que hidroliza la angiotensina I hasta angiotensina II un potente vaso constrictor. La ECA participa en fisiopatología de la placa aterosclerótica y ha sido relacionada con numerosas enfermedades cardiovasculares (28) y enfermedades metabólicas como la hipoglicemia (29). Por otro lado, así, como la historia familiar de hipertensión predice el riesgo cardiovascular en la próxima generación, la presencia de factores de riesgo cardiovascular en la niñez y la juventud predicen la presencia de enfermedades cardiovasculares en la madurez, por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue establecer en niños y adolescentes entre 4-18 años si existía relación entre los niveles séricos de ECA y niveles de colesterol total plasmático, dos factores de riesgo independientes por sí solos. Los datos mostraron una relación significativa ($p < 0.015$), que fue independiente de la edad y el sexo, dado que el grupo de casos tenía en cuanto a estas dos variables un comportamiento similar a los controles. Desconocemos cuáles son los mecanismos por los cuales al aumentar los niveles de colesterol aumenta los niveles de la enzima o viceversa. Posiblemente el daño endotelial causado al formarse la placa de ateroma genera el estímulo necesario para la producción de más actividad enzimática, o por el contrario niveles altos de la enzima produce más angiotensina II que estimula la vasoconstricción y la proliferación de fibrosis generando junto con otros factores y con un condicionamiento genético, las condiciones necesarias para la formación

de la placa ateromatosa. Sin embargo, nuestro estudio solo llega hasta mostrar la relación entre la ECA y el colesterol y por lo tanto son necesarios mas estudios que permitan clarificar la relación encontrada, por ejemplo, estudios que asocien y relacionen variaciones genéticas en el gen de la ECA, como el polimorfismo inserción /delecion (I/D), con niveles de la enzima y colesterol. En una gran variedad de estudios este polimorfismo ha sido asociado positivamente con enfermedad cardiovascular.

9. CONCLUSIÓN

Los niveles de colesterol total elevados ó moderadamente elevados están acompañados por un aumento de los niveles de actividad enzimática de la ECA, indicando que hay relación en el sistema Renina – Angiotensina el cual es uno de los sistemas vasoconstrictores más potentes del organismo. Por lo tanto, la ECA quizás contribuya como indicador de este evento de alteración de la biosíntesis del colesterol y de utilidad clínica para efectuar el diagnóstico de daño celular endotelial causados por esta anomalía.

BIBLIOGRAFIA

1. FUSTER V. Epidemic of cardiovascular disease and stroke: The main challenges. *Circulation* 1999, 99:1132-1137
2. TAVAZZI L. Clinical epidemiology of acute myocardial infarction. *Am Heart* 1999, 138:548-554.
3. JARAMILLO S. Epidemiología de la enfermedad cardiovascular. *Epidemiología de la enfermedad cardiovascular capítulo primero* 1996; 3-17.
4. JIMENEZ I.E. LONDOÑO N. Perfil Epidemiológico, Quindío año 2000. Instituto Seccional de Salud del Quindío.
5. TIRET L, KEE F., POIRIER O., NICAUD NB., LECER L., EVANS AE, *et al.* Evidence, from Deletion polymorphism in angiotensin- converting enzyme gene associate with parental history of myocardial infarction *Lancet* 1993, 341:991-992.
6. LI X, DU Y, DU Y, HUANG X. Correlation of Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism wit effect of antihypertensive therapy by Angiotensin-converting enzyme inhibitor. *J. Cardiovasc Pharmacol ther*, 2003; 8(1):25-30.

7. TIGERSTEDT R., BERGMAN G., NIERRE K. Skand and physiol 1898: Cap. 8: Pág. 223-271.
8. SKEGGS LT, MARSHALL WH, KAHM JR. "The Purification of Hipertensin – 1, Exp Med 1954.
9. GOLDBLATH H., LYNCH HANZAL RF, *et al*, studies of experimental hypertension – 1. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal schemia J Exper Med 1934: Cap. 59: Pág. 347
10. MENENDEZ B, FACIOLO E. LELOIR JC, *et al*, "The substance causing renal hypertention J Fisiol (London). 1940: Cap. 98: Pág. 283-298
11. RONCA TESTONI 3. Direct spectrophotometric assays for Angiotensin – converting enzyme in serum clin chem.. 1983: Cap. 29: Pág. 1093-1096
12. DZIDA G, SOBSTYL J, PUZNIAK A, GOLON P, MOSIEWICZ J, HANZLIK J Polymorphisms of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor type 1 genes in essential hypertension in a Polish population. Med Sci Monit, 2001; 7 (6): 1236-41.
13. OHMACHI N., IWAI, UCHIDA Y., G., NAKAMURA Y., KINOSHITA M. Relationship between the responses to the angiotensin converting enzyme genotype. Am J. Hypertens 1997, 10:951-955.

14. ALHENC-GELAS F, RICHARD J, COURBON D, WARNET JM, CORVOL P. Distribution of plasma angiotensin I-converting enzyme levels in healthy men: relationships to environmental and hormonal parameters. 1991; J Lab Clin Med 117:33-39.
15. RIGOLI L, CHIMEENZ R, DIBELLA C, CAVALLARO et al, Angiotensin-Converting Enzyme and angiotensin type 2 receptor gene genotype Distribution in Italian children with congenital uropathies. *Pediatr Res* 2004 56:988-993
16. SAFAR ME, LAJEMI M, RUDNIDRI A, ASMAR R, BENELOS A. Angiotensin-Converting enzyme D/I Gene polymorphism and Age-Related changes in pulse Pressure in subjects with Hypertension and arteriosclerosis. *Tromb. Diab. Biol* April 2004;24 782-786.
17. FRIEL W., KREMLER F., PAULWEBER B., PICHLER M., SANDHOFER F., A deletion polymorphism in the angiotensin enzyme gene associated with coronary heart disease in an Australian population. *Atherosclerosis*. 1995, 112:1137-143.
18. PETER A. *Bioquímica de Harper* 2001. Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V. 15ª Edición. Cap. 46 pag.663 - 664

19. PESCE Amadeo. LAWRENCE Kaplan. Química Clínica. Métodos. Editorial Médica Panamericana S.A. 1990 Cap.128. Pág. 991-945-952.
20. REX MONTGOMERY. Ph D. D. Sc Bioquímica Médica.Volumen II. Editorial Interamericana McGraw -Hill1980. Cap.8.Pag 411-555- 556
21. BELHRNIAN. RICHARD. Tratado de Pediatría Volumen I, 14 Edición Interamericana. 1989 – 1992. Cap.38. Pag.185-186.I
22. WYNGAARDEN. J. Tratado de Medicina Interna. Volumen II. 18 a Edición. Interamericana ..1991Cap.230.3 .Pag1495-1494
23. BENÉTEAU-BURNAT Benédicte y BRAUDIN bruno. Revista Critica del laboratorio Clínico de Ciencias 1991.
24. National Cholesterol Program. Report of expert's panel on blood cholesterol levels in children's and teenagers. Pediatrics 1992. part 2 BRIGHT T. Tubular view of the morbid appearances in 100 cases connected with Albuminous urine. 1836: Cap.1: Pág 380.
25. Conferencia consenso Lipidos en pediatria . An Esp .Ped 1988; Sup 118: 1-8 .

- 26 Catto, A., Carter, AM ; Barrett JH, Stickland M, Bamford J, Davies J.A., Grant PJ. Angiotensin-Converting Enzyme Insertion/Deletion Polymorphism and Cerebrovascular Disease. *Stroke*. 1996;27:435-440.
27. Nordfeldt, S and Samuelsson, Ulf. Serum **ACE** Predicts Severe Hypoglycemia in Children and Adolescents With Type 1 Diabetes. *Clinical Care*.
28. Agerholm-Larsen B., Nordestgaard B., Tybjaeg-Hansen A. ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: Meta-analysis of small and large studies in whites. *Arteriosclerosis*. 2000; 20: 484-492.
29. Rigat B., Hubert C., Alhenc-Gelas F. et al An insertion/deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990; 86,(4): 1343- 6
30. Bedir A., Arik N., Bahattig A., Kiling K., Gumus T., Guner E. Angiotensin Converting Gene polymorphism and activity in Turkish patients with hypertension. *Am J Hypertens* 1999; 12:1038-1043.

ANEXOS

ANEXO I

Sistema renina-angiotensina

