

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



EVALUACIÓN DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASOCIADOS A HIPERTENSIÓN  
ARTERIAL

**Por**

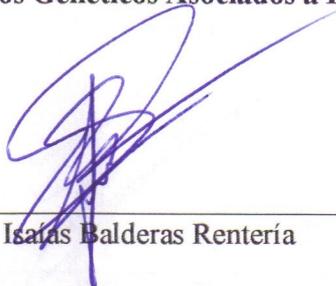
**Q.F.B. RAÚL FAVELA GÁMEZ**

Como requisito parcial para obtener el Grado de  
MAESTRÍA EN CIENCIAS con orientación en  
FARMACIA

Diciembre, 2010.

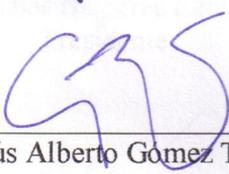
Revisión de la Tesis

“Evaluación de Polimorfismos Genéticos Asociados a Hipertensión Arterial”



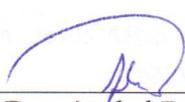
---

Dr. Isaias Balderas Rentería



---

Dr. Jesús Alberto Gomez Treviño



---

Dra. Anabel Bocanegra Alonso



---

Dra. Susana López Cortina



---

Dr. Eugenio Hernández Fernández

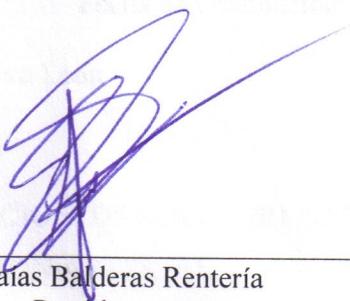


---

Dr. Omar González Santiago

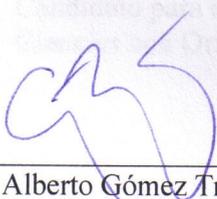
Aprobación de la Tesis

**“Evaluación de Polimorfismos Genéticos Asociados a Hipertensión Arterial”**



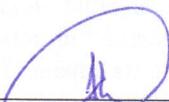
---

Dr. Isaias Balderas Rentería  
Presidente



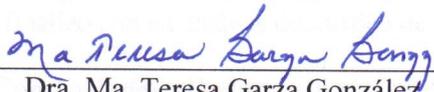
---

Dr. Jesús Alberto Gómez Treviño  
Secretario



---

Dra. Anabel Bocanegra Alonso  
Vocal



---

Dra. Ma. Teresa Garza González  
Subdirectora de Estudios de Posgrado

Diciembre de 2010

## RESUMEN

Raúl Favela Gámez

Fecha de Graduación: noviembre de 2010

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

**Título del Estudio:** EVALUACIÓN DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS  
ASOCIADOS A HIPERTENSION ARTERIAL

Número de páginas: 106

Candidato para el grado de Maestría en  
Ciencias con Orientación en Farmacia

Área de Estudio: Farmacia

**Propósito y Método del Estudio:** La Hipertensión Arterial (HTA) es la más común de las condiciones que afectan la salud de los individuos en todas partes del mundo. Representa por sí misma una patología, y a su vez un factor de riesgo importante en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, el control y sobre todo la prevención de la HTA, reducirá la morbilidad y la mortalidad para esta patología. La HTA humana es considerada una enfermedad compleja poligénica en la cual uno o más genes están involucrados en el control de los niveles de la presión arterial. En este sentido, el desarrollo de la misma en una persona estará condicionado a la presencia de variaciones genéticas individuales, las cuales conferirán la predisposición a la patología, En esta investigación se analizaron 3 polimorfismos I/D, M235T y A1166C todos involucrados en el SRAA. Dichas variaciones, conocidas como polimorfismos genéticos han sido previamente observadas en la susceptibilidad de los humanos a esta y otras enfermedades de impacto en salud pública. Se realizó un estudio de casos y controles con un total de 244 personas (127 casos y 117 controles) se encuestó a cada uno de los participantes y se les tomó muestra de sangre, posteriormente se extrajo el ADN de cada muestra y se analizó por PCR y RFLP para determinar el genotipo de cada persona y se finalizó con un análisis estadístico de los resultados.

**Contribuciones y Conclusiones:** Determinar el genotipo de cada persona será de suma importancia en las diversas etnias poblacionales, permitirá hacer de la práctica médica una disciplina más individualizada, más preventiva y predictiva, con el fin de sentar las bases de la naciente medicina genómica, en la que la cultura de la prevención (a través de la determinación de los patrones individuales de predisposición a enfermedades) predominará por encima de la terapéutica. En este trabajo no se encontró relación significativa entre los alelos de predisposición de cada uno de los polimorfismos (D, T y C) con el grupo de casos (HTA) estableciendo que por sí mismos no son un factor de predisposición directa si no que forman parte de un grupo de factores de desarrollo de la enfermedad (interacción genes-medioambiente).

FIRMA DEL ASESOR: \_\_\_\_\_

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León por darme la oportunidad de terminar una carrera profesional y ahora obtener el grado de maestro en ciencias.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico para la realización de mis estudios.

Al Dr. Isaías Balderas Rentería mi asesor de tesis por su apoyo, dedicación y además darme la oportunidad de trabajar y aprender a su lado.

A la QFB María del Socorro Nevares del Laboratorio de Análisis Clínicos “QFB Iris Guajardo Guajardo” de la FCQ, UANL y a la Dra. Martha Rodríguez de la Clínica de Hipertensión y Diabetes de Servicios Médicos de la UANL, por la facilidad prestada en el reclutamiento de pacientes para el presente proyecto.

Al Dr. Omar González y la Dra. Anabel Bocanegra por la ayuda brindada en el análisis estadístico de esta investigación.

A mi Comité de Tesis: Dr. Alberto Gómez, Dra. Susana López y Dr. Eugenio Hernández por sus valiosas sugerencias e interés, en la revisión del presente trabajo.

A mis compañeros del INGGEN: QFB Sonia Lozano y QFB Eder Arredondo por el apoyo en las técnicas utilizadas así como a los estudiantes de la carrera de QFB Jorge Yañez, Oscar Cruz y Erick Pereira por toda su ayuda en la realización de este proyecto.

## DEDICATORIA

### **A mi familia:**

A mis padres Raúl Favela García e Inocencia Gámez Vázquez por darme la vida, amor, cariño, comprensión y por el apoyo en todas las nuevas aventuras que emprendo. A mis hermanos Pamela, Valeria y Osvaldo por ayudarme a aterrizar mis ideas, hacerlas realidad y compartir los frutos de cada una de ellas. A toda mi familia por el apoyo moral que siempre me ha brindado ¡gracias por existir!

### **A mis amigos:**

A Laura, Luis, Sonia, Daniela y Perla por compartir los buenos y malos momentos conmigo espero seguir compartiendo muchísimos más con ustedes y seguir divirtiéndonos igual aunque ya seamos viejitos (no se preocupen Laura siempre nos ganara).

A Carmen, Mitzi, Nat's, Yitzhak, Chuly, Clau, Nalle, y el Muchacho, por cruzarnos en el camino y generar una excelente amistad ¡a seguir disfrutando!

Al INGEN Team: Ivette, Ángel, Sonii, Olif, Eder, Perlita, Alexin, Jorge y Oscar "Hulk" por el apoyo, las risas y todos los momentos que vivimos en el Laboratorio ¡gracias por su amistad!

A la Profe Paty Esquivel por siempre estar cerca de mí y brindarme su amistad.

A Daniel por ser una excelente persona, un excelente consejero y por su amistad.

A Ivette por que no pude tener mejor compañera de camino que ella por ser compañeros del mismo dolor y por disfrutar tantos momentos, buenos y malos pero al fin momentos ¡te quiero mucho!

A Magy y Ari por ayudarme y darme su apoyo y amor cuando más lo necesitaba, ¡las quiero mucho!

A todas las personas que contribuyeron de una forma u otra en la realización de este trabajo.

Y a la vida por darme la oportunidad de sentir, gozar y sufrir cada uno de estos momentos.

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	-01-
1.1 Enfermedades Crónicas Esenciales.....	-02-
1.1.1 Fisiopatología de la Hipertensión Arterial.....	-04-
1.1.2 Sistema Renina Angiotensina Aldosterona.....	-05-
1.1.3 Diagnóstico y Terapia para la Hipertensión Arterial.....	-09-
1.1.3.1 Diagnóstico.....	-09-
1.1.3.2 Síntomas.....	-12-
1.1.3.3 Tratamiento.....	-13-
1.1.3.3.1 Tratamiento no Farmacológico.....	-13-
1.1.3.3.2 Tratamiento no Farmacológico.....	-14-
1.1.4 Mecanismos Moleculares de la Hipertensión Arterial.....	-16-
 <b>CAPÍTULO 2</b> .....	 -19-
2.1 Medicina Genómica.....	-20-
2.1 Objetivo y Alcances de la Medicina Genómica.....	-22-
2.1.2 Polimorfismos Genéticos.....	-23-
2.1.3 Asociación entre los Polimorfismos y las Enfermedades.....	-27-
 <b>CAPÍTULO 3</b> .....	 -30-
3.1 Antecedentes.....	-31-
3.1.1 Genética de la Hipertensión Arterial.....	-31-
3.1.2 Enzima Convertidora de Angiotensina.....	-32-
3.1.3 Angiotensinógeno.....	-35-
3.1.4 Receptor I de Angiotensina II.....	-41-
3.2 Justificación.....	-44-
 <b>CAPÍTULO 4</b> .....	 -47-
4.1 Hipótesis.....	-48-
4.2 Objetivo General.....	-48-
4.2.1 Objetivos Específicos.....	-48-
 <b>CAPÍTULO 5</b> .....	 -50-
5.1 Materiales y métodos.....	-51-
5.1.1 Listado de material y equipo y su ubicación.....	-51-
5.1.2 Determinación del numero de muestra.....	-51-
5.1.3 Criterios de inclusión y exclusión de pacientes.....	-52-
5.1.4 Extracción de ADN.....	-53-
5.1.5 PCR para el polimorfismo I/D.....	-54-
5.1.6 PCR para el polimorfismo M235T.....	-55-
5.1.7 Detección del polimorfismo M235T.....	-55-

5.1.8	PCR para el polimorfismo A1166C .....	-56-
5.1.9	Detección del polimorfismo A1166C.....	-56-
5.1.10	Tratamiento de los residuos generados .....	-57-
<b>CAPÍTULO 6</b> .....		-58-
6.1	Resultados.....	-59-
6.1.1	Genotipificación de los individuos de estudio.....	-59-
6.1.2	Datos Epidemiológicos.....	-62-
6.1.3	Datos de la Patología.....	-63-
6.1.4	Polimorfismo I/D del gen de la ECA.....	-69-
6.1.4.1	Frecuencia del alelo D y comparación en pacientes con DMTII.....	-71-
6.1.5	Polimorfismo M235T del gen del Angiotensinógeno.....	-74-
6.1.5.1	Frecuencia del alelo T y comparación en pacientes con DMTII.....	-77-
6.1.6	Polimorfismo A1166C del gen del R1ATII.....	-80-
6.1.6.1	Frecuencia del alelo C y comparación en pacientes con DMTII.....	-82-
<b>CAPÍTULO 7</b> .....		-86-
7.1	Discusión.....	-87-
<b>CAPÍTULO 8</b> .....		-93-
8.1	Conclusiones.....	-94-
<b>CAPÍTULO 9</b> .....		-97-
7.1	Perspectivas.....	-98-
	Referencias.....	-99-

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla</b>		<b>Página</b>
Tabla 1.	Clasificación de la hipertensión arterial.....	-59-
Tabla 2.	Datos epidemiológicos de la población.....	-59-
Tabla 3.	Datos epidemiológicos sobre la variable del sobrepeso de la población total dividida en los 2 grupos de estudio y por sexo.....	-62-
Tabla 4.	Presencia del polimorfismo I/D en la población de estudio.....	-63-
Tabla 5.	Relación entre la variable del sexo y el genotipo I/D.....	-69-
Tabla 6.	Presencia del polimorfismo M235T en la población de estudio.....	-71-
Tabla 7.	Relación entre la variable del sexo y el genotipo M235T.....	-74-
Tabla 8.	Presencia del polimorfismo A1166C en la población de estudio.....	-77-
Tabla 9.	Relación entre la variable del sexo y el genotipo A1166C.....	-80-

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
Figura 1.	Regulación fisiológica de la PA en el humano por medio del SRAA.....	-06-
Figura 2.	Estructura del polimorfismo del gen de la ECA (I/D).....	-33-
Figura 3.	Estructura del polimorfismo del gen del Angiotensinógeno (M235T).....	-37-
Figura 4.	Estructura del polimorfismo del gen de los R1ATII (A1166C)....	-42-
Figura 5.	Extracción de ADN genómico.....	-59-
Figura 6.	PCR para el polimorfismo I/D del gen de la ECA.....	-59-
Figura 7.	PCR para el polimorfismo M235T del gen de la AGT.....	-60-
Figura 8.	Detección del polimorfismo M235T del gen de la AGT.....	-60-
Figura 9.	PCR para el polimorfismo A1166C del gen de los R1ATII.....	-61-
Figura 10.	Detección del polimorfismo A1166C del gen de la R1ATII.....	-61-
Figura 11.	Sujetos con hipertensión tratados con fármacos antihipertensivos.	-64-
Figura 12.	Asociación de pacientes hipertensos con DMTII.....	-64-
Figura 13.	Asociación de pacientes hipertensos con hipercolesterolemia.....	-65-
Figura 14.	Sujetos hipertensos y el sobrepeso.....	-65-
Figura 15.	Sujetos con hipertensión según su actividad física.....	-66-
Figura 16.	Frecuencia alélica de sujetos con actividad física e hipertensión...	-66-
Figura 17.	Frecuencia alélica de sujetos sedentarios con hipertensión.....	-67-
Figura 18.	Sujetos con hipertensión y su asociación con el tabaco.....	-67-
Figura 19.	Sujetos con hipertensión y su asociación con el alcohol.....	-68-
Figura 20.	Frecuencia alélica de los pacientes hipertensos fumadores.....	-68-
Figura 21.	Frecuencia alélica de los pacientes hipertensos bebedores.....	-69-
Figura 22.	Genotipificación de la población normotensa para I/D.....	-70-
Figura 23.	Genotipificación de la población hipertensa para I/D.....	-70-
Figura 24.	Variabilidad de los genotipos I/D y D/D en pacientes con HTA y el sexo.....	-71-
Figura 25.	Frecuencia alélica de I/D para los sujetos normotensos.....	-72-
Figura 26.	Frecuencia alélica de I/D para los sujetos hipertensos.....	-72-
Figura 27.	Comparación genotípica (I/D y DD) de hipertensos vs. DMTI....	-73-
Figura 28.	Comparación genotípica (I/D y DD) de hipertensos vs. normotensos.....	-74-
Figura 29.	Comparación genotípica (I/D y DD) de DMTII vs. no DMTI.....	-74-
Figura 30.	Genotipificación de la población normotensa para M235T.....	-75-
Figura 31.	Genotipificación de la población hipertensa para M235T	-76-
Figura 32.	Variabilidad de los genotipos TM y TT en pacientes con HTA y el sexo.....	-77-
Figura 33.	Frecuencia alélica de M235T para los sujetos normotensos.....	-78-
Figura 34.	Frecuencia alélica de M235T para los sujetos hipertensos.....	-78-
Figura 35.	Comparación genotípica (TM y TT) de hipertensos vs. DMTII..	-79-
Figura 36.	Comparación genotípica (TM y TT) de hipertensos vs.	

	normotensos.....	-79-
Figura 37.	Comparación genotípica (TM y TT) de DMTII vs. no DMTII....	-80-
Figura 38.	Genotipificación de la población normotensa para A1166C.....	-81-
Figura 39.	Genotipificación de la población hipertensa para A1166C.....	-81-
Figura 40.	Variabilidad de los genotipos AC y CC en pacientes con HTA y el sexo.....	-82-
Figura 41.	Frecuencia alélica de A1166C para los sujetos normotensos.....	-83-
Figura 42.	Frecuencia alélica de A1166C para los sujetos hipertensos.....	-83-
Figura 43.	Comparación genotípica (AC y CC) de hipertensos vs. DMTII..	-84-
Figura 44.	Comparación genotípica (AC y CC) de hipertensos vs. normotensos.....	-84-
Figura 45.	Comparación genotípica (AC y CC) de DMTII vs. no DMTII...	-85-

## LISTA DE SIMBOLOS

$X^2$	Chi cuadrada
X	Fracción molar
°C	Grados celsius
h	Horas
IC	Intervalo de confianza
Kb	Kilobases
kDa	Kilodaltons
$\text{Kg/m}^2$	Kilogramos por metro cuadrado
$\mu\text{L}$	Microlitro
mg/ml	Miligramos por mililitro
ml	Mililitros
mm Hg	Milímetros de mercurio
mM	Milimolar
min	Minutos
OR	Odds ratio
pb	Pares de bases
pg/ml	Picogramo por mililitro
pmoles	Picomoles
P	Prueba de Fisher
rpm	Revoluciones por minuto
U	Unidad Internacional
p	Valor p

## NOMENCLATURA

ADN	Ácido Desoxiribonucleico
AGT	Angiotensinógeno
ARA II	Antagonistas de los receptores de angiotensina II
ApoE	Apolipoproteína E
BB	Beta bloqueadores
CA	Calcio agonista
dNTP	Deoxinucleotidotrifosfato
DMTII	Diabetes Mellitus tipo II
ECEA	Enfermedades Crónicas Esenciales del Adulto
ECA	Enzima Convertidora de Angiotensina
DdeI	Enzima de restricción recombinante de <i>Desulfovibrio desulfuricans</i> 1
Tth111I	Enzima de restricción recombinante de <i>Thermus thermophilus</i> 111
ECV	Eventos Cardiovasculares
HTA	Hipertensión arterial sistémica
IMC	Índice de Masa Corporal
IECA's	Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina
UNESCO	Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura
ON	Óxido Nítrico
RFLP	Polimorfismo de la Longitud del Fragmento de Restricción
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
PA	Presión Arterial
PAD	Presión Arterial Diastólica
PAS	Presión Arterial Sistólica

# **CAPÍTULO 1**

## **INTRODUCCION**

## 1.1 Enfermedades Crónico Degenerativas

El crecimiento desmesurado en la prevalencia de las Enfermedades Crónicas Esenciales del Adulto (ECEA), tales como hipertensión arterial sistémica (HTA), diabetes mellitus tipo 2 (DMTII), dislipidemias, y aterosclerosis entre otras, han permitido que estas enfermedades hayan empatado e incluso superado la prevalencia de las enfermedades infecciosas transmisibles. A esta transformación que está ocurriendo en muchos países desarrollados y en vías de desarrollo, se ha aplicado el término de “Transición Epidemiológica”.<sup>1</sup> Pero tal vez el mayor valor de este concepto (como problema de salud pública mundial), es que ahora se reconoce a las ECEA como la primera causa mundial de morbilidad y mortalidad en el adulto. El impacto económico-social de las ECEA es devastador para cualquier sistema de salud en el mundo, ya que se trata de entidades no curables, con secuelas que en su mayoría serán incapacitantes.<sup>1 y 2</sup>

Un sistema fisiológico esencial en el desarrollo de algunas de estas enfermedades, es el sistema circulatorio. El sistema circulatorio humano es una intrincada red de mecanismos destinados a mantener la homeostasis de presión y flujo pese a numerosas perturbaciones. Por tanto, una elevación constante de la presión arterial (PA) refleja un trastorno en las delicadas interrelaciones de los factores que mantienen este equilibrio. La hipertensión arterial esencial, o hipertensión (HTA) de causa no determinada, es responsable de más del 90% de los casos de hipertensión vistos en la práctica médica. El hallazgo tiende a aparecer con carácter familiar más que individual y es representativo de una colección de enfermedades o síndromes, basados genéticamente en

anormalidades dependientes de una interacción ambiente-genotipo, y en consecuencia con diferentes severidades y tiempos de aparición.<sup>3</sup>

La morbilidad y la mortalidad cardiovascular es hoy en día la principal preocupación no sólo de los médicos y de los responsables de la salud pública, sino también de la gente común y corriente. Posiblemente ello se deba al impacto de diferentes acciones de información masiva, que reflejan el propósito que anima a la ciencia médica de convertir en herramientas útiles para la conservación de la salud el impresionante cúmulo de nuevos conocimientos que se han logrado alrededor de este tema. Sin duda en los últimos veinte años se ha esclarecido mucho acerca de la enfermedad vascular, y se han identificado con bastante claridad factores que de manera independiente o concurrente aumentan en forma directa la probabilidad de padecer esta enfermedad y de sufrir cualquiera de sus desenlaces clínicos; ellos son los bien llamados factores de riesgo, de los cuales el más importante es la hipertensión arterial. También acerca de la hipertensión, sabemos hoy mucho más de sus aspectos epidemiológicos y fisiopatológicos. Han aparecido nuevas alternativas terapéuticas y disponemos de una gran cantidad de fármacos que con notable eficacia ofrecen un mejor control de ella y una mayor reducción de la morbilidad y mortalidad.<sup>3</sup>

La hipertensión arterial es la ECEA de mayor prevalencia mundial. En México, en el año 2000, la prevalencia informada de HTA entre los 20 y 69 años fue del 30.05%, es decir, más de 15 millones de mexicanos, en dicho grupo de edad. Los estados del Norte de la república, alcanzaron cifras de prevalencia aún mayores. Lamentablemente el 61% de los hipertensos detectados en la encuesta nacional 2000, desconocieron ser portadores

del mal, situación que es de extrema importancia ya que, en general, en México el paciente acude al médico cuando ya han transcurrido varios años desde el inicio de su HTA y, probablemente, ya habrá en su mayoría algún grado de daño a órganos blanco. Además, de los que fueron detectados como conocedores de su enfermedad, sólo la mitad estaba bajo tratamiento farmacológico antihipertensivo, y de éstos, sólo el 14.6% mostró cifras consideradas de control ( $< 140/90$  mm Hg). Lo anterior sin contar que el criterio reciente para control en el paciente diabético o con daño renal, debe ser más estricto ( $< 130/80$  mm Hg). De manera que, de forma rigurosa, se estima que solamente ~10% de la población hipertensa en México está realmente en control óptimo.<sup>1</sup>

### **1.1.1 Fisiopatología de la Hipertensión Arterial**

Son muchos los factores fisiopatológicos que han sido considerados en la génesis de la hipertensión esencial: el incremento en la actividad del sistema nervioso simpático (SNS), tal vez relacionado con excesiva exposición o respuesta al estrés psicosocial, es decir del impacto de la vida moderna; la sobreproducción de hormonas ahorradoras de sodio y vasoconstrictoras; la alta ingesta de sodio; la inadecuada ingesta de potasio y calcio; el incremento en la secreción o la inapropiada actividad de la renina, con resultante incremento en la producción de angiotensina II y aldosterona por el sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA), la deficiencia de vasodilatadores, tales como la prostaciclina, el óxido nítrico (ON) y los péptidos natriuréticos; la alteración en la expresión del sistema caliceína-quinina, que afecta el tono vascular y el manejo renal del sodio; las anormalidades en los vasos de resistencia, incluyendo lesiones en la microvasculatura renal; la Diabetes Mellitus (DMTII), la resistencia a la insulina; la

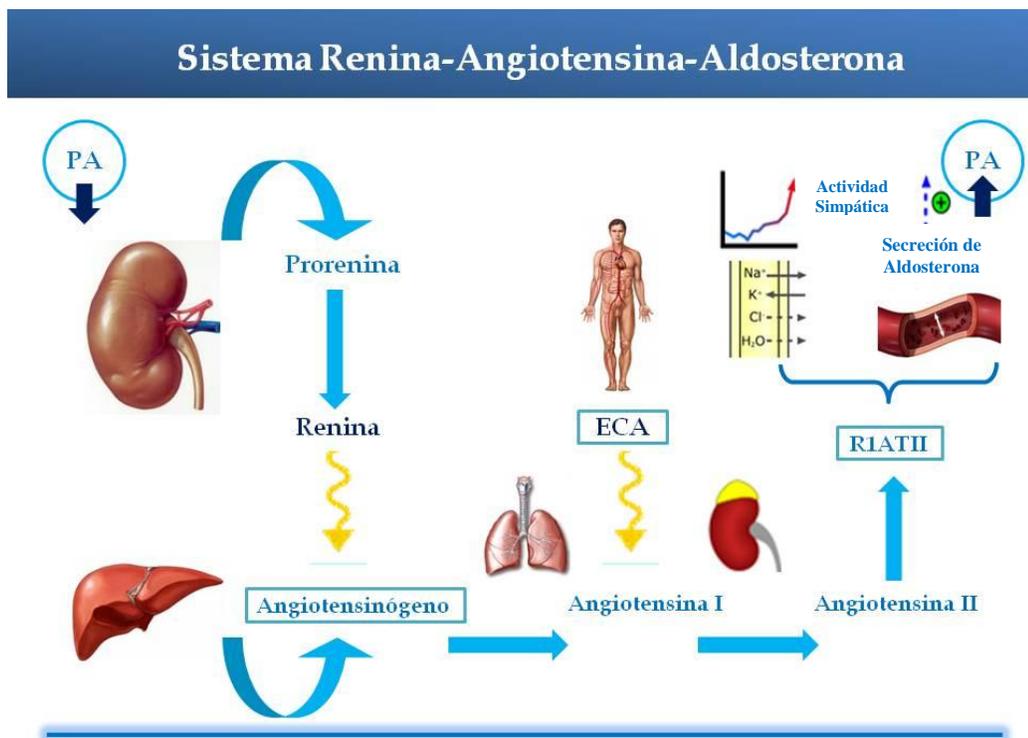
obesidad; el incremento en la actividad de factores de crecimiento; las alteraciones en los receptores adrenérgicos, que influyen la frecuencia cardiaca, el inotropismo cardiaco y el tono vascular; y las alteraciones celulares en el transporte iónico.

El nuevo concepto de que las anormalidades funcionales y estructurales, incluyendo la disfunción endotelial, el incremento del estrés oxidativo, la remodelación vascular, pueden anteceder a la hipertensión y contribuir a su patogénesis, lo cual ha ganado soporte en los últimos años; parece evidente que la hipertensión arterial sería tal vez “la campana de alarma del síndrome” y el inicio de una verdadera cascada, siguiendo a la inflamación y disfunción endotelial. Aunque son diversos los factores que contribuyen a la patogénesis del mantenimiento de la elevación de la presión arterial, los mecanismos renales probablemente juegan un rol primario, tal como fuera planteado por Guyton, en 1991, al decir que “la presión arterial empieza a elevarse cuando los riñones requieren de mayor presión que la usual, para mantener el volumen de los líquidos extracelulares dentro de los límites normales”.<sup>2</sup>

### **1.1.2 Sistema Renina Angiotensina Aldosterona**

El centro vasomotor bulbar es tal como los termostatos reguladores de la temperatura, es el “presostato” en la regulación de la presión arterial. La presión arterial es permanentemente regulada de acuerdo con lo programado en el “presostato bulbar”, concordante con características genéticas, ambientales y requerimientos de perfusión tisular. Cuando la homeostasis tisular requiere de mayor presión, el “presostato” activa al sistema nervioso simpático y este llama en su auxilio al SRAA, un sistema

interactuante con el SNS. El SRAA inhibe mecanismos vasodilatadores, tales como los sistemas de kininas y péptidos natriuréticos, y activa al sistema vasoconstrictor de la endotelina. Tanto la norepinefrina como la angiotensina II abren canales de calcio a nivel vascular y cardiaco, e incrementan las resistencias periféricas y el gasto cardiaco. Dando lugar al incremento de la presión arterial. La elevación crónica de la presión arterial es causa de daño en el endotelial con distribución difusa, originando la reducción de los factores de relajación e incrementando el accionar de los factores de contracción derivados del endotelio. Estas respuestas son moduladas por la genética individual.<sup>2</sup>



**Figura 1. Regulación fisiológica de la PA en el humano por medio del SRAA.**

La Figura 1 muestra el proceso fisiológico humano de regulación de la presión arterial en la cual se muestra cómo la renina se sintetiza y almacena en una forma

inactiva, denominada prorenina, en las células yuxtaglomerulares (YG) de los riñones. Las células YG son células musculares lisas modificadas localizadas en las paredes de las arteriolas aferentes inmediatamente proximales al glomérulo. Cuando cae la presión arterial, reacciones intrínsecas de los propios riñones hacen que muchas moléculas de prorenina se escindan en el interior de las células YG y liberen renina. La mayor parte de la renina penetra en la sangre renal y luego sale de los riñones para circular por todo el cuerpo, aunque una pequeña parte permanece en los líquidos locales del riñón e inicia varias funciones intrínsecas. La renina en sí misma es una enzima, no una sustancia vasoactiva, por tanto, actúa enzimáticamente sobre otra proteína plasmática, una globulina denominada sustrato de renina (o angiotensinógeno), para liberar un péptido de 10 aminoácidos, la angiotensina I. La angiotensina I tiene propiedades ligeramente vasoconstrictoras pero que no son suficientes para causar alteraciones significativas de la función circulatoria. La renina persiste en la sangre entre 30 minutos y una hora y continúa catalizando la formación de angiotensina I durante todo este período.<sup>7</sup> En pocos segundos tras la formación de angiotensina I, se escinden de la molécula dos aminoácidos más, dando lugar a un péptido de 8 aminoácidos, la angiotensina II. Esta conversión se produce casi en su totalidad en los pocos segundos durante los cuales la sangre fluye por los pequeños vasos pulmonares y es catalizada por la enzima convertidora presente en el endotelio de los vasos pulmonares.

La angiotensina II es un vasoconstrictor extremadamente potente y tiene otros efectos, además de los que afectan a la circulación. Sin embargo, persiste en la sangre sólo 1 ó 2 minutos debido a que se inactiva con rapidez por la acción de múltiples enzimas sanguíneas y tisulares denominadas en conjunto angiotensinasas.

Durante su permanencia en la sangre, la angiotensina II ejerce dos efectos principales que pueden elevar la presión arterial. El primero de ellos, la vasoconstricción, se produce rápidamente. La vasoconstricción es muy intensa en las arteriolas y mucho menor en las venas. La constricción de las arteriolas aumenta la resistencia periférica, elevando así la presión arterial. Además la discreta constricción de las venas incrementa el retorno venoso sanguíneo al corazón, favoreciendo así la acción de bomba de éste contra la presión creciente.<sup>8 y 9</sup>

El segundo medio principal por el que la angiotensina II eleva la presión arterial es actuando sobre los riñones para disminuir la excreción de sal y agua induciendo la acción de la aldosterona. De esta forma, aumenta lentamente el volumen de líquido extracelular, que después eleva la presión arterial a lo largo de un período que puede ir desde unas horas hasta días. Este efecto a largo plazo, que actúa sobre el mecanismo regulador del volumen del líquido extracelular, es incluso más potente que el mecanismo vasoconstrictor agudo para terminar de normalizar la presión arterial incluso tras un período severo de hipotensión

El SRAA participa en la remodelación ventricular del infartado y del hipertenso, así como en la remodelación vascular. La renina es producida en las células yuxtaglomerulares renales a partir de un precursor, la prorenina. La renina actúa sobre su sustrato, el angiotensinógeno, glucoproteína de la familia de las alfa-2-globulinas, sintetizada en el hígado.<sup>9</sup>

Los estímulos principales de secreción de renina son: 1) la disminución de flujo de la arteria aferente del glomérulo renal; 2) la disminución de  $\text{Na}^+$  plasmático (censada por la mácula densa, que es parte del aparato yuxtaglomerular renal); 3) estímulos simpáticos (estimulación beta-1-adrenérgica de las células yuxtaglomerulares); 4) factores locales como las prostaglandinas, la dopamina, la adenosina, y el óxido nítrico.

### **1.1.3 Diagnóstico y Terapia para la Hipertensión Arterial**

#### **1.1.3.1 Diagnóstico**

La HTA es uno de los problemas de salud más importantes en los países industrializados por su alta prevalencia de alrededor del 25% de la población. La presión arterial (PA) es un parámetro biológico con marcada variabilidad, de ahí la dificultad en establecer los límites normales. De cualquier forma, el riesgo cardiovascular aumenta progresivamente desde la cifra más baja. La definición de la HTA es arbitraria y se le considera a partir de la cifra en que el riesgo cardiovascular se dobla y/o disminuye con el tratamiento médico.<sup>5</sup>

En general, la HTA en sus inicios es asintomática, o bien, produce síntomas inespecíficos que difícilmente el paciente los asocia a la enfermedad. Debido a esto en el año 2000 se encontró que el 20% de los pacientes entre 20 y 35 años de edad no conocían ser portadores de HTA, mientras que casi el 50% de los pacientes entre 55 y 69 años de edad sí lo sabían.<sup>1</sup>

La distribución de la PA en la población y su relación con el riesgo cardiovascular parecen ser continuos, los médicos han utilizado en su práctica asistencial una definición operativa de HTA (cifras  $\geq 140/90$  mmHg) como ayuda para decidir a quién tratar. Por ello, la definición de HTA es establecida por acuerdo de expertos en el campo de la salud pública. No obstante, la progresiva consideración médica de categorías de PA no hipertensivas, y del riesgo absoluto de eventos cardiovasculares (ECV) en función de los niveles de la PA (y de otros factores de riesgo y trastornos clínicos) podría estar cambiando el paradigma de definición y manejo de la HTA hacia el concepto de caso de PA para tratar (en función de sus cifras y el riesgo).

La sociedad médica sigue creyendo, que la PA aumenta normalmente con la edad y que en gran medida es un acompañante inocuo del progresivo endurecimiento arterial conforme avanza la edad. Realmente, la prevalencia de PA elevada en general y la de HSA en particular aumenta con la edad en la mayoría de las poblaciones, pero esto no es ni inevitable ni beneficioso. Por otra parte, el incremento de la resistencia periférica se consideró el sello distintivo de la hipertensión esencial y la presión arterial diastólica (PAD) como un mejor marcador de resistencia periférica que la presión arterial sistólica (PAS) y, por consiguiente, tenía que ser un indicador superior del riesgo cardiovascular de la HTA. Como resultado de ello, las recomendaciones sobre el tratamiento y los ensayos clínicos para examinar la eficacia del tratamiento antihipertensivo se basaron en la PAD, reforzando además la percepción de que el efecto adverso de la HTA deriva principalmente del componente diastólico de la PA.<sup>4</sup>

La presión arterial se caracteriza por grandes variaciones en un mismo día o entre días. Por lo tanto, el diagnóstico de hipertensión se debe basar en la toma de varias mediciones efectuadas en ocasiones separadas. Si la presión sanguínea se encuentra sólo ligeramente elevada, de manera ocasional, se recomienda establecer un sistema de vigilancia más frecuente (semestral). No olvidar, sin embargo, que el 40% de estos pacientes se volverán hipertensos genuinos en un lapso no mayor a 5 años, sobre todo si no se modifican otros factores de riesgo.<sup>1</sup> La tabla 1 muestra la clasificación de los grados de hipertensión arterial.

**Tabla 1. Clasificación de la hipertensión arterial.<sup>1</sup>**

<b>Categoría</b>	<b>Presión Sistólica (mmHg)</b>	<b>Presión Diastólica (mmHg)</b>
Óptima	< 120	< 80
Normal	120-129	80-84
Normal alta	130-139	85-89
Grado I (leve)	140-159	90-99
Grado II (moderado)	160-179	100-109
Grado 3 (severa)	180 o mas	110 o mas

Ya que la HTA casi no presenta síntomas al inicio de la enfermedad, el paciente con sospecha de hipertensión arterial en el examen de detección, debe acudir a confirmación diagnóstica, sin medicación antihipertensiva y sin cursar alguna enfermedad aguda. El diagnóstico debe estar basado en el promedio de por lo menos 2 mediciones, tomadas al menos en 2 visitas posteriores a la detección inicial, o a través de

un periodo más prolongado. Cuando se toma la presión arterial, se registran dos valores; el más elevado se produce cuando el corazón se contrae (sístole) y el más bajo corresponde a la relajación entre un latido y otro (diástole). La enfermedad se diagnostica cuando la presión sistólica está constantemente por encima de 140 mmHg o la presión sanguínea diastólica está por encima de 90 mmHg.

Cuando la presión arterial sistólica y diastólica se ubica en diferentes etapas de hipertensión, se utiliza el valor más alto para clasificarlo. Aquellos pacientes con presión arterial alta, son enviados a recibir manejo no farmacológico, con el fin de reducir los niveles de presión arterial a niveles normal u óptimo.<sup>6</sup>

### **1.1.3.2 Síntomas**

Habitualmente, la hipertensión arterial es asintomática, a pesar de la coincidencia en la aparición de ciertos síntomas que mucha gente considera (erróneamente) asociados a la misma como cefaleas, hemorragias nasales, vértigo, enrojecimiento facial y cansancio. Aunque las personas con una presión arterial elevada pueden tener estos síntomas, también pueden aparecer con la misma frecuencia en individuos con una presión arterial normal. En caso de hipertensión arterial grave o de larga duración que no recibe tratamiento, los síntomas como cefaleas, fatiga, náuseas, vómitos, disnea, desasosiego y visión borrosa se producen por lesiones en el cerebro, los ojos, el corazón y los riñones. Algunas veces, las personas con hipertensión arterial grave desarrollan somnolencia e incluso coma por edema cerebral (acumulación anormal de líquido en el

cerebro). Este cuadro, llamado encefalopatía hipertensiva, requiere un tratamiento urgente.<sup>10</sup>

La hipertensión puede ser asintomática en fases iniciales, de tal manera que es importante detectarla a tiempo para evitar complicaciones. Dada la importancia de la hipertensión, se deben implementar estrategias para su detección y manejo, pero también para prevención de los factores de riesgo y consecuentemente de la morbilidad y mortalidad ocasionados por la enfermedad.

### **1.1.3.3 Tratamiento**

#### **1.1.3.3.1 Tratamiento no farmacológico**

El tratamiento se inicia con un cambio en el estilo de vida. Dependiendo de la respuesta a este cambio y del grupo de riesgo, se decide o no administrar medicamentos. El objetivo del tratamiento antihipertensivo es reducir la morbilidad y mortalidad renal y cardiovascular del paciente intensificando en los siguientes puntos:

- En pacientes con IMC > 25: reducción del peso hasta obtener el ideal.
- Disminuir el consumo de alcohol
- Suspender el hábito de fumar.
- Reducir la ingesta de sal y alimentos industrializados.
- Incrementar el consumo de alimentos ricos en potasio y calcio.
- Disminuir refrescos y carbohidratos refinados.

- Bajar la ingesta de grasas saturadas.
- Establecer un programa de actividad física aeróbica e isotónica (caminar 30 min. al día) previa valoración de riesgo.<sup>11</sup>

### **1.1.3.3.2 Tratamiento Farmacológico**

El objetivo terapéutico será descender la PA a valores por debajo de 140/90 y se determina por el perfil del paciente (edad, sexo, riesgo cardiovascular, enfermedades concomitantes, repercusión visceral), si existiera repercusión visceral o hay otros factores de riesgo asociados, el tratamiento farmacológico debe perseguir disminuir la PA por debajo de 140/90, además que los tratamientos farmacológicos requieren la vigilancia de aparición de posibles efectos secundarios, los cuales disminuirán la adherencia al tratamiento.<sup>5</sup>

El tratamiento de la hipertensión debe individualizarse en base no sólo a los valores de la presión arterial sino de acuerdo al nivel de riesgo de cada paciente, para lo cual debe considerarse la relación entre los valores de la PA, los factores de riesgo cardiovascular asociados y la coexistencia de otras condiciones clínicas. Por ejemplo, ante un riesgo bajo, realizar modificaciones en el estilo de vida; ante un riesgo moderado, modificaciones en el estilo de vida, monitoreo de la PA y factores de riesgo por 3 meses, si no logra su meta, iniciar tratamiento farmacológico; ante riesgo alto y muy alto, además de las modificaciones en el estilo de vida, se deberá iniciar el tratamiento farmacológico de inmediato. La estrategia en el manejo de la hipertensión deberá ser alcanzar la meta y los objetivos terapéuticos. Más de dos tercios de los

pacientes hipertensos no logran controlarse en monoterapia y requerirán de 2 o más fármacos antihipertensivos de diferentes clases terapéuticas.

El establecimiento de la terapia para los norteamericanos para el manejo de la hipertensión inicia con cambios en el estilo de vida. Y si no se logra el control antihipertensivo, los diuréticos se pueden iniciar en la mayoría de los pacientes, solos o en combinación con otra clase terapéutica como los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA's), antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARA II), Beta bloqueadores (BB), Calcio agonistas (CA), que han demostrado reducir complicaciones de la hipertensión. La selección de algunos de estos fármacos como tratamiento inicial se recomienda cuando un diurético no puede ser usado o cuando existen indicaciones obligadas. Si el fármaco inicial no es tolerado o se contraindica, seleccionar otra clase terapéutica que haya probado reducir los eventos cardiovasculares.<sup>11</sup>

Dado que la mayoría de los pacientes hipertensos requerirán 2 o más fármacos antihipertensivos para alcanzar la PA objetivo, la adición de un fármaco de una clase diferente se debe de iniciar cuando haya fallado la monoterapia aún con la dosis adecuada. Cuando la PA es superior a 20 mmHg sobre el objetivo sistólico o 10 mmHg sobre el objetivo diastólico, se deberá considerar iniciar tratamiento con 2 fármacos. El iniciar el tratamiento con más de 2 fármacos incrementa la posibilidad de alcanzar los objetivos de PA de una manera oportuna. El uso de combinaciones de multifármacos usualmente con dosis menores, ofrece frecuentemente una mayor reducción de la PA, lo

que resulta en menores efectos secundarios y simplifica el tratamiento, reduciendo así los costos.<sup>11</sup>

#### **1.1.4 Mecanismos Moleculares de la Hipertensión Arterial**

La prevalencia de HTA guarda estrecha relación con la edad, medio ambiente-estilo de vida, género y factores co-mórbidos, tales como diabetes, obesidad, dislipidemias, tabaquismo y predisposición genética. Además, no sólo es la gravedad de la HTA, sino su interacción con estos factores, lo que determina la magnitud y velocidad de progresión de daño a órgano blanco, situación que debe considerarse primordial para el establecimiento de un tratamiento médico racional. Es por ello que durante la lectura de estas recomendaciones no se deben perder de vista las características individuales del paciente portador de HTA.<sup>1</sup>

Desde una perspectiva epidemiológica, los estudios de los factores genéticos y ambientales continuarán infravalorando el riesgo atribuible poblacional asociado a los factores que dependen de la genética o del entorno. De hecho, el análisis de los efectos conjuntos de los factores genéticos y ambientales puede reforzar sus respectivas asociaciones con la enfermedad, permitiendo la identificación de factores de riesgo que tienen efectos marginales pequeños. Incluso los marcadores genéticos mejor establecidos para rasgos frecuentes muestran diferencias entre distintas poblaciones. Por ejemplo, el gen *Fat mass and obesity associated (FTO)* recientemente identificado se considera como el *locus* mejor establecido como factor de riesgo de obesidad; sin embargo, y a pesar de esas afirmaciones, algunos estudios indican ausencia de

asociación en individuos afroamericanos o chinos de etnia Han. Continúa sin estar claro si la no asociación entre etnias se debe a diferencias genéticas entre las diferentes poblaciones o si puede haber una interacción entre genes y entorno que oculte el efecto en estos otros grupos étnicos. De hecho, los resultados obtenidos en una población danesa indican que la actividad física puede atenuar los efectos de las variantes genéticas del *FTO*, lo cual respalda la existencia de interacciones entre gen y entorno.<sup>12</sup>

Las evidencias de influencias genéticas en el desarrollo de la hipertensión esencial provienen de diferentes fuentes. Las investigaciones en hermanos gemelos documentan mayor concordancia de presiones arteriales entre los monocigotos que entre los dicigotos. Hoy se acepta que la hipertensión arterial esencial es mayormente un síndrome con compromiso multifactorial y generalmente poligénico y familiar. Menos del 5% de los hipertensos tiene una causa monogénica de mecanismo mendeliano, es decir con transmisión de rasgos codificados por un solo gen.<sup>2</sup>

La distribución continua, unimodal de la presión arterial apoya la hipótesis de la participación de varios genes en la fisiopatología de la hipertensión. Cada uno de los genes tendría efectos relativamente pequeños e independientes, aunque aditivos (trastorno poligénico). En la actualidad se dispone de poca información sobre los genes involucrados en la enfermedad y la importancia relativa de cada uno en cuanto a sus efectos sobre la presión arterial. Afortunadamente, el conocimiento de la fisiología y de la fisiopatología de los factores que regulan la presión arterial, nos sirve para definir los loci genéticos candidatos que pueden utilizarse en estudios de ligamiento o de asociación utilizando modelos específicos.<sup>15 y 16</sup>

Los enfoques para identificar determinantes genéticos de hipertensión arterial consisten básicamente en estudios de ligamiento en familias o en pares de hermanos afectados y en estudios de asociación. Los estudios de ligamiento en familias han servido para identificar los genes causales de diferentes formas monogénicas de hipertensión.<sup>26</sup>

En los últimos años, se han realizado análisis de ligamiento de algunos genes candidatos en familias con hipertensión arterial utilizando marcadores informativos y uno de los métodos más utilizados es el estudio de hermanos afectados. En él se compara la concordancia de alelos entre hermanos afectados con aquella esperada en caso de segregación independiente entre marcador y fenotipo. Los estudios de asociación asumen que si un alelo en un locus concreto es responsable de una enfermedad, los individuos con la enfermedad deberían poseer dicho alelo con una frecuencia superior a la de los controles.<sup>6</sup>

**CAPÍTULO 2**  
**MEDICINA GENÓMICA**

## 2.1 Medicina Genómica

El genoma humano que la UNESCO ha definido como el patrimonio biológico de la humanidad, está formado por una larga cadena de ácido desoxirribonucleico (ADN), que constituye el “texto” en el que están especificados los mecanismos homeostáticos de nuestra especie, está constituido por 3200 millones de pares de bases o nucleótidos, y a 40 mil genes diferentes.<sup>13</sup> Los genomas contienen toda la información de los mecanismos por el cual el organismo humano mantiene la homeostasis para su correcto funcionamiento y poder conservar la salud, debido a esto los organismos son capaces de adaptarse en una forma adecuada a los cambios ambientales que se ejercen sobre él, las enfermedades aparecen cuando el equilibrio que ha podido mantener para su supervivencia se rompe o se ve afectado.

Los genomas contienen la información para que las células formen proteína que contribuyen a la estructura y funciones celulares. Estas funciones se llevan a cabo mediante reacciones químicas que constituyen los mecanismos homeostáticos de un organismo. Cada gen está formado por un segmento de la gran cadena del genoma y da lugar a una o más proteínas. En los genes se encuentran especificadas las potencialidades estructurales, funcionales y del desarrollo de un individuo, así como sus resistencias y susceptibilidades a padecer enfermedades. El conocimiento completo de nuestro genoma y los instrumentos conceptuales y metodológicos, antecedentes y consecuencias de ese conocimiento, permitirán indagar las características, mecanismos, potencialidades y predisposiciones, lo que cambiará de manera completa e irreversible la forma de vernos a nosotros mismos y a nuestros semejantes.<sup>13</sup>

La investigación en México propiamente en genómica está desarrollándose lentamente debido a que no se cuenta con gran infraestructura humana y material que permita desarrollar otros aspectos de la medicina genómica en sus áreas de investigación, asistencia y docencia, a fin de que deriven beneficios para la ciencia y para los mexicanos.<sup>14</sup> En el campo de la salud tanto en México como en el mundo, ya sea a nivel individual como de grupos humanos, el conocimiento del genoma ofrece nuevas formas de prevención, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades, gracias a la capacidad que tendremos de detectar a individuos con alto riesgo genético de desarrollar enfermedades comunes, a fin de adecuar su entorno. Estos cambios en el ambiente lograrán la prevención y el manejo de la mayor parte de las enfermedades comunes, con base en las características y predisposiciones individuales inscritas en el genoma.<sup>13</sup>

La medicina genómica entonces, consiste en la identificación de las variables que aportan el riesgo de padecer alguna enfermedad, antes de que se hagan aparentes y, por tanto, permitirán prevenir o tratar mediante fármacos más efectivos y menos tóxicos y con menores precios; se tratarán enfermedades como las infecciosas, la diabetes, la hipertensión, el infarto al miocardio, el síndrome de Alzheimer o susceptibilidades a alérgenos propios o extraños, o hipersensibilidades. Además del impacto económico se generarán formas nuevas de atención a los enfermos, de comunicación y de comercialización y mercadotecnia social y estrategias de desarrollo.<sup>15</sup>

### **2.1.1 Objetivo y Alcances de la Medicina Genómica**

El conocimiento del genoma humano representó un objetivo en la historia de la humanidad no sólo por la importancia científica y tecnológica del proyecto, sino por el gran impacto que este conocimiento tendría en la vida cotidiana de las poblaciones. El desciframiento del genoma humano está permitiendo en una forma absolutamente precisa y exacta, la identificación de cada individuo y se podrán conocer muchas de sus características físicas, aún antes de su nacimiento, así como su predisposición a diferentes enfermedades y conductas, de tal manera que la modificación de su ambiente pueda retrasar o evitar la presencia de alguna o algunas enfermedades.<sup>13</sup>

La medicina genómica revolucionará la práctica de la medicina al ofrecer nuevas formas de diagnóstico y de tratamiento de las enfermedades humanas. Más aun, permitirá identificar a los miembros de la población cuya secuencia de ADN los hace de alto riesgo para presentar enfermedades comunes como la hipertensión arterial, la DMTH, el asma, el infarto agudo al miocardio y algunas enfermedades infecciosas, entre muchas otras, que están adquiriendo gran relevancia en el mundo así como en nuestro país debido a la transición epidemiológica. Esto hará a la medicina, cada vez mas predictiva, preventiva e individualizada.<sup>14</sup> En cuanto a los costos de atención médica se podrán hacer cambios para mejorar las terapias y los tratamientos crónicos tanto en los costos como en la rehabilitación de los enfermos además de disminuir el ausentismo por cuestiones de salud y el pago de compensaciones por enfermedades crónicas incapacitantes.

En el ámbito académico la medicina genómica será de gran importancia para estimular la enseñanza de la genética y en especial, de las ciencias genómicas a todos los niveles educativos en diferentes campos del conocimiento y así promover áreas de investigación científica relacionadas con el genoma abriendo nuevas oportunidades de producción de información científica, que pueda derivar en bienes para nuestra población tales como fármacos más eficaces y menos tóxicos, nuevas vacunas, formas de diagnósticos y tratamiento de enfermedades entre otras.<sup>14</sup>

### **2.1.2 Polimorfismos Genéticos**

El genoma humano está constituido por 3,200 millones de nucleótidos o pares de bases que codifican toda la información para que exista vida humana, orquestada por los aproximadamente 40,000 genes que gobiernan todas nuestras funciones biológicas y están codificados en los más de tres mil millones de nucleótidos y cerca de 1000 genes que son los causantes de algunas enfermedades en el humano.<sup>15</sup>

Los seres humanos compartimos el 99.9% de la secuencia de nucleótidos y solo el 0.1% nos da la individualidad y esta variación se manifiesta cada 800 nucleótidos.<sup>15</sup> Si consideramos los datos anteriores podríamos decir que entre cada ser humano hay una variación de al menos 3 millones de nucleótidos o bases distribuidas por todo el genoma, lo cual da un número enorme de posibles combinaciones, de las que surge la individualidad de cada persona.

Usualmente se asume una variación en el tamaño y la secuencia de los fragmentos de ADN entre los pacientes normales y los portadores de una enfermedad genética, esto se llama polimorfismo del ADN. Estos tipos de variaciones en los fragmentos de ADN puede ser causada por: a) Mutaciones puntuales, que de manera aleatoria agregan, eliminan o cambian sitios de restricción. Este polimorfismo es llamado RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). b) Inserciones de secuencias repetitivas entre dos sitios de restricción en un fragmento de ADN. Estas secuencias repetidas pueden ser multi-alélicas y generar polimorfismo de tamaños variables llamados mini-satélites o VNTR (Variable Number of Tandem Repeats). c) Variaciones en el número de repeticiones asociadas con un motivo simple que se repite, usualmente compuesto de 2 a 4 nucleótidos llamados micro-satélites o SSRs (Simple Sequence Repeats).<sup>26</sup> Y podrían definirse específicamente como una variante (alelo) producida por una mutación ancestral que está en más del 1% de la población y que generalmente es neutral (no causa ventaja ni desventaja selectiva). De los diversos polimorfismos existentes, el más común son los SNP (Single Nucleotide Polymorphism) o “snips”; que se refieren al cambio en una sola base o nucleótido de manera que, donde en el genoma de algunas personas hay una adenina en un punto determinado, para otros puede haber una guanina o cualquiera de las otras dos bases que conforman el código genético (timina y citosina).

Los SNP se presentan aproximadamente cada 1300 bases en el genoma humano. Definido por sus SNP, cada ser humano es único. Los SNP pueden ser detectados por diversos medios desde comparaciones directas de secuencias hasta métodos bioquímicos o por espectroscopia de masas que producen variaciones de secuencias en una región

definida. La frecuencia Observada de SNP por genoma pronostica que, respecto de la población humana en general (considerando la suma de todos los genomas humanos de todos los individuos vivientes), debe haber >10 millones de SNP que ocurren a una frecuencia de >1 por ciento; de estos ya se han identificado >1 millón.<sup>18</sup>

Un polimorfismo se caracteriza porque diferentes individuos presentan distintos nucleótidos o variantes en una posición concreta del genoma, que se denomina *locus*. A cada posible variante se le denomina alelo. Si se trata de un SNP, normalmente serán 2 los posibles alelos en un *locus*: por ejemplo, el cambio de T por C (T > C). Si el *locus* corresponde a un cromosoma autosómico (del 1 al 22), cada individuo es portador de 2 alelos, uno en cada copia del cromosoma, que se heredan del padre y madre de manera independiente. La pareja de alelos observada en un individuo se denomina genotipo y, para el *locus* T > C del ejemplo, las 3 posibilidades de parejas de alelos son: TT, TC y CC. Los individuos con los 2 alelos idénticos, sean TT o CC, se denominan homocigotos y los que tienen diferentes alelos (TC), heterocigotos. En general se considera variante al alelo menos frecuente, pero esto puede diferir de una población a otra.<sup>27</sup>

La frecuente presencia de SNP en el genoma humano los hace útiles para el mapeo genético. De los  $1.5 \times 10^6$  que hasta ahora han sido identificados en promedio hay uno cada 1 a 2 kb, lo cual debe permitir la localización rápida de genes de enfermedades nuevas.<sup>18</sup> Los SNP alteran la regulación de la expresión de un gen o pueden tener la capacidad de cambiar la secuencia de aminoácidos que forman una proteína, de manera específica en cada persona, lo cual, además de explicar la individualidad humana, se ha observado que confiere también susceptibilidad o resistencia a enfermedades comunes

tales como hipertensión arterial, cirrosis hepática, diabetes mellitus, cáncer o tuberculosis entre otras, así como variabilidad en la respuesta a medicamentos de uso común. Además del factor genómico, el medio ambiente tiene un papel fundamental en la aparición de estas enfermedades y por ello, en aquellos individuos con susceptibilidad genómica a padecerlas, el estilo de vida es determinante para la aparición de las manifestaciones clínicas.<sup>19 y 20</sup>

Es importante destacar también, que estas frecuencias varían significativamente en las diferentes poblaciones, por lo que resulta estratégica su caracterización en la población mexicana.

Para el caso de hipertensión arterial, se han sugerido diversos genes asociados a la susceptibilidad a la enfermedad. Más de 100 genes candidatos, que pertenecen al sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA), a transportadores iónicos, a sistemas vasomotores y al sistema nervioso adrenérgico, entre otros, han sido objeto de análisis.<sup>21</sup> Entre todos ellos, destacan los componentes del sistema renina-angiotensina. Los tres genes de este sistema, ampliamente estudiados en otras poblaciones del mundo y asociados a la susceptibilidad de la hipertensión son el de la Enzima convertidora de angiotensina (ECA), el precursor inicial, el angiotensinógeno y el receptor tipo I de la angiotensina II.<sup>22, 23, 24 y 25</sup>

### 2.1.3 Asociación entre los polimorfismos y las enfermedades

Los polimorfismos son la base de la evolución y los que se consolidan, bien pueden ser silentes o proporcionar ventajas a los individuos, aunque también puede contribuir a causar enfermedades. Se conocen muchas enfermedades determinadas genéticamente por mutaciones o variantes denominadas de alta penetrancia, ya que los portadores de la variante suelen manifestar la enfermedad con una alta probabilidad. Estas variantes suelen ser de baja frecuencia en la población general, por ejemplo, las mutaciones heredadas en el gen supresor de tumores *APC* determinan la aparición de la poliposis familiar adenomatosa que a menudo degenera en carcinomas en el colon, pero esta entidad no explica más de un 1% del total de tumores de colon. En la actualidad muchos investigadores centran sus trabajos en identificar genes con polimorfismos que se dan en la población con mayor frecuencia y que influyen en el riesgo de padecer una enfermedad, pero con baja probabilidad (son los llamados polimorfismos de baja penetrancia). También se les denomina variantes que confieren susceptibilidad genética a la enfermedad, y para que dicha variante genética se exprese a menudo es necesaria la participación de una exposición.

Los polimorfismos más frecuentes son cambios de una única base (SNP), por ejemplo, en el gen de la apolipoproteína E (*ApoE*). Uno de ellos, denominado *ApoE*  $\epsilon$ -4, resulta en un cambio en el aminoácido cisteína de la posición 112 por una arginina. Esta variante se asocia con la enfermedad de Alzheimer.<sup>27</sup>

Los individuos afectados por ataxia de Fredreich, una enfermedad autosómica recesiva, son portadores de variantes en el gen *frataxin* con un número elevado repeticiones del triplete GAA en el primer intrón. Los individuos normales suelen tener menos de 40 repeticiones, mientras que los afectados tienen entre 100 y 1,700 repeticiones.<sup>27</sup>

Dentro del estudio de enzimas involucradas en el metabolismo de fármacos y agentes xenobióticos, incluyendo carcinógenos. Figuran varias isoenzimas del sistema oxidativo microsomal P450 (CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19 y CYP2D6). El papel de este sistema oxidativo se ha revisado en diferentes aspectos como la frecuencia de presentación del genotipo y/o fenotipo (metabolizador lento) para sustratos del CYP2C19, el papel del polimorfismo en el metabolismo de fármacos y en el riesgo de desarrollo de diversas neoplasias y otras enfermedades (lupus eritematoso sistémico, psoriasis, osteonecrosis de cadera, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, temblor esencial).<sup>28 y 29</sup>

El TNF $\alpha$  es un agente clave en la inmunidad del huésped, con actividad antitumoral, antiviral y antimicrobiana. Induce crecimiento tisular, diferenciación de tejidos e inmunorregulación. En individuos sanos, sus niveles son variables, fluctuando entre 50 pg/ml y no detectables. Los niveles superiores a 100 pg/ml, en general, se asocian con morbilidad. Numerosos estudios han intentado hallar posibles asociaciones entre la susceptibilidad y/o severidad de ciertas enfermedades y la presencia del polimorfismo -308 del promotor de TNF $\alpha$ . Dentro del gran número de enfermedades en que la influencia este polimorfismo ha sido estudiada, destacan los trabajos realizados en

pacientes con: artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y síndrome de insulino-resistencia.<sup>30</sup>

**CAPÍTULO 3**  
**ANTECEDENTES**

## **3.1 ANTECEDENTES**

### **3.1.1 Genética de la Hipertensión Arterial**

La presión arterial es un rasgo multifactorial, ya que no se segrega en familias con un patrón de tipo mendeliano y además, otros factores, incluidos los ambientales, pueden determinarla de forma significativa (edad, sexo, masa corporal, ingesta de sal, etc).

La distribución continua, unimodal de la presión arterial apoya la hipótesis de la participación de varios genes en la fisiopatología de la hipertensión. Cada uno de los genes tendría efectos relativamente pequeños e independientes, aunque aditivos (trastorno poligénico).<sup>6</sup> En la actualidad se dispone de poca información sobre los genes involucrados en la enfermedad y la importancia relativa de cada uno en cuanto a sus efectos sobre la presión arterial. Afortunadamente, el conocimiento de la fisiología y de la fisiopatología de los factores que regulan la presión arterial, nos sirve para definir los loci genéticos candidatos que pueden utilizarse en estudios de ligamiento o de asociación utilizando modelos específicos.<sup>31 y 32</sup>

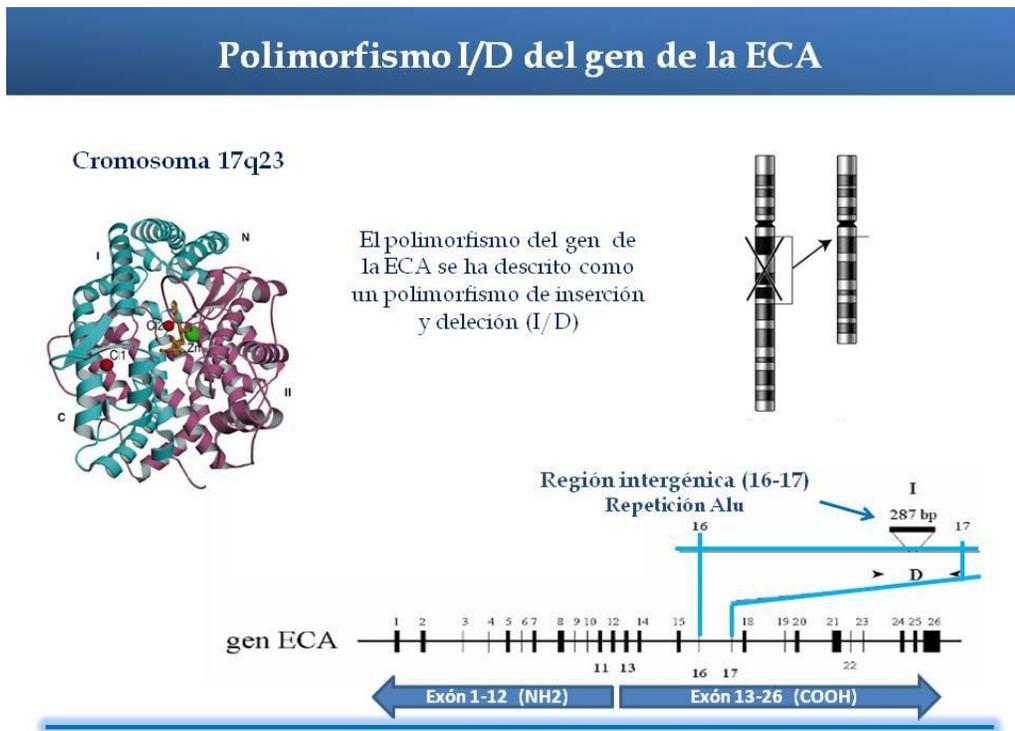
Los enfoques para identificar determinantes genéticos de hipertensión arterial consisten básicamente en estudios de ligamiento en familias o en pares de hermanos afectados y en estudios de asociación. Los estudios de ligamiento en familias han servido para identificar los genes causales de diferentes formas monogénicas de hipertensión.

En los últimos años, se han realizado análisis de ligamiento de algunos genes candidatos en familias con hipertensión arterial utilizando marcadores informativos y uno de los métodos más utilizados es el estudio de hermanos afectados. En él se compara la concordancia de alelos entre hermanos afectados con aquella esperada en caso de segregación independiente entre marcador y fenotipo. Los estudios de asociación asumen que si un alelo en un locus concreto es responsable de una enfermedad, los individuos con la enfermedad deberían poseer dicho alelo con una frecuencia superior a la de los controles.<sup>6</sup>

### **3.1.2 Enzima Convertidora de Angiotensina**

El gen de la enzima convertidora de angiotensina humano (ECA) se encuentra localizado en el cromosoma 17q23. En 1990, Rigat y colaboradores describieron un polimorfismo en dicho gen (polimorfismo D/I) que consistía en la presencia (inserción, I) o ausencia (delección, D) de un fragmento de 287 pares de bases en el intrón 16 del gen de la ECA (Figura 2), con la particularidad de que dicho polimorfismo explicaba un 47% de la variabilidad fenotípica de ECA plasmática.<sup>24 y 33</sup> Concretamente, se observó que el alelo D se asociaba a niveles plasmáticos de ECA aumentados y se reportó que dicho alelo confiere riesgo para sufrir insuficiencia coronaria o hipertrofia ventricular izquierda. Posteriormente, Rigat describió un método sencillo de detección del polimorfismo mediante amplificación de ADN genómico por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con iniciadores específicos.<sup>34</sup> Estudios en familias han demostrado

que el polimorfismo I/D es en realidad un marcador genético que se encuentra fuertemente ligado a una variante funcional de la ECA.<sup>35 y 36</sup>



**Figura 2. Estructura del polimorfismo del gen de la Enzima Convertidora de Angiotensina (I/D).**

Los niveles plasmáticos de ECA tienen una variabilidad intraindividual muy baja que contrasta con una interindividual elevada. Además, se ha demostrado que presentan una concordancia intrafamiliar importante y que están determinados genéticamente.<sup>37 y 38</sup>

En Estados Unidos en el año de 1999, Stephen T. Turner y colaboradores, determinaron para un grupo de individuos, las frecuencias de los genotipos II, I / D, y DD las cuales fueron 0,201, 0,479 y 0,320, respectivamente; frecuencias relativas de los alelos I y D fueron 0,441 y 0,559, respectivamente, mostrando un aumento en el alelo D, todo esto para un grupo de mujeres. Para los hombres, las frecuencias de los genotipos

II, I / D, DD fueron 0,178, 0,494 y 0,328 respectivamente; frecuencias relativas de la I y D alelos fueron 0,425 y 0,575, respectivamente. El genotipo y el alelo frecuencias no difirieron significativamente entre sexos o entre los grupos de edad dentro de cada uno de los géneros. Aunque este estudio no evidenció directamente la frecuencia del polimorfismo con el desarrollo de hipertensión, se pudo determinar que el alelo con mayor prevalencia es D.<sup>39</sup> Además que no se descarta un posible sinergismo con algún otro polimorfismo del mismo gen u otro implicado en el SRAA, en el desarrollo de hipertensión.

En 2002, Cristina Sierra y colaboradores, exhibieron los resultados de su investigación los cuales hacían referencia al polimorfismo I/D del gen de la ECA la frecuencia de la genotipo DD en pacientes hipertensos con lesiones cerebrales (64%) fue significativamente mayor ( $P= 0,022$ ) que en los que no referían daño cerebral (28,6%). Además, la proporción del alelo D en los pacientes hipertensos con lesiones cerebrales (74%) también fue significativamente superior ( $P= 0,014$ ) que en aquellos sin lesiones cerebrales (51,4%).<sup>40</sup>

Bedia Agachan y col., en 2003, obtuvieron que las frecuencias de la persona que tienen el genotipo D de ACE (DD + ID) fue significativamente mayor en hipertensos grupos (99,1%) que los controles (80%) ( $\chi^2$ : 20,66;  $P = 0,000$ ). Cuando se hizo un análisis de sexos por separado, esta diferencia fue altamente significativa en las mujeres ( $P = 0.010$ , prueba exacta de Fisher).

En el año de 2006 en México, Nydia Avila-Vanzzini y col., encontraron una asociación entre el genotipo DD del gen de la ECA y el desarrollo de hipertrofia ventricular, el cual se veía aumentado en comparación con los pacientes con el genotipo II, los pacientes con genotipo DD además tienen menos respuesta al tratamiento con inhibidores de la ECA en cuanto a la reducción de la hipertrofia, dado que el genotipo DD está directamente relacionado con el incremento de ECA en plasma y por consiguiente una mayor actividad de la misma, la cual da como resultado un remodelamiento ventricular para finalizar en una hipertrofia.<sup>39</sup>

Más recientemente en el 2007, Yan Li y colaboradores, recalcan la importancia de determinar la variante del polimorfismo del gen de la ECA, el cual aumenta los niveles plasmáticos de éste, tal como se sugirió por otros investigadores, ya que el aumento del daño de órganos específicos debido al genotipo DD podría ser atribuible a la exagerada generación de la angiotensina II en los tejidos. Poniendo en manifiesto las frecuencias de los genotipos (DD 24,6%, 51,6% ID, II y 23,8%; P= 0,25).<sup>41</sup>

### **3.1.3 Angiotensinógeno**

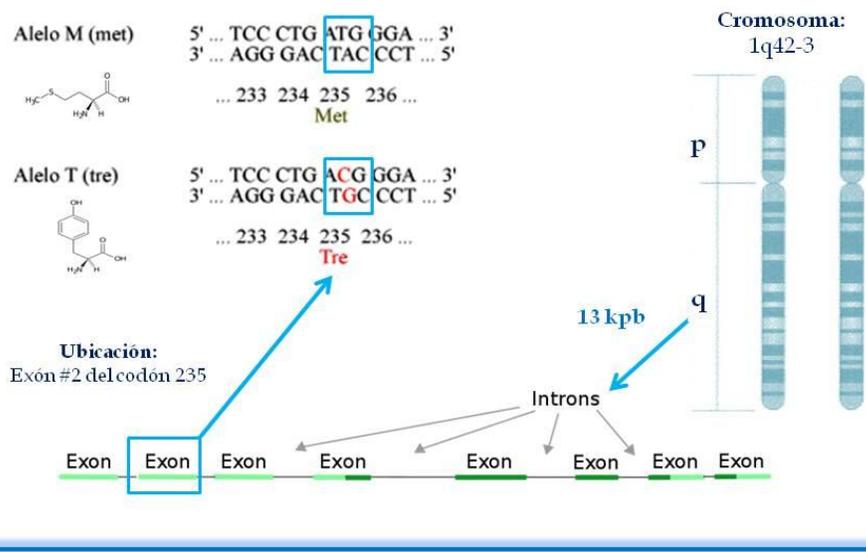
El angiotensinógeno (AGT), sustrato único para la renina,<sup>42</sup> es sintetizado principalmente por el hígado bajo un control positivo de los estrógenos, glucocorticoides, hormonas de tiroides y el angiotensinógeno II. El cerebro, las arterias grandes, el corazón, el riñón, y los tejidos finos adiposos son sitios donde ocurre su síntesis.

El gen humano del angiotensinógeno se ha localizado en el cromosoma 1q42-3 y abarca cinco exones y cuatro intrones que atraviesan 13kb de la secuencia genómica.<sup>25</sup> Los 485 aminoácidos (61 kDa) que conforman esta glicoproteína contienen un péptido señal que es removida dejando un sustrato para la renina de 453 aminoácidos, este péptido es secretado constitutivamente y recientes estudios indican que es posible que se localice en el núcleo de algunas células.<sup>43</sup>

Diversos estudios han indicado una relación entre el nivel del angiotensinógeno del plasma y la presión arterial en los seres humanos.<sup>44</sup> Se ha observado un nivel más alto del angiotensinógeno en pacientes hipertensos que en los sujetos normotensos.<sup>25 y 45</sup> En el gen del angiotensinógeno se conocen muchas variantes, pero fundamentalmente dos han sido asociadas con la hipertensión arterial: aquellas que presentan un cambio de metionina a treonina (M/T) en los codones 174 y 235. Las variantes 235T y 174M tendrían mayor prevalencia en hipertensos que en normotensos. Por lo tanto, los individuos que portan estos alelos poseen un riesgo relativo 40% mayor de sufrir hipertensión que aquellos que no los portan.<sup>25</sup>

En el caso de la variante de la posición 235T en el exón no. 2 del gen del AGT entre una metionina y una treonina (Figura 3) se han destacado principalmente por haberse encontrado una significativa asociación en la HTA.<sup>7, 24 y 33</sup>

## Polimorfismo M235T del gen del ATG



**Figura 3. Estructura del polimorfismo del gen del Angiotensinógeno (M235T).**

En estudios realizados sobre este polimorfismo, se ha observado un aumento considerable en el nivel del angiotensinógeno del plasma en los pacientes portadores de la variante 235T, con un 20 por ciento de aumento en los heterocigotos (TA) y los homocigotos (TT) respectivamente, comparado con los homocigotos (MM) silvestres (la variante 235M).<sup>42</sup> Por su parte, Lucia Procopciuc y colaboradores en el 2002, realizaron una comparación entre individuos rumanos hipertensos y normotensos en los cuales estudiaron la relación con el polimorfismo del angiotensinógeno M235T, y encontraron que el genotipo TM 52.36% y TT 47.61% es más frecuentemente observado en pacientes hipertensos que en normotensos.<sup>46</sup> Estos resultados fueron confirmados en pacientes hipertensos sin importar antecedentes familiares de la hipertensión.<sup>34</sup> Los resultados de tales estudios favorecen la hipótesis que el angiotensinógeno es un determinante de la presión arterial.

En 1994, Charles Rotimi y colaboradores dieron a conocer que la variante molecular 235T del gen para el angiotensinógeno era dos veces más alta entre individuos de raza negra con una notable diferencia étnica para una posible predisposición a la hipertensión, además determinaron que la frecuencia de genes es significativamente mayor en individuos nigerianos, que en afroamericanos, lo cual nos dice que los individuos de raza negra de ascendencia africana occidental comparten una común ascendencia genética. Por lo tanto, es probable que el alelo 235T está cercanamente afincado en las poblaciones de ascendencia africana con HTA.<sup>47</sup> Por otra parte R. Ward y colaboradores (n= 611) determinó que la frecuencia del alelo 235T en afroamericanos fue de 83% y aumentó al 93% en los nigerianos, una población con poca o ninguna mezcla europea mientras que entre blancos, para el alelo 235T había una frecuencia de sólo el 41% en un muestra aleatoria de Utah, EUA, lo cual muestra una mayor incidencia de este alelo en la raza negra y una mayor predisposición a la hipertensión.<sup>48</sup>

Takuji Kishimoto y col., en 2001, encontraron para una población japonesa que la proporción del genotipo para el polimorfismo M235M (MM), M235T (MT) y T235T (TT) fueron 3,9%, 30,7% y 65,5%, respectivamente. Estos resultados no mostraban relación estadística significativa entre la distribución de genotipo y la edad. La frecuencia de alelo 235T fue 0,808 en el presente estudio, y fluctuación entre 0,604 a 0,860 publicado en el estudio. Además de no haber diferencia significativa entre los pacientes normotensos e hipertensos, esto se debe probablemente a la existencia de diferencias regionales en los antecedentes genéticos del nativo japonés.<sup>44</sup>

Para el 2003, Frank Lizaraso Soto y col., realizaron una investigación en Perú respecto al desarrollo de hipertensión con el porcentaje del polimorfismo M235T. Las prevalencias del genotipo TT en una muestra de hipertensos (66%) y normotensos (56%) fueron algo diferentes; pero sin llegar a ser estadísticamente significativas.<sup>49</sup> Por otra parte, también en 2003, Alexandre C. Pereira y col., encontraron que la variante recesiva T (58.03% P= 0,02, o OR 1,33 [1,04 a 1,7]) se asoció significativamente con la hipertensión y esto se mantuvo como un factor de riesgo independiente para la hipertensión, incluso después del ajuste por edad, género, y origen étnico (OR, 1,33; 95% IC, 1,04 a 1,70), en conjunto, estos datos indicaron una relación lineal entre el alelo 235T y la presión arterial en una composición étnica mixta y a su vez se confirmó su papel como un factor independiente de riesgo para el desarrollo de hipertensión arterial para hombres y mujeres, cuando se es homocigoto para esta variante.<sup>50</sup>

En 2006 Ilan Goldenberg y colaboradores, dieron a conocer los resultados de su investigación los cuales arrojaron, que hay una frecuencia significativamente mayor del alelo 235T entre individuos negros (82%) en comparación con individuos blancos (44%). La frecuencia dentro de cada grupo étnico, fue similar entre individuos normotensos e hipertensos. Además la presencia de 235T se asoció con un aumento en el riesgo de eventos coronarios entre individuos negros, pero no así entre los blancos.<sup>51</sup> Por otra parte en 2007, Bert-Jan H. van den Borna y col. realizaron un estudio comparativo del polimorfismo M235T entre individuos de raza blanca y negra en los países bajos, en el cual encontraron una relación entre el genotipo TT (68,4%) y el desarrollo de hipertensión maligna en la raza blanca en comparación con individuos de

raza negra, en la cual no encontraron relación significativa con este genotipo en cuanto a la patología estudiada.<sup>52</sup>

Además de los estudios para encontrar una relación entre el desarrollo de hipertensión del polimorfismo M235T, Anna P. Pilbrow y colaboradores en 2007, realizaron en Nueva Zelanda un estudio en el cual evaluaron el riesgo de presentar falla cardíaca en el cual encontró que los niveles plasmáticos de AGT han demostrado ser 10% a 20% mayor en aquellos con la variante M235T a diferencia de la variante genotípica del polimorfismo T174M, hasta la fecha, los niveles de AGT de tejidos no han sido investigados en asociación con M235T o en combinación con alguna otra variante. Sigue siendo posible que M235T de AGT, pueda aumentar el nivel de activación de la SRAA en el corazón y el riñón, lo que hace que estos órganos sean más vulnerables a la remodelación cardíaca y la insuficiencia renal y, por ende, dar como resultado en falla cardíaca.<sup>53</sup>

La mayoría de los reportes sobre estudios hechos acerca del polimorfismo M235T, se han llevado a cabo con sujetos asiáticos de oriente lejano, caucásico de Europa y Estados Unidos e integrantes de la raza negra africana y afroamericana.<sup>33 y 47</sup> Esto nos demuestra que es de gran importancia enfocar estos estudios a la población mestiza latinoamericana.

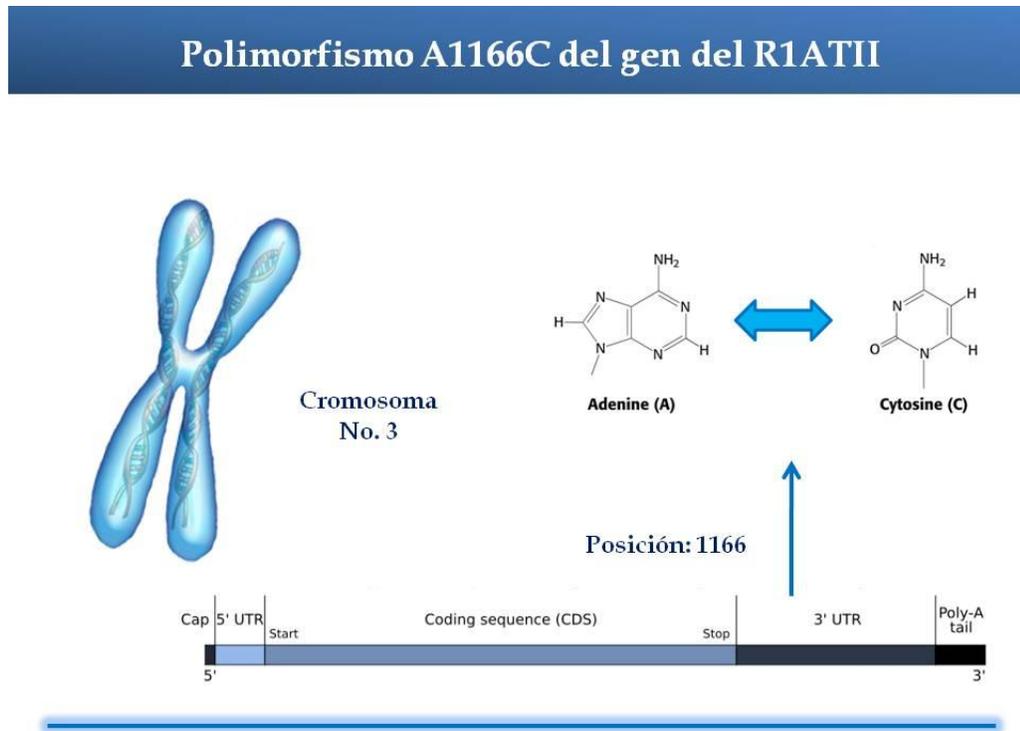
### 3.1.4 Receptor I de la Angiotensina II

El receptor de tipo 1 de la angiotensina II (R1ATII) está acoplado a las proteínas G e implicado en la mayoría de las principales funciones de la angiotensina II en el organismo. La hipótesis de las mutaciones activadoras de este receptor en la hipertensión arterial no ha sido demostrada. Sin embargo, un estudio reciente de relación genética efectuado en familias finlandesas, ha mostrado relación positiva entre el locus del gen del R1ATII y la hipertensión.<sup>21</sup>

El estudio y la relación con el desarrollo de la HTA de tales polimorfismos ya ha sido estudiado en varias etnias tales como las asiáticas, caucásicas (europea) y negras (afroamericanos), esto pone en evidencia la necesidad de establecer registros de dichos factores en la población mestiza mexicana. La determinación de la base genética que produce o predispone a la HTA podría tener claros beneficios en términos de definir medidas preventivas en individuos en riesgo y/o un tratamiento terapéutico más acertado una vez que la enfermedad está establecida.

En 1994, Alain Bonnardeaux y colaboradores determinaron si el polimorfismo del gen que codifica para los receptores tipo 1 de angiotensina II (A1166C) estaba implicado en la HTA (Figura 4), utilizando una población francesa de hipertensos consanguíneos y un grupo control de normotensos. Los análisis mostraron que C1166 fue considerablemente más frecuente en el grupo de hipertensos comparado con el grupo de control de normotensos (0.36 contra 0.28,  $\chi^2=6.8$ ,  $P= .01$ ), con un remoto aumento

entre los casos con una edad más temprana de inicio de hipertensión y en casos más severos.<sup>22</sup>



**Figura 4. Estructura del polimorfismo del gen de los Receptores 1 de Angiotensina II (A1166C).**

Para el año 2000, Wilko Spiering y colaboradores investigaron el papel potencial del polimorfismo A1166C del gen del receptor R1ATII en la hemodinamia renal y la respuesta humoral a la angiotensina II en pacientes con hipertensión esencial con una dieta alta en sodio. La investigación mostró que los pacientes con el genotipo CC muestran una respuesta exagerada en la eficacia renal del flujo sanguíneo y la resistencia vascular renal además de una disminución total en el ritmo cardiaco, los resultados arrojados por la investigación les indicaron que la sensibilidad pero no la reactividad de la angiotensina II es aumentada en pacientes con el genotipo CC.<sup>54</sup>

Jiang Zhenni y colaboradores en 2001, estudiaron y compararon las frecuencias observadas para el alelo C1166 en pacientes hipertensos en contra de pacientes normotensos, 0.092 y 0.034 respectivamente. Ellos encontraron que el alelo C1166 era más frecuente en la población china hipertensa. Esto sugiere que el alelo C1166 podría ser un marcador para la predisposición a la hipertensión en la población china. Wang y colaboradores han divulgado que la frecuencia génica del alelo C1166 es de 0.286 en caucásicos normotensos, más alto que en el chino normotenso. También confirmaron esta diferencia para ser significativos entre los hipertensos caucásicos y chinos hipertensos. El alelo C1166 del gene R1ATII era menos común en el chino que en caucásicos.<sup>23</sup>

En 2002, Cristina Sierra y colaboradores se enfocaron en la búsqueda de una asociación entre pacientes que presentaran riesgos de lesiones cerebrales y pacientes hipertensos, además propusieron encontrar un sinergismo junto con otros 3 tipos de polimorfismos y encontraron que no había relación entre el polimorfismo A1166C con el objetivo que se plantearon en su investigación,<sup>40</sup> no obstante, Bedia Agachan y col., en 2003 estudiaron en una población turca la frecuencia del polimorfismo A1166C y encontraron un porcentaje más alto en la asociación de un grupo hipertenso (39.4%) en contra de un control (25.9%) ( $P = 0.054$ ). En hombres, esta proporción era del 40 % en hipertensos y el 22.9 % en los controles y en mujeres, 39.2 % contra el control de 30.3 %.<sup>38</sup> En 2003, Alun Jones y col., determinaron en una población inglesa que el genotipo C1166 del polimorfismo del R1ATII está asociado con el riesgo elevado de padecer enfermedades coronarias con elevados niveles de presión sanguínea sistólica (160 mm Hg), habiendo una proporción mayor en portadores con el genotipo C1166 (19.6 % CC

contra el 14.6 % AA; P= 0.05). Además descubrieron que la frecuencia de acontecimientos cardiacos era más alta entre aquellos con el genotipo CC que en los genotipos AC o AA (10.8 %, el 5.7 %, y el 8.0 %, respectivamente; P= 0.02).<sup>55</sup>

Dongliang Ge y col. en 2007, fueron los pioneros en plantear que el polimorfismo A1166C del receptor R1ATII está asociado con una respuesta aumentada de la angiotensina II en las arterias. Expusieron que esta mutación está localizada en una región no traducida del gen, demostrando que la frecuencia del alelo C1166 es mayor en pacientes con hipertensión, por lo tanto sugirieron que el polimorfismo A1166C puede estar en el desequilibrio de acoplamiento con una mutación funcional que cambia la sensibilidad de la angiotensina II.<sup>56</sup>

### **3.2 JUSTIFICACIÓN**

La Hipertensión Arterial es la más común de las condiciones que afectan la salud de los individuos y las poblaciones en todas partes del mundo. Representa por sí misma una patología, como también un factor de riesgo importante para otras enfermedades, fundamentalmente para la Cardiopatía Isquémica, Insuficiencia Cardíaca, Enfermedad Cerebro Vascular, Insuficiencia Renal y contribuye significativamente a la Retinopatía.<sup>44</sup>

y 49

Numerosos estudios realizados han demostrado la asociación de la hipertensión arterial con el desarrollo de estas enfermedades letales, por lo que el control y sobre todo

la prevención de la hipertensión, reduciría la morbilidad y la mortalidad por tales etiologías.<sup>50 y 51</sup>

No obstante, a pesar del alto predominio de la hipertensión y gran impacto en salud pública, poco se sabe todavía sobre sus causas. Se acepta actualmente que aproximadamente 30-50% de los casos de hipertensión pueden deberse a una susceptibilidad genética.<sup>57 y 58</sup>

Esta visión ha favorecido fuertemente los estudios que demuestran la agregación familiar de la enfermedad.<sup>59</sup> La hipertensión humana es considerada por lo tanto, una enfermedad compleja poligénica en la cual uno o más genes están involucrados en el control de los niveles de la presión arterial.<sup>60</sup>

En este sentido, el desarrollo de la misma en una persona estará condicionado a la presencia de variaciones genéticas individuales, las cuales conferirán la predisposición a la patología. Dichas variaciones, conocidas como polimorfismos genéticos han sido previamente observadas en la susceptibilidad de los humanos a esta y otras enfermedades de impacto en salud pública, de tal manera que, determinar su importancia en las diversas etnias poblacionales, permitirá hacer de la práctica médica una disciplina más individualizada, más preventiva y predictiva, con el fin de sentar las bases de la naciente medicina genómica, en la que la cultura de la prevención (a través de la determinación de los patrones individuales de predisposición a enfermedades) predominará por encima de la terapéutica.

Al respecto, para el caso de la hipertensión, se han estudiado principalmente tres genes determinantes en la fisiología de la regulación de la presión arterial: El gen del angiotensinógeno, el de la enzima convertidora de angiotensina y el del receptor I de la Angiotensina II.<sup>22, 23, 24 y 61</sup>

En cada uno de ellos, se ha reportado la presencia de un polimorfismo importante, asociado al aumento o disminución en el sujeto de los niveles plasmáticos de las proteínas codificadas por tales genes. Tales estudios, sin embargo, han sido llevados a cabo en etnias caucásicas y asiáticas, confirmando que las frecuencias polimórficas y su asociación a la enfermedad, varían significativamente en las diferentes poblaciones, por lo que resulta estratégica su caracterización en la población mexicana.<sup>55 y 62</sup> La determinación de la base genética que produce o predispone a la HTA podría tener claros beneficios en términos de definir medidas preventivas en individuos en riesgo y/o un tratamiento terapéutico más acertado una vez que la enfermedad está establecida.

# **CAPÍTULO 4**

## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

#### **4.1 Hipótesis:**

El polimorfismo del gen angiotensinógeno M235T en su variante T, el polimorfismo del gen de la enzima convertidora de angiotensina humana (I/D) en su variante D y la variante C del polimorfismo A1166C del gen de los receptores I de angiotensina II, se presentan con mayor frecuencia en pacientes con hipertensión arterial.

#### **4.2 Objetivo General:**

Determinar los alelos del polimorfismo del gen de los receptores I de angiotensina II A1166C, el polimorfismo M235T del gen del angiotensinógeno y el polimorfismo (I/D) del gen de la enzima convertidora de angiotensina en pacientes del noreste de México diagnosticados con hipertensión esencial y comparar los resultados con los obtenidos en sujetos control.

##### **4.2.1 Objetivos Específicos:**

1. Implementar la técnica de PCR para la detección del polimorfismo (I/D) del gen de la enzima convertidora de angiotensina humana.
2. Implementar la técnica de PCR y RFLP para la detección del polimorfismo M235T del gen del angiotensinógeno humano.
3. Implementar la técnica de PCR y RFLP para la detección del polimorfismo A1166C del gen del receptor R1ATII.

4. Reclutamiento de pacientes y Obtención de Consentimiento Informado, Encuestas y DNA genómico de pacientes y sujetos control.
5. Analizar el polimorfismo M235T en el gen del angiotensinógeno, el polimorfismo (I/D) del gen de la enzima convertidora de angiotensina humana y el polimorfismo del gen de los receptores I de angiotensina II A1166C en ambas poblaciones.
6. Estudiar la posible correlación entre la presencia de los polimorfismos en estudio con factores que predisponen a la hipertensión arterial como edad, sexo, tabaquismo, consumo de alcohol y sedentarismo.

**CAPÍTULO 5**  
**MATERIALES Y MÉTODOS**

## 5.1 Materiales y Métodos

### 5.1.1 Listado de materiales y equipo y su ubicación

Se utilizó el siguiente equipo para la ejecución del presente proyecto:

- Equipo de laboratorio básico de Ingeniería Genética (microtubos eppendorf de 1.5 ml, 0.5 ml y microtubos para PCR, puntillas graduadas para micropipetas).
- Equipo de Ingeniería Genética (Fotodocumentador, equipo de electroforesis horizontal y vertical, biofotometro, microcentrífuga, vórtex, campana de cultivo, micropipetas, etc.) ubicado en el Laboratorio de Ingeniería Genética y Genómica (INGGEN) de la Escuela de Graduados.

### 5.1.2 Determinación del número de muestra

Se realizó un muestreo aleatorio simple y el tamaño de muestra fue determinado en casos y controles no pareados bajo características de los criterios de inclusión y exclusión abajo establecidos aplicando la siguiente fórmula:<sup>63</sup>

$$n = \frac{(p_1q_1 + p_2q_2) (k)}{(p_1 - p_2)^2}$$

En donde:

n = número de casos y número de controles que se necesitan

p1 = Proporción esperada del factor de estudio en el grupo de casos = 0.81

$$q1 = 1-p1 = 0.19$$

$p2 =$  Proporción del factor en estudio en el grupo de controles = 0.66

$$q2 = 1-p2 = 0.34$$

$k = 7.9$  basado en tablas para muestreo aleatorio simple en casos y controles no pareados

$n = 132$

### **5.1.3 Criterios de inclusión y exclusión de pacientes**

El grupo de hipertensos consistió en 127 sujetos diagnosticados hipertensos esenciales. La hipertensión se definió como presión arterial sistólica (PAS) > 140 mmHg o presión arterial diastólica (PAD) > 90 mmHg que reciben o no, uno o más fármacos antihipertensivos y 117 sujetos normotensos se tomaron como controles, sin historia familiar de hipertensión arterial y con una presión sistólica <140 mmHg y presión diastólica < 90 mmHg medidas en tres ocasiones diferentes.

Los pacientes hipertensos y normotensos fueron mayores de 35 años de edad y se determinó mediante encuesta o revisión de expediente: la edad, ocupación, presencia de diabetes, si toma fármacos antihipertensivos y cuáles son éstos, sexo, índice de masa corporal, hábitos de fumar, consumo de alcohol, si han sufrido un infarto al miocardio o algún accidente cerebro vascular.<sup>44 y 64</sup>

La presión arterial elevada se define como una presión sistólica en reposo superior o igual a 140 mmHg, una presión diastólica en reposo superior o igual a 90

mmHg, o la combinación de ambas. En la hipertensión, generalmente, tanto la presión sistólica como la diastólica son elevadas.

En la hipertensión sistólica aislada, la presión sistólica es superior o igual a 140 mmHg, pero la diastólica es menor de 90 mmHg (es decir, esta última se mantiene normal).

El muestreo se realizó en clínicas y centros de salud concentrados en el área metropolitana de Monterrey, como la clínica de hipertensión y diabetes de Servicios Médicos de la Universidad Autónoma de Nuevo León y otras. La hipertensión fue tomada como sistólica cuando el valor fue  $> 140$  mmHg o diastólica cuando el valor fue  $> 90$  mmHg que reciben o no, uno o más fármacos antihipertensivos.

Los pacientes control no deberían tener historia familiar de hipertensión y la presión arterial sistólica debe ser  $< 140$  mmHg y la presión diastólica  $< 90$  mmHg medidos en 3 ocasiones dentro de 2 meses. Los datos demográficos y de química sanguínea serán obtenidos de encuestas, revisión de expedientes y análisis de laboratorio.

#### **5.1.4 Extracción de ADN**

Se tomaron 5ml de sangre periférica en tubos de ensaye con 100  $\mu$ L de EDTA al 15% y el ADN fue extraído por la técnica de TSNT a partir de los leucocitos en sangre periférica. Brevemente: se tomó una alícuota de 300  $\mu$ l de sangre a partir de 0.5 ml de sangre y se adicionaron 300  $\mu$ l de buffer TSNT, se mezcló por inversión y se añadieron

300 µl de fenol seguido de agitación por inversión. Después se añadieron 100 µl de Cloroformo y nuevamente se agitó con ayuda de un vortex y posteriormente se agregó 150 µl de TE 1X. La mezcla se centrifugó a 12000 RPM por 10 min y se transfirió el sobrenadante a un tubo nuevo en el que se añadió 1 ml de etanol para precipitar el ADN. Después se lavó para eliminar las sales con etanol al 70%, y finalmente se disolvió con agua miliQ estéril. Posteriormente se comprobó la pureza de las muestras de ADN por apreciación visual en geles de agarosa.

### **5.1.5 Reacción en cadena de la polimerasa para el polimorfismo I/D**

Cada reacción requirió 2 pmoles de cada primer: FWD 5'CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT 3' y REV 5'GATGTGGCCATCACAATTCGTCAGAT 3',<sup>38</sup> en un volumen final de 25 µL, que contenía 50 mM de MgCl, 2.5 mM de cada dNTP, Buffer 10 X, 2U de Taq polimerasa. El ADN fue amplificado por 30 ciclos con una desnaturalización a 94 °C por 1 minuto, alineamiento de 1 min a 58 °C, y extensión 1 min a 72 °C usando un termociclador "Techne TC-312 ". El producto de la PCR fue un fragmento de 190 pb en ausencia de la inserción de 287 pb correspondiente al gen deletado y un fragmento de 490 pb en presencia de la inserción. Ambos fragmentos se presentarán en el caso de los heterocigotos estos fueron visualizados en un gel de agarosa al 1% con 8 µl del bromuro de etidio 10 mg/ml.

### 5.1.6 Reacción en cadena de la polimerasa para el polimorfismo M235T

Se realizó la reacción de PCR para identificar el polimorfismo M235T amplificando la región que abarca esta variación en la secuencia, utilizando los “primers” descritos por Russ y Niu,<sup>65</sup> estos tienen las siguientes secuencias: 5'-CAGGGTGCTGTCCACACTGGACCCC-3' y 5'-CCGTTTGTGCAGGGCCTGGCTCTCT-3'. El volumen que se utilizó en cada reacción en la PCR contenía: 50 ng de ADN geonómico, en un volumen final de 25 µL, que contenía 50 mM de MgCl, 2.5 mM de cada dNTP, Buffer 10X, 2 U de Taq polimerasa.

La reacción se realizó en un termociclador “Techne TC-312” usando el siguiente programa de amplificación: desnaturalización inicial del ADN: 10 minutos a 95 °C, seguida por 35 ciclos de: 1 minuto de desnaturalización a 94 °C, alineamiento de los “primers”, 1 minuto a 59 °C y 1 minuto y 30 segundos de la extensión, el alargamiento final a 72° C por 10 minutos. Obteniendo un producto de amplificación de 165pb.

### 5.1.7 Detección del polimorfismo M235T

Se realizó mediante la técnica de RFLP (polimorfismo de la longitud del fragmento de restricción) que permite identificar la mutación digiriendo el producto amplificado con la endonucleasa de restricción Tth111I (*Thermus thermophilus* 111 (1), Promega) con la cual se llevó a cabo una digestión en una mezcla de reacción de 20 µl, conteniendo: 1U Tth111I, 10µl del producto de PCR, buffer de reacción 10X,

albumina de suero bovina (BSA) agua. La mezcla de la restricción se incubó por 24h a 65 °C y los fragmentos de ADN fueron visualizados en un gel de poliacrilamida al 12% con 8 µl del bromuro de etidio 10 mg/ml. Para el genotipo normal (del tipo silvestre) (MM) el producto de PCR fue de 165 bp, sin el sitio del corte para Tth111I. Los sujetos homocigotos para la mutación (genotipo TT) presentaron dos fragmentos de 141 pb y 24 pb, después de la digestión enzimática. Los sujetos heterocigotos (genotipo de TM) tuvieron los fragmentos de 165 pb, 141 pb y de 24 bp.

### **5.1.8 Reacción en cadena de la polimerasa para el polimorfismo A1166C**

Para cada reacción se utilizaron 50ng de ADN en un volumen total de 25 µL que contenía 50 mM de MgCl, 2.5 mM de cada dNTP, Buffer 10X, 2 U de Taq polimerasa y 2 pmoles de cada primer: 5'-ATAATGTAAGCTCATCCACC-3', y 5'-GAGATTGCATTTCTGTCGGT-3'.<sup>23</sup> El ADN fue amplificado por PCR con una desnaturalización inicial de 94 °C durante 5 minutos, seguido por 35 ciclos de 94 °C durante 60 segundos, alineación de 58 °C durante 60 segundos, extensión en 72 °C durante 60 segundos y una extensión final de 10 minutos en 72 °C, obteniendo un producto de amplificación de 359 pb.

### **5.1.9 Detección del polimorfismo A1166C**

Para la reacción de RFLP se utilizaron 10 µL de los productos de cada PCR y fueron digeridos con 1U de la enzima de restricción DdeI (*Desulfovibrio desulfuricans* (1), Promega), buffer de reacción 10 X, BSA y agua. La mezcla se incubó 37 °C durante 24 horas y los productos de la digestión se separaron en geles de poliacrilamida al 12%

con 8µl del bromuro de etidio 10 mg/ml y visualizados bajo luz UV. El genotipo A fue identificado con el producto de la PCR (359 pb) y los fragmentos esperados después de la digestión fueron de 220 y 139 pb en el caso del alelo C. En el caso del genotipo AC se presentaron tanto los fragmentos para el alelo A como los del C.<sup>22 y 23</sup>

#### **5.1.10 Tratamiento de los residuos generados**

Se manejaron residuos que se dispusieron en diversos contenedores clasificados de acuerdo a las normas de seguridad vigentes, que se encuentran estratégicamente ubicados en los respectivos laboratorios de uso. Los residuos biológicos fueron cuidadosamente tratados para extraer el suero y el ADN y posteriormente fueron destruidos mediante esterilización por calor húmedo.

# **CAPÍTULO 6**

## **RESULTADOS**

## 6.1 Resultados.

### 6.1.1 Genotipificación de los individuos de estudio.

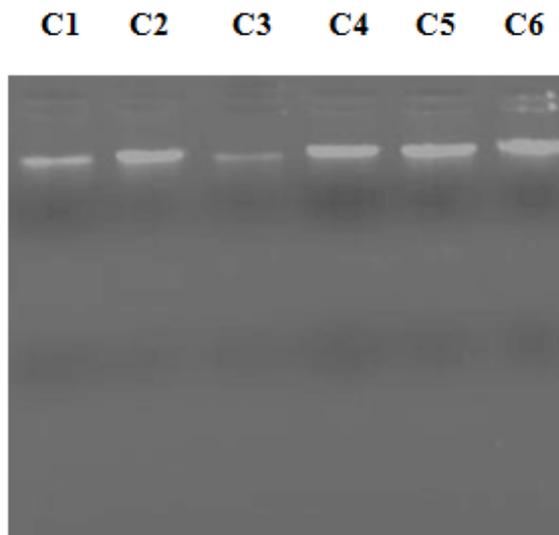


Figura 5. Extracción de ADN genómico de seis de las muestras analizadas en la cual se evidencía la aparición de ADN mostrandolo sin degradación.

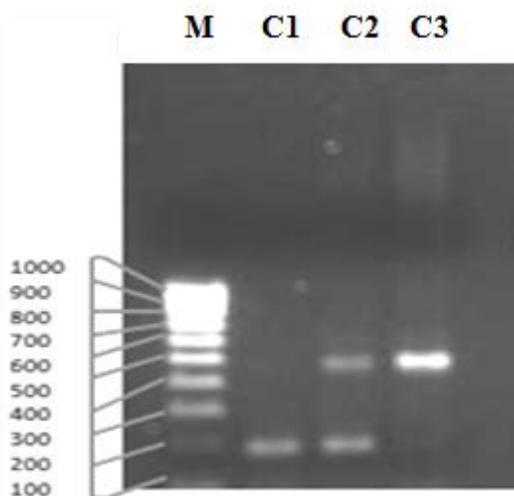
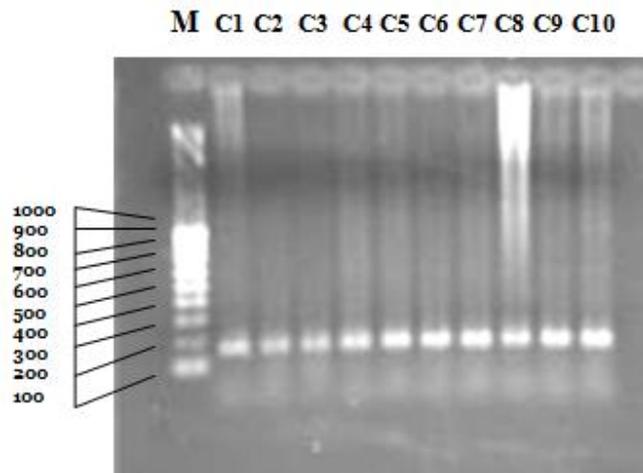
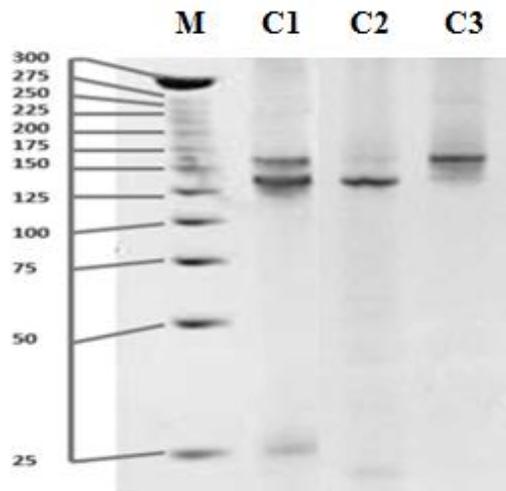


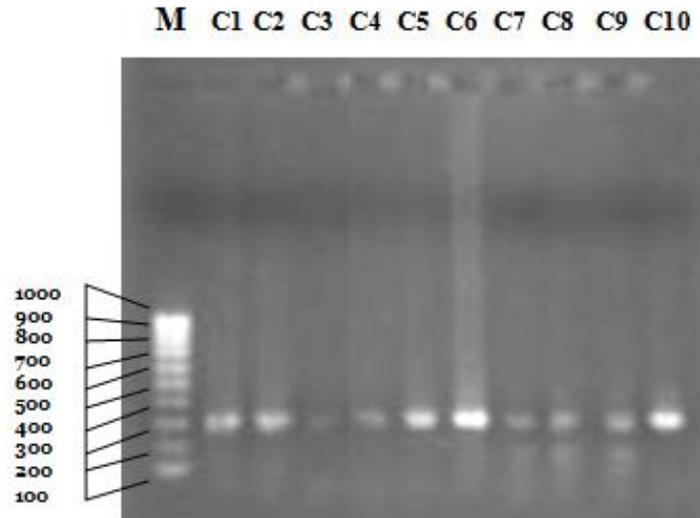
Figura 6. PCR para el polimorfismo I/D del gen de la ECA, en el carril M se encuentra el marcador de peso molecular (100-1000 pb), en el carril C1 se encuentra una muestra con el genotipo DD (banda de 190 pb), en el carril C2 una muestra con el genotipo ID (bandas de 190 y 490 pb) y en el carril C3 una muestra con el genotipo II (banda de 490 pb).



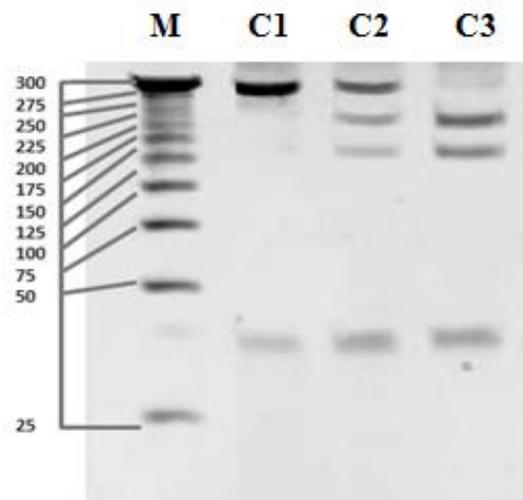
**Figura 7.** PCR para el polimorfismo M235T del gen de la AGT, en el carril M se encuentra el marcador de peso molecular (100-1000 pb), del carril C1 al C10 se encuentran 10 muestras con la banda característica de 165 pb producida por la PCR.



**Figura 8.** Detección del polimorfismo M235T del gen de la AGT, en el carril M se encuentra el marcador de peso molecular (25-300 pb), en el carril C1 se encuentra una muestra con genotipo TM (bandas de 165, 141 y 24 pb) en el carril C2 una muestra con genotipo TT (bandas de 141 y 24 pb) en el carril C3 una muestra con genotipo MM (banda de 165 pb).



**Figura 9.** PCR para el polimorfismo A1166C del gen de los R1ATII, en el carril M se encuentra el marcador de peso molecular (100-1000 pb), del carril C1 al C10 se encuentran 10 muestras con la banda característica de 359 pb producida por la PCR.



**Figura 10.** Detección del polimorfismo A1166C del gen de la R1ATII, en el carril M se encuentra el marcador de peso molecular (25-300 pb), en el carril C1 se encuentra una muestra con genotipo AA (banda de 359 pb), en el carril C2 una muestra con genotipo AC (bandas de 359, 220 y 139) y en el carril C3 una muestra con genotipo CC (bandas de 220 y 139 pb).

### 6.1.2 Datos epidemiológicos

Este estudio incluyó a 244 pacientes seleccionados de forma aleatoria (75 varones y 169 mujeres) de edades comprendidas entre 35 y 83 años. Los pacientes hipertensos fueron 127 (91 mujeres y 36 varones) y 117 pacientes normotensos (78 mujeres y 39 varones). En la Tabla 2 se puede observar algunos de los datos epidemiológicos más relevantes en el estudio.

**Tabla 2. Datos epidemiológicos de la población, <sup>a)</sup> Índice de masa corporal, <sup>b)</sup> Presión arterial sistólica, <sup>c)</sup> Presión arterial diastólica, DE: Desviación estándar.**

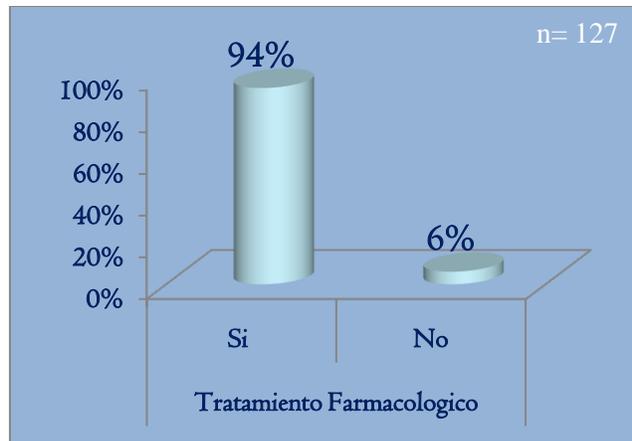
Características del paciente	Hipertensos	Normotensos
Pacientes (número)	127	117
Masculinos (número, %)	36 (28.3)	39 (33.3)
Femeninos (número, %)	91 (71.7)	78 (66.7)
Edad (años, promedio, $\pm$ DE)	63 ( $\pm$ 9.21)	54.81 ( $\pm$ 12.34)
Estatura (m, promedio)	1.68	1.62
Peso (Kg, promedio)	77	74
IMC <sup>a</sup> (Kg/m <sup>2</sup> , promedio, $\pm$ DE)	30.5 ( $\pm$ 5.39)	28.3 ( $\pm$ 5.08)
PAS <sup>b</sup> mmHg ( promedio, $\pm$ DE)	129.5 ( $\pm$ 10.9)	116.7 ( $\pm$ 9.0)
PAD <sup>c</sup> mmHg ( promedio, $\pm$ DE)	68.07 ( $\pm$ 9.2)	68.1 ( $\pm$ 13.0)
Fumadores (número, %)	16 (12.5)	19 (16.2)
Bebedores (número, %)	24 (18.8)	23 (19.6)
DMTII (número, %)	64 (50.3)	52 (44.4)
Hipercolesterolemia (número, %)	35 (27.5)	7 (6)

**Tabla 3. Datos epidemiológicos sobre la variable del sobrepeso de la población total dividida en los 2 grupos de estudio y por sexo. <sup>a)</sup> Índice de masa corporal, DE: Desviación estándar.**

Características del paciente	Hipertensos		Normotensos	
	Masculino	Masculino	Masculino	Femenino
Estatura (m, promedio)	1.67	1.71	1.71	1.56
Peso (Kg, promedio)	84	79	79	74
IMC <sup>a</sup> (Kg/m <sup>2</sup> , promedio, ± DE)	30 (± 4.6)	27 (± 3.8)	27 (± 3.8)	30.7 (± 5.6)

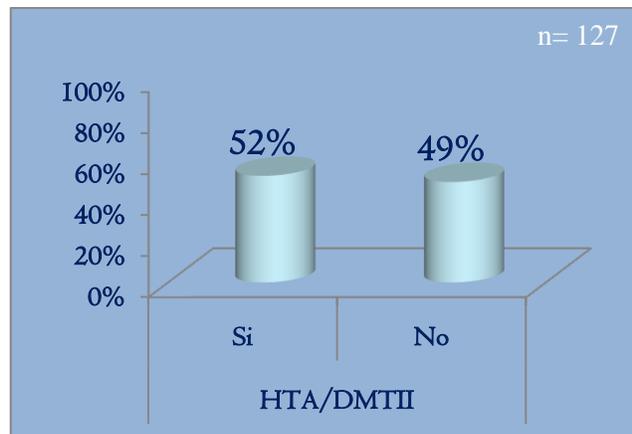
### 6.1.3 Datos de la patología

Algunos datos destacados en esta investigación reflejados hacia la patología de estudio (HTA) son presentados en forma de graficas. En la Figura 11 Se presenta de modo grafico la relación de sujetos hipertensos con y sin tratamiento farmacológico, ya sea en monoterapia o multiterapia y sin hacer diferencia entre el vasto grupo de fármacos antihipertensivos que existen en el mercado; en el cual podemos apreciar que el 94% de los sujetos hipertensos llevan una terapia establecida para su enfermedad contrastada con solo el 6% que no la llevan correctamente. Del 94% el 60% mantienen una monoterapia, siendo el captopril, enalapril y metoprolol los de mayor incidencia entre los pacientes y el 40% tienen establecida una multiterapia de antihipertensivos que por lo general manejan un betabloqueador/IECA, un diurético/IECA, bloqueador de los canales de Ca<sup>2+</sup>/IECA. La Tabla 2 no refleja presiones arteriales, ni sistólicas (129.5 (± 10.9)) o diastólicas (68.07 (± 9.2)) correspondientes a un paciente con HTA (PAS ≥140 y PAD ≥90), ya que como se puede observar en la figura 11 un alto porcentaje de los pacientes con la patología están recibiendo tratamiento farmacológico.

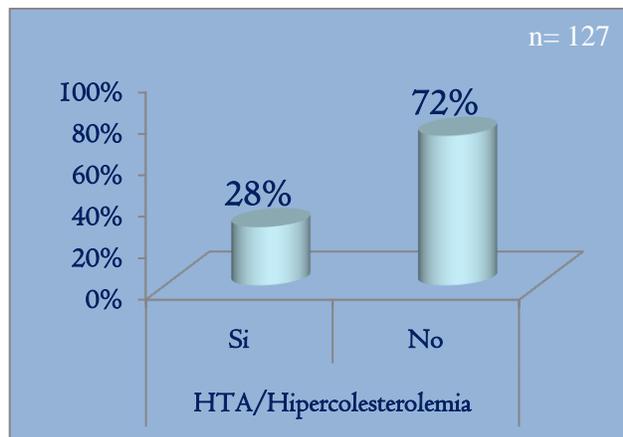


**Figura 11. Sujetos con hipertensión tratados con fármacos antihipertensivos.**

La asociación de la HTA con diferentes patologías puede ser observada en las Figuras 12 y 13 para DMTII e hipercolesterolemia respectivamente, En el caso de la Figura 12 no se observa una diferencia significativa entre el desarrollo de HTA y la aparición DMTII ya que para pacientes hipertensos que además tienen DMTII es casi la mitad de la población con un 52 % contrastado con un 49 % de los hipertensos que no la padecen. En cambio si observamos la Figura 7, los pacientes hipertensos que además tienen hipercolesterolemia es solo del 28% en contra de un 72% de los hipertensos que no la padecen.

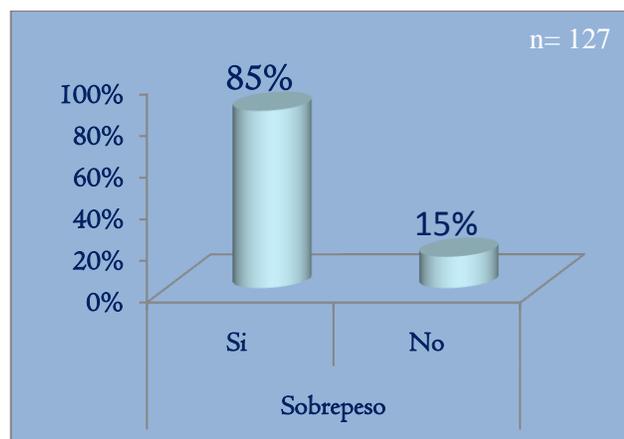


**Figura 12. Asociación de pacientes hipertensos con DMTII.**



**Figura 13. Asociación de pacientes hipertensos con hipercolesterolemia.**

El sobrepeso es uno de los factores más importantes en el desarrollo de la HTA; en la Figura 14 a modo de gráfica se observa que en el caso de sujetos con hipertensión la variación entre personas con sobrepeso ( $IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) y con un índice normal ( $IMC < 25 \text{ kg/m}^2$ ) es de 85% y 15 %, respectivamente.



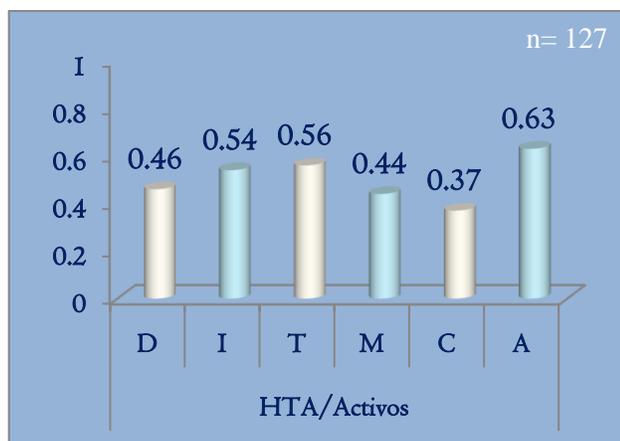
**Figura 14. Sujetos hipertensos y el sobrepeso.**

En la Figura 15 se puede observar que el 63% de los hipertensos no practican ningún tipo de actividad física, el 35% manifiestan ser activos sin llegar a ser deportistas y solo el 2% de los hipertensos practican algún deporte.

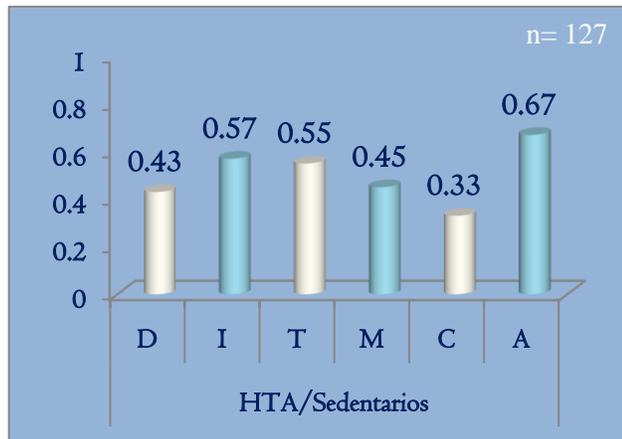


**Figura 15. Sujetos con hipertensión según su actividad física.**

Las Figuras 16 y 17 muestran la frecuencia alélica de los diferentes polimorfismos (I y D para I/D, T y M para M235T y C y A para A1166C) para el grupo de sedentarios y activos (activo + deportes) ambos grupos de hipertensos en el estudio, en la figura 16 se puede observar la frecuencia de los alelos de predisposición para los hipertensos que tienen una vida sedentaria (D 0.46, T 0.56 y C 0.37) y en la Figura 17 las frecuencias alélicas fueron D 0.43, T 0.55 y C 0.33, mostrándose en cada gráfica ambos alelos, tanto el de predisposición como se maneja en la literatura así como el que no se ha encontrado alguna relación con la enfermedad.

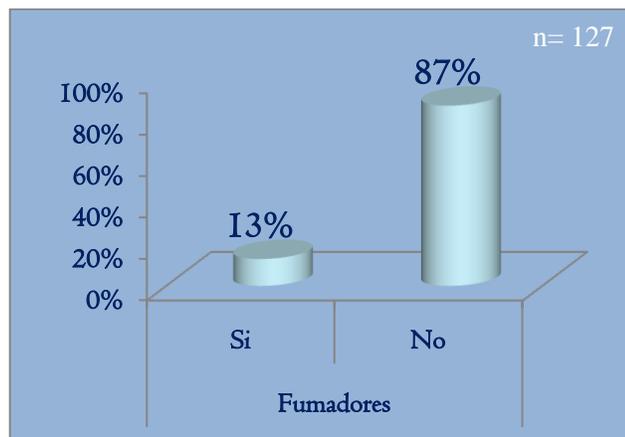


**Figura 16. Frecuencia alélica de sujetos con actividad física e hipertensión.**

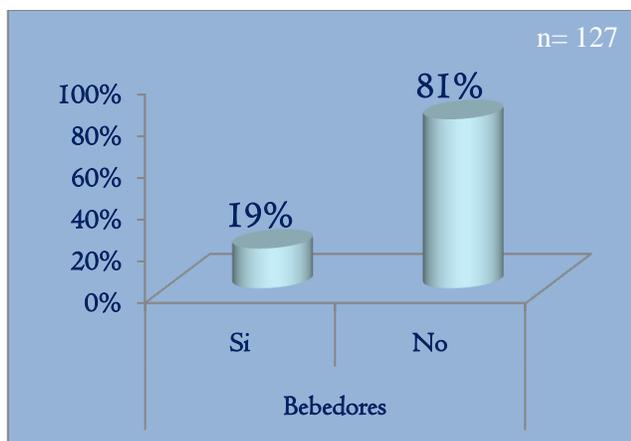


**Figura 17. Frecuencia alélica de sujetos sedentarios con hipertensión.**

Las Figuras 18 y 19 hacen mención de la relación que se maneja entre el desarrollo de HTA y el consumo de tabaco y alcohol respectivamente; en estos gráficos podemos observar los porcentajes de incidencia de cada uno de los hábitos, en el caso de los sujetos con la patología de estudio el 13% son consumidores de tabaco y el 19 % son bebedores, en cambio el 71.7% así como el 66.7% no consumen tabaco ni alcohol respectivamente.

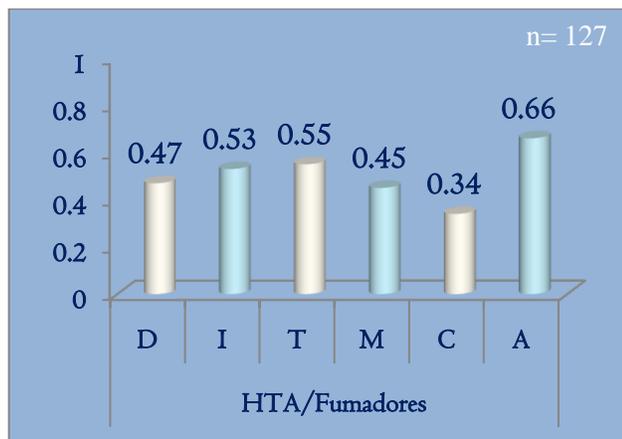


**Figura 18. Sujetos con hipertensión y su asociación con el tabaco.**

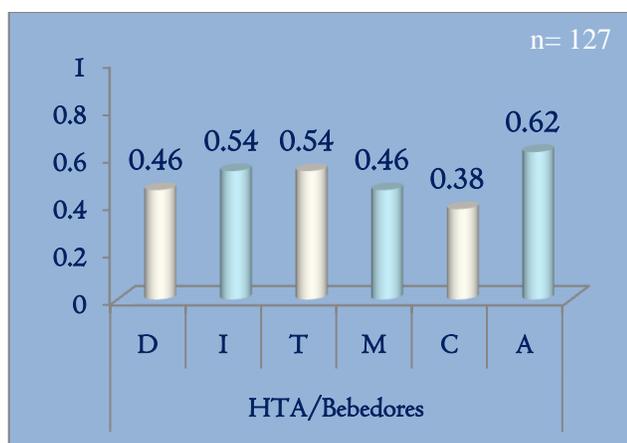


**Figura 19. Sujetos con hipertensión y su asociación con el alcohol.**

En las Figuras 20 y 21 se muestra la frecuencia alélica de los diferentes polimorfismos I y D para I/D, T y M para M235T y C y A para A1166C para ambos hábitos en el grupo de hipertensos en el estudio, en la Figura 20 se puede observar la frecuencia de los alelos de predisposición para los hipertensos fumadores (D 0.47, T 0.55 y C 0.34) y en la Figura 21 las frecuencias alélicas fueron D 0.46, T 0.54 y C 0.38, mostrándose en cada gráfica ambos alelos tanto el de predisposición como es manejado en la literatura así como el que no se ha encontrado alguna relación con la enfermedad.



**Figura 20. Frecuencia alélica de los pacientes hipertensos fumadores.**



**Figura 21. Frecuencia alélica de los pacientes hipertensos bebedores.**

#### 6.1.4 Polimorfismo I/D del gen de la Enzima Convertidora de Angiotensina

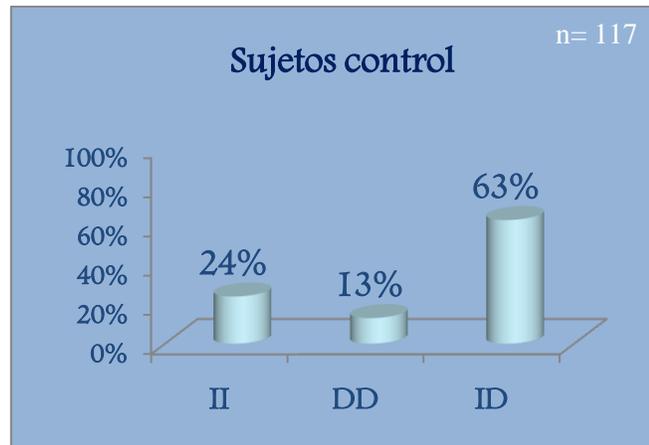
Para el análisis de los resultados de éste y los demás polimorfismos (M235T y A1166C) se realizó una separación de la población total entre hipertensos y normotensos o grupo control y de esta manera se obtuvieron los siguientes resultados (Tabla 4).

**Tabla 4. Presencia del polimorfismo I/D en la población de estudio.**

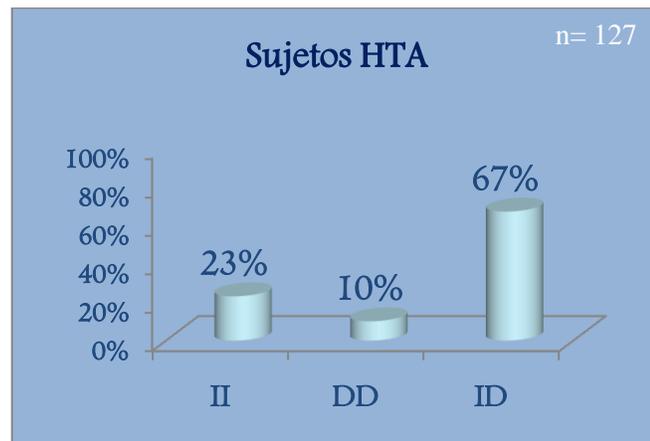
ECA	Hipertensos	Normotensos	Fisher p	Chi <sup>2</sup> 1.025	OR (95%IC)	Total
<b>II</b>	29 (23%)	28 (24%)	0.765		0.89 (0.49-1.61)	57
<b>DD</b>	13 (10%)	15 (13%)	0.434		0.72 (0.33-1.56)	28
<b>ID</b>	85 (67%)	74 (63%)	0.592		1.17 (0.69-1.99)	159
<b>Total</b>	127	117				244

La genotipificación de los sujetos control se ejemplifica en la Figura 22 de manera gráfica, los porcentajes para cada genotipo 24% II, 13% DD y 63% ID, los resultados para los sujetos con HTA se observan en la Figura 23 con los siguientes resultados 23% II, 10% DD y 67% ID. La variabilidad entre los genotipos que contienen el alelo D de

predisposición en ambas poblaciones no mantiene una tendencia hacia un aumento de este alelo en la población hipertensa.



**Figura 22. Genotipificación de la población normotensa para I/D.**



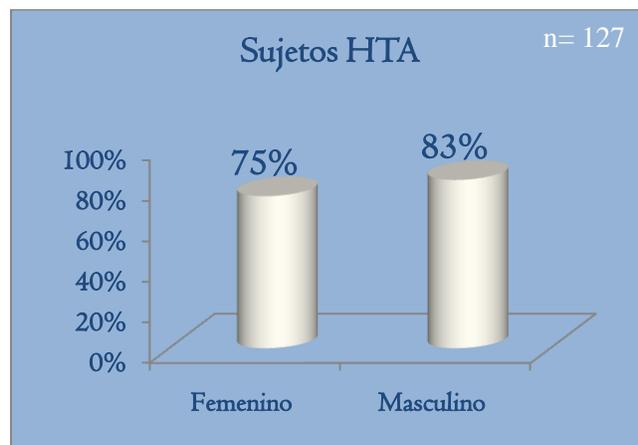
**Figura 23. Genotipificación de la población hipertensa para I/D.**

**Tabla 5. Relación entre la variable del sexo y el genotipo I/D.**

M: masculino F: femenino.

Sexo	II	DD	ID	Total
<b>M (HTA/No HTA)</b>	6/11	4/3	26/25	36/39
<b>F (HTA/No HTA)</b>	23/17	9/12	59/49	91/78
<b>Total</b>	29/28	13/15	85/74	127/117

En la Tabla 5 se puede analizar la relación entre la variable del sexo y la aparición de los diferentes genotipos en las dos poblaciones de estudio que se pueden presentar en el polimorfismo I/D de la ECA. La prevalencia del alelo de predisposición (D) en los genotipos que lo contienen mantiene una variabilidad entre los pacientes hipertensos tomando en cuenta el sexo; así lo demuestra la Figura 24, en la cual podemos observar un porcentaje mayor en los hombres (83%) con HTA que en las mujeres (75%) con HTA y los controles con un 72% y 78% para hombres y mujeres respectivamente ( $X^2= 1.178$   $p= 0.5549$ ).

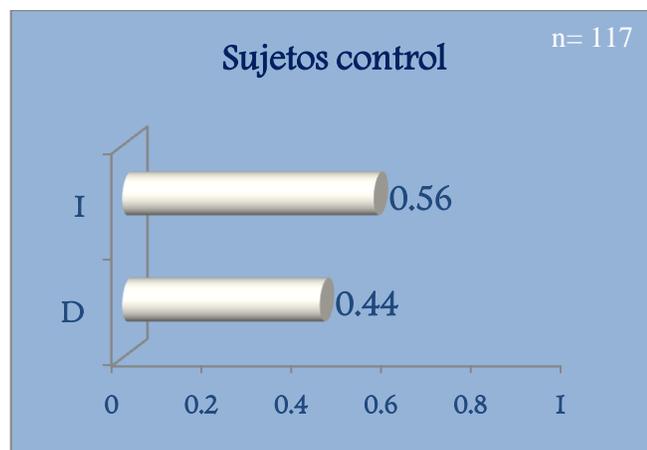


**Figura 24. Variabilidad de los genotipos ID y DD en pacientes con HTA y el sexo.**

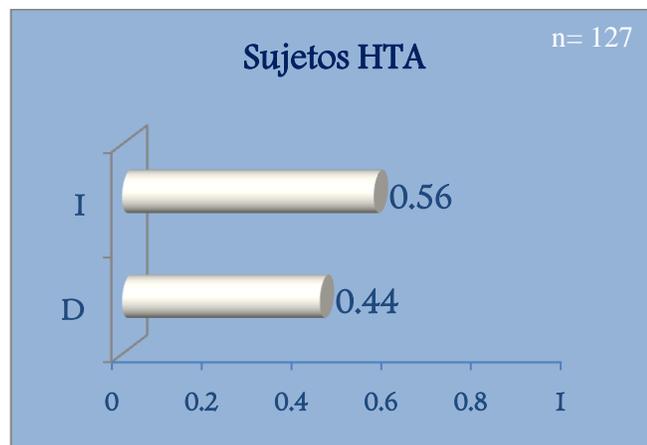
#### **6.1.4.1 Frecuencia del alelo D y comparación en pacientes con DMTII**

A partir de los resultados de la distribución de los tres genotipos para el polimorfismo I/D, se optó por determinar la frecuencia de los alelos involucrados en estos genotipos y establecer si el alelo de predisposición estaba en mayor frecuencia en la población hipertensa.

La distribución de las diferentes frecuencias se puede observar en las Figuras 25 y 26 para los sujetos control como para los hipertensos respectivamente, en donde no se encuentra una diferencia significativa ya que en ambas poblaciones la frecuencia es la misma, para la hipertensa I: 0.56 D: 0.44 y la normotensa con I: 0.56 D: 0.44, y el alelo D de predisposición esta en la misma frecuencia en los dos grupos de estudio (OR= 1.06 y RRG= 1.04).

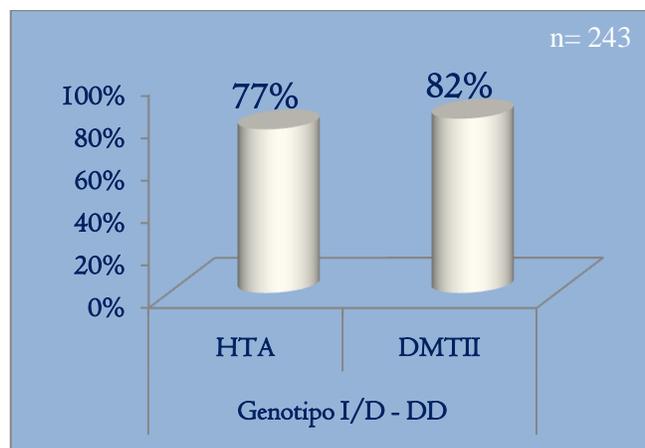


**Figura 25. Frecuencia alélica de I/D para los sujetos normotensos.**

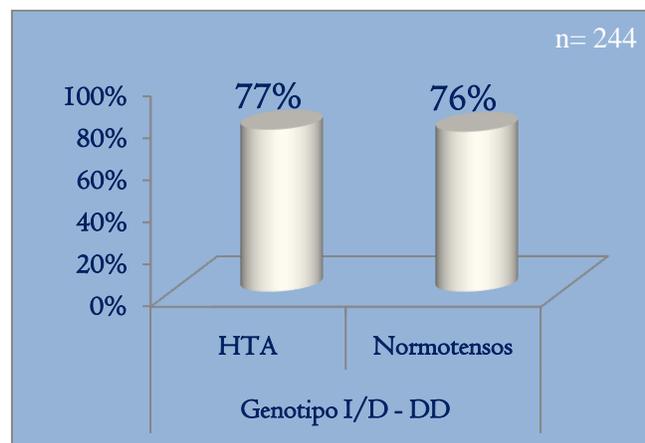


**Figura 26. Frecuencia alélica de I/D para los sujetos hipertensos.**

La Figura 27 separa un grupo de sujetos con HTA y uno con DMTII en donde se han sumado los porcentajes que contienen el alelo de predisposición en ellos (ID y DD) pudiendo observar que el grupo con DMTII (82%) tiene un mayor porcentaje de estos genotipos que el grupo de hipertensos (77%), a diferencia del grupo de hipertensos (77%) y el grupo de normotensos (76%) donde no hubo diferencia significativa entre estos dos grupos (figura 28).

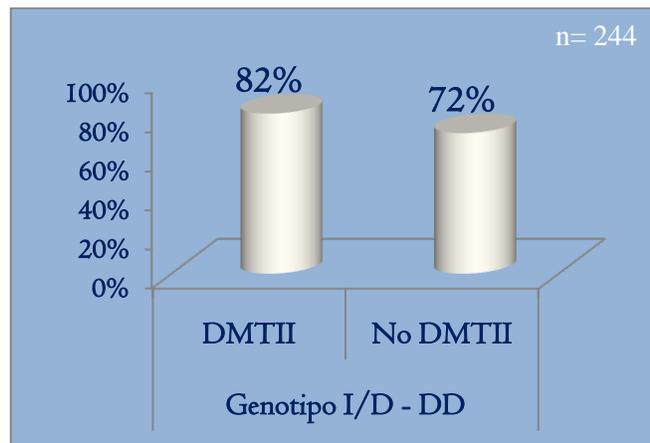


**Figura 27. Comparación genotípica (I/D y D/D) de un grupo de hipertensos vs. grupo con DMTII.**



**Figura 28. Comparación genotípica (I/D y D/D) de un grupo de hipertensos vs. normotensos.**

Analizando los resultados de las Figuras 27 y 28, se decidió comparar un grupo con DMTII y otro sin DMTII (Figura 29) y los datos que se encontraron fueron 82% y 72% respectivamente observando una clara diferencia al igual que en la comparación entre el grupo con DMTI y el grupo con HTA, distinguiendo un porcentaje mas elevado en el grupo con DMTII con el alelo D de predisposición genética.



**Figura 29. Comparación genotípica (I/D y D/D) de un grupo de DMTII vs. No DMTII.**

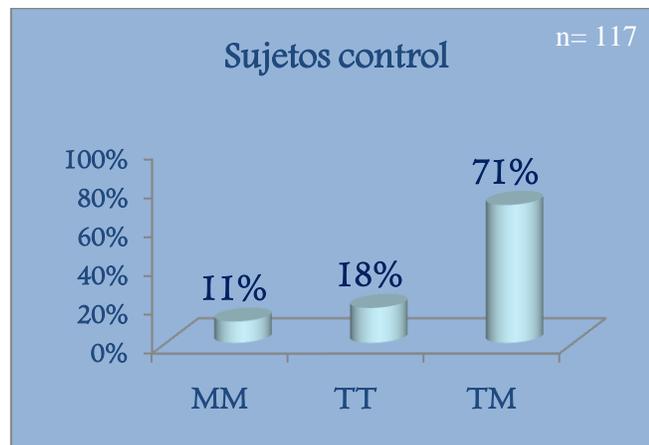
### **6.1.5 Polimorfismo M235T del gen del Angiotensinógeno**

La presencia del polimorfismo M235T en la población, está indicada en la Tabla 6, en correspondencia al grupo de hipertensos y normotensos con base en la población total.

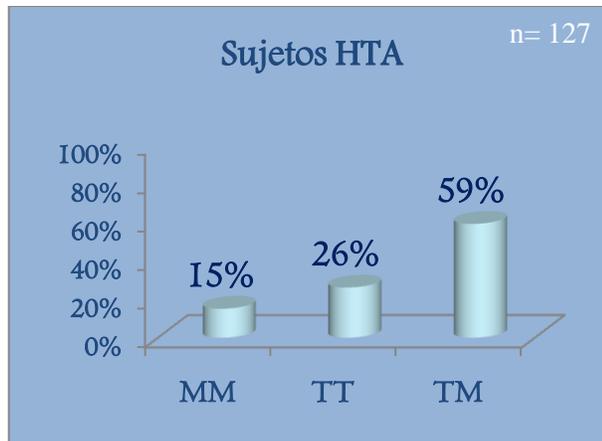
**Tabla 6. Presencia del polimorfismo M235T en la población de estudio.**

M235T	Hipertensos	Normotensos	Fisher p	Chi <sup>2</sup> 7.586	OR (95%IC)	Total
<b>TM</b>	75 (59%)	83 (71%)	0.044		0.56 (0.33-0.96)	154
<b>MM</b>	19 (15%)	13 (11%)	0.576		1.29 (0.61-2.71)	32
<b>TT</b>	33 (26%)	21 (18%)	0.220		1.51 (0.82-2.79)	54
<b>Total</b>	127	117				244

La genotipificación de los sujetos control se ejemplifica en la Figura 30 de manera gráfica, los porcentajes para cada genotipo 11% MM, 18% TT y 71% TM, los resultados para los sujetos con HTA se observa en la Figura 31 con los siguientes resultados 15% MM, 26% TT y 59% TM. Estas figuras no muestran diferencia significativa entre el alelo de predisposición (T) y la otra variante (M).



**Figura 30. Genotipificación de la población normotensa para M235T.**



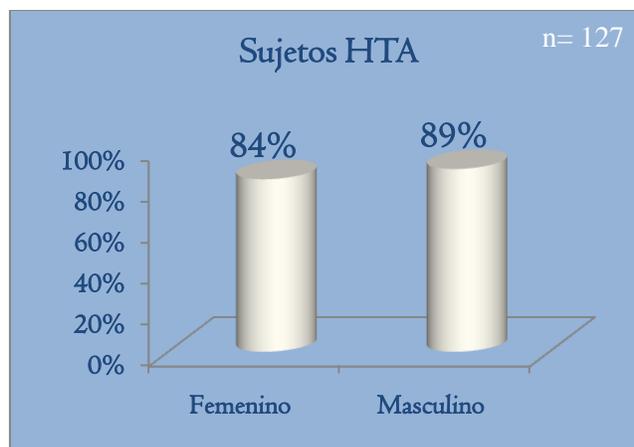
**Figura 31. Genotipificación de la población hipertensa para M235T.**

En la Tabla 7 se puede analizar la relación entre la variable del sexo y la aparición de los diferentes genotipos que se pueden presentar en las dos poblaciones de estudio en el polimorfismo M235T del angiotensinógeno.

**Tabla 7. Relación entre la variable del sexo y el genotipo M235T.  
M: masculino F: femenino.**

Sexo	MM	TT	TM	Total
<b>M (HTA/No HTA)</b>	4/5	11/6	21/28	36/39
<b>F (HTA/No HTA)</b>	15/8	22/15	54/55	91/78
<b>Total</b>	19/13	33/21	75/83	127/117

Para los genotipos TM y TT la prevalencia del alelo de predisposición mantiene una variabilidad entre los pacientes hipertensos tomando en cuenta el sexo y esto se ve reflejado en la Figura 32, en donde podemos ver que existe un porcentaje ligeramente mayor en los hombres (89%) con HTA que en las mujeres (84%) con HTA y los controles con un 87% y 89% para hombres y mujeres respectivamente ( $X^2= 0.244$   $p= 0.8849$ ).

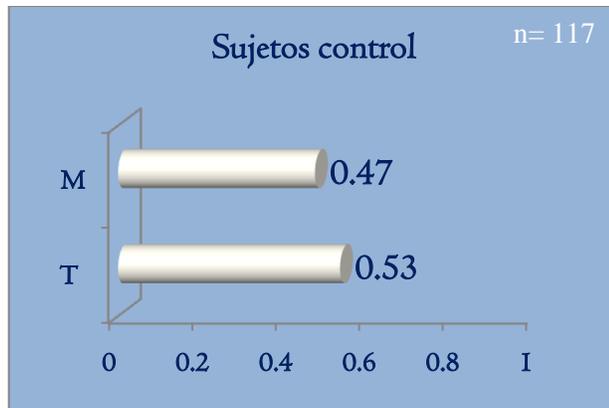


**Figura 32. Variabilidad de los genotipos TM y TT en pacientes con HTA y el sexo.**

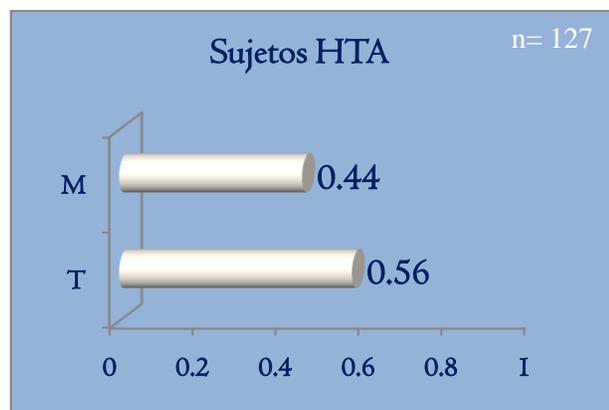
#### **6.1.5.1 Frecuencia del alelo T y comparación en pacientes con DMTH**

Las frecuencias alélicas para el polimorfismo M235T se obtuvieron a partir de los resultados de la distribución de los tres genotipos (MM, TT y TM), para después saber si la frecuencia de los alelos involucrados en estos genotipos establecía si el alelo de predisposición (T) estaba en mayor frecuencia en la población hipertensa.

En las Figuras 33 y 34 se encuentran graficadas las frecuencias alélicas tanto para el alelo M como para el T con el fin de establecer diferencias entre los grupos de estudios en el caso del grupo control (Figura 33) los alelos M y T tuvieron una frecuencia de 0.47 y 0.53 respectivamente en el grupo con HTA (Figura 34) para el alelo M fue de 0.44 y para el alelo T fue de 0.56, encontrándose en mayor incidencia el alelo de predisposición (T) en la población con HTA (OR= 0.70 y RRG= 0.85).

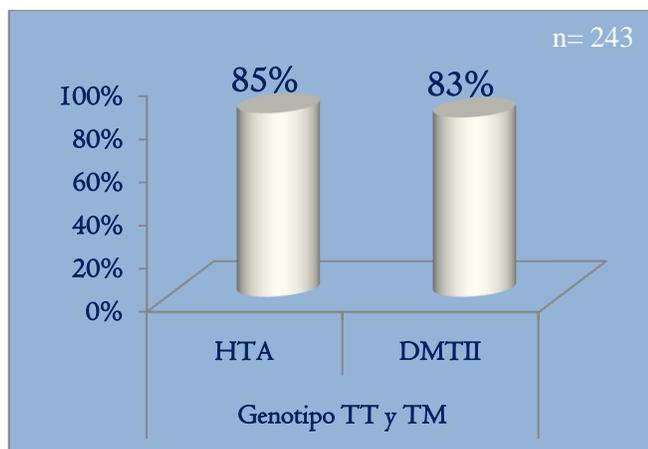


**Figura 33. Frecuencia alélica de M235T para los sujetos normotensos.**

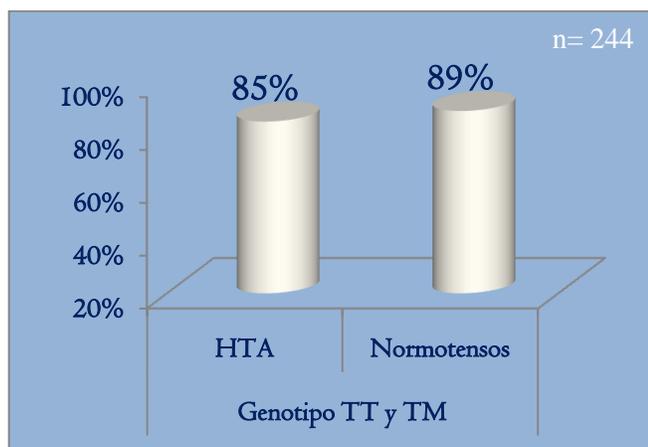


**Figura 34. Frecuencia alélica de M235T para los sujetos hipertensos.**

El objetivo de la Figura 35 fue separar un grupo de sujetos con HTA y uno con DMTII en donde se han sumado los porcentajes de los genotipos (TT y TM) que contienen el alelo de predisposición en la que observamos que el grupo con DMTII (83%) tiene un menor porcentaje de estos genotipos que el grupo de hipertensos (85%), a diferencia del grupo de hipertensos (85%) y el grupo de normotensos (89%) donde en el grupo control hubo un mayor porcentaje de estos genotipos (Figura 36) pero sin ser significativo.

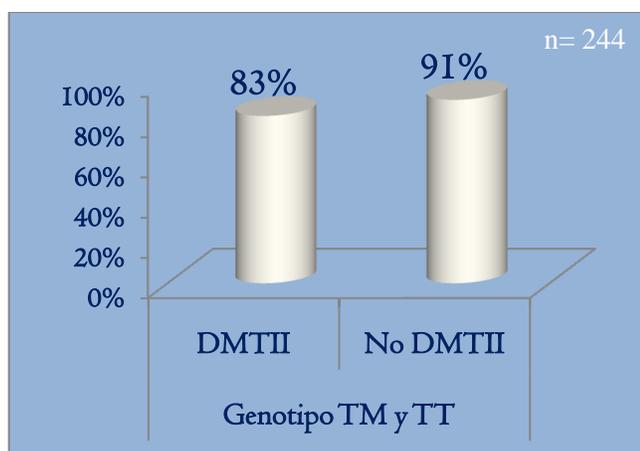


**Figura 35. Comparación genotípica (TM y TT) de un grupo de hipertensos vs. grupo con DMTII.**



**Figura 36. Comparación genotípica (TM y TT) de un grupo de hipertensos vs. normotensos.**

En la Figura 37 se analiza y contrasta los resultados de las Figuras 35 y 36 en la cual se comparan un grupo con DMTII (83%) y otro sin DMTII (91%) observandose un mayor porcentaje en el grupo control (No DMTII) y para ambos grupos control normotensos y no DMTII el porcentaje es mayor comparado con los grupos de estudio (HTA) en los que se esperaría un mayor porcentaje del alelo T de predisposición.



**Figura 37. Comparación genotípica (TM y TT) de un grupo de DMTII vs. No DMTII.**

### 6.1.6 Polimorfismo A1166C del gen de los Receptores 1 de Angiotensina II

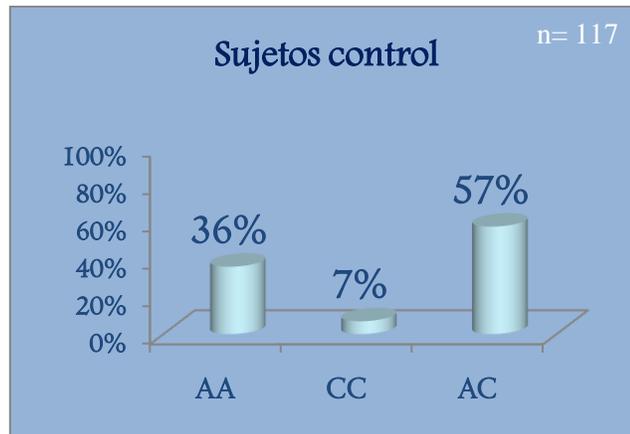
La Tabla 8 representa la presencia del polimorfismo A1166C en la población correspondiente al grupo de hipertensos y normotensos con base en la población total.

**Tabla 8. Presencia del polimorfismo A1166C en la población de estudio.**

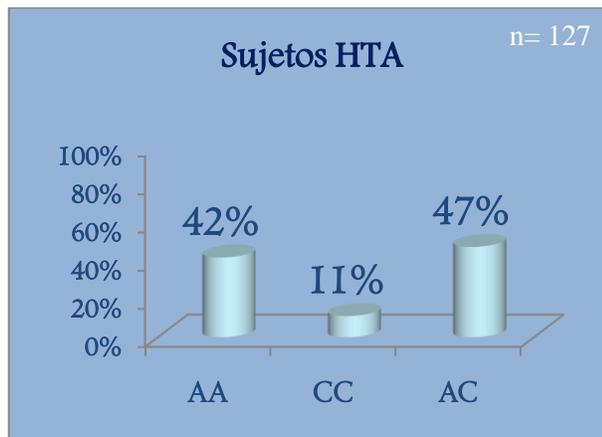
A1166C	Hipertensos	Normotensos	Fisher p	Chi <sup>2</sup> 5.782	OR (95%IC)	Total
AC	60 (47%)	67 (57%)	0.097		0.64 (0.38-1.07)	127
CC	14 (11%)	8 (7%)	0.273		1.68 (0.68-4.18)	22
AA	53 (42%)	42 (36%)	0.435		1.23 (0.73-2.06)	95
<b>Total</b>	127	117				244

La genotipificación de los sujetos control se ejemplifica en la figura 38 de manera grafica, los porcentajes para cada genotipo 36% AA, 7% CC y 57% AC, los resultados para los sujetos con HTA se observa en la Figura 39 con los siguientes resultados 42% AA, 11% CC y 47% AC, siendo poco representativo el alelo C el cual se

ha mostrado en diferentes estudios que se encuentra en mayor proporción en poblaciones con HTA.



**Figura 38. Genotipificación de la población normotensa para A1166C.**



**Figura 39. Genotipificación de la población hipertensa para A1166C.**

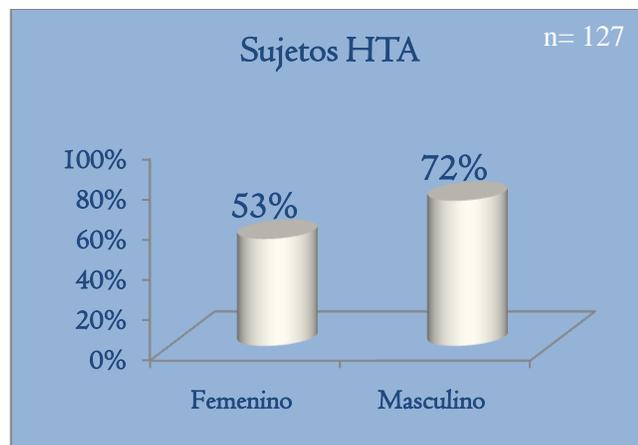
En la Tabla 9 se puede analizar la relación entre la variable del sexo y la aparición de los diferentes genotipos que se pueden presentar en las dos poblaciones de estudio en el polimorfismo A1166C de los R1A111.

**Tabla 9. Relación entre la variable del sexo y el genotipo A1166C.**

Sexo	AA	CC	AC	Total
M (HTA/No HTA)	10/16	6/1	20/22	36/39
F (HTA/No HTA)	43/26	8/7	40/45	91/78
<b>Total</b>	53/42	14/8	60/67	127/117

**M: masculino F: femenino.**

Para el polimorfismo A1166C el alelo C se mantiene en los genotipos AC y CC heterocigoto y homocigoto respectivamente, la prevalencia de este alelo de predisposición varía entre los pacientes hipertensos tomando en cuenta el sexo (Figura 40) donde podemos ver claramente que existe un porcentaje mayor en los hombres (72%) con HTA que en las mujeres (53%) con HTA y los controles con un 58% y 66% para hombres y mujeres respectivamente ( $X^2 = 1.686$   $p = 0.4302$ ).



**Figura 40. Variabilidad de los genotipos AC y CC en pacientes con HTA y el sexo.**

### 6.1.6.1 Frecuencia del alelo C y comparación en pacientes con DMTII

Los alelos A y C se establecieron mediante frecuencias para el polimorfismo A1166C y se obtuvieron a partir de los resultados de la distribución de los tres genotipos

de estudio (CC, AA y AC), para después verificar si el alelo de predisposición (C) estaba en mayor frecuencia en la población hipertensa o en la normotensa.

Las graficas de las Figuras 41 y 42 representan las frecuencias alélicas tanto para los alelos C y A en los dos grupos en que se dividió la población (normotensos e hipertensos); en la Figura 41 observamos que los alelos C y A tuvieron una frecuencia de 0.35 y 0.65 respectivamente en el grupo control; en la Figura 42 (grupo de hipertensos) se puede ver el mismo comportamiento (OR= 0.78 y RRG= 0.90).

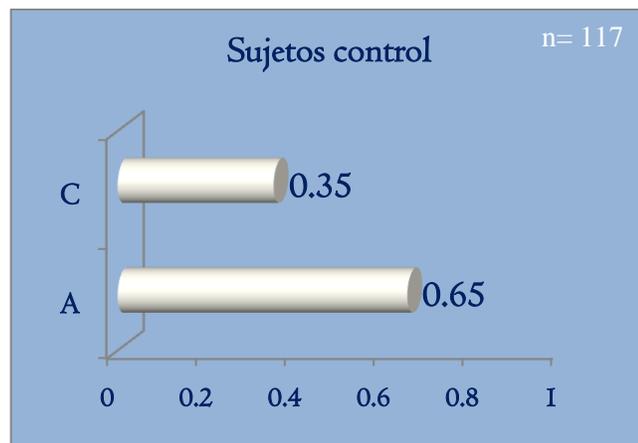


Figura 41. Frecuencia alélica de A1166C para los sujetos control.

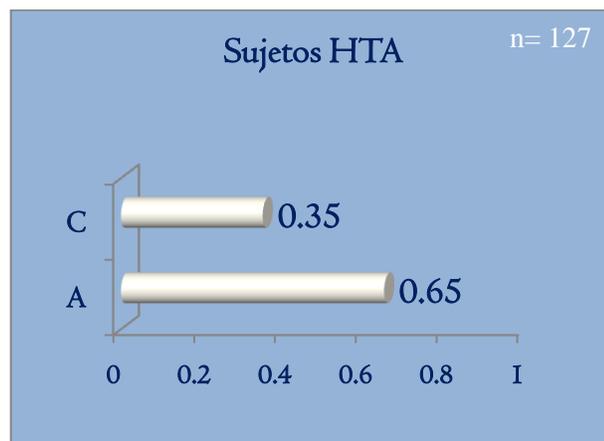
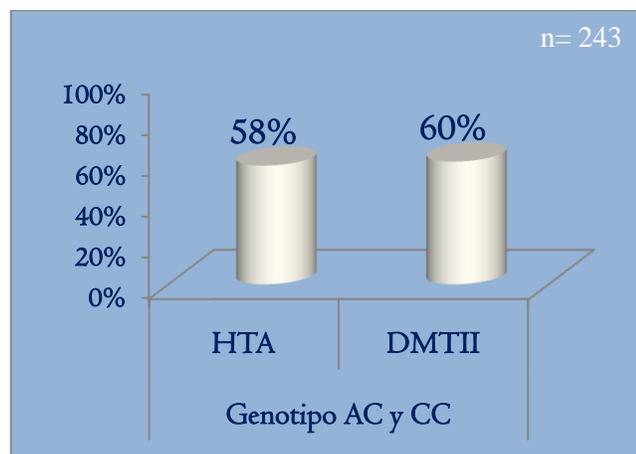
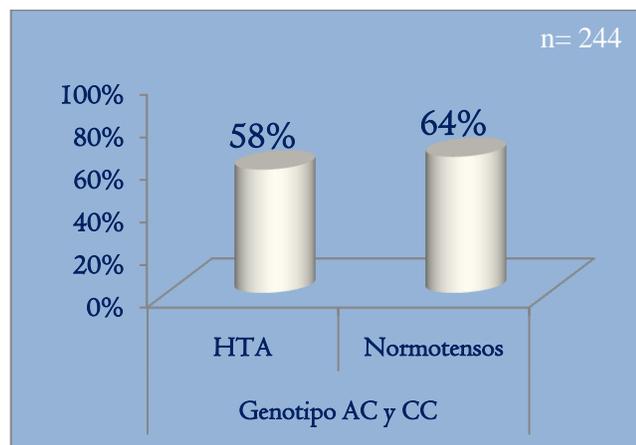


Figura 42. Frecuencia alélica de A1166C para los sujetos hipertensos.

En la Figura 43 se puede ver la separación del grupo de hipertensos y otro de pacientes con DMTII en donde se han sumado los porcentajes de los genotipos (CC y AC) que contienen el alelo de predisposición (C) en la que observamos que el grupo con DMTII (60%) tiene un mayor porcentaje de estos genotipos que el grupo de hipertensos (58%), al igual que el grupo de hipertensos (58%) y el grupo de normotensos (64%) este último se puede observar en la Figura 44.

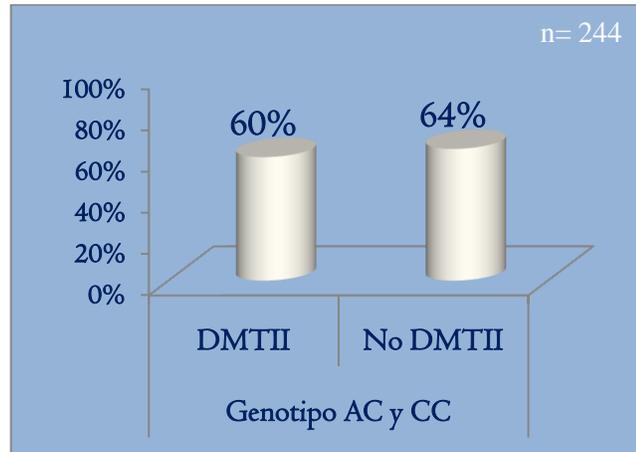


**Figura 43. Comparación genotípica (AC y CC) grupo de hipertensos vs. grupo con DMTII.**



**Figura 44. Comparación genotípica (AC y CC) grupo de hipertensos vs. Normotensos.**

La Figura 45 sigue el mismo patrón del polimorfismo M235T en el cual los grupos control presentan un porcentaje mas alto de los genotipos (AC y CC) con el alelo de predisposición que se esperaría para el grupo de estudio (HTA).



**Figura 45. Comparación genotípica (AC y CC) grupo de DMTII vs. No DMTII.**

# **CAPÍTULO 7**

## **DISCUSIÓN**

## 7.1 Discusión

En este estudio, el objetivo fue investigar la asociación entre el polimorfismo del gen de la Enzima Convertidora de Angiotensina (I/D), el polimorfismo del gen del angiotensinógeno (M235T) y el polimorfismo del gen de los receptores 1 de angiotensina II (A1166C) en pacientes hipertensos del noreste de México.

Para el polimorfismo I/D del gen de la ECA, la frecuencia del alelo D (delección) se encontró en la misma proporción en los pacientes hipertensos que en los sujetos control con 0.44 (OR= 1.06 y RRG= 1.04). Cuando se compara el alelo D entre los dos grupos de la población de estudio con lo publicado por otros autores se encuentra que la frecuencia del alelo en normotensos es mayor que en hipertensos (Tsai *et al.*, 2003), (Settin *et al.*, 2009), (Salazar *et al.*, 2009), en cambio (Turner *et al.*, 1999), (Sierra *et al.*, 2002), (Agachan *et al.*, 2003), otros investigadores encontraron que la relación era inversa, la mayoría de las publicaciones se centran en el estudio de etnias puras o con poco nivel de mestizaje, quizá eso pudiera estar reflejando la diferencia entre los estudios que presentan el alelo D como el de predisposición en la enfermedad, ya que nuestra población de estudio tiene un alto índice de mestizaje y un movimiento migratorio alto y esto pudiera ser la razón de la variación de nuestro resultados con los ya publicados.

Los porcentajes genotípicos para el polimorfismo I/D para nuestra población fueron 24% II, 67% ID y 10% DD (pacientes con hipertensión) y 23% II, 63% ID y 13% DD (pacientes normotensos). En comparación con los controles, los casos tenían una

frecuencia mayor del genotipo DD (10% vs 13%,  $p > 0,05$ , OR= 0.72, IC 95% 0-33-1.56), pero con una frecuencia significativamente mayor del genotipo ID (67% vs 63%,  $p > 0,05$ , OR= 1.17, IC 95% 0.69-1.99). Por otra parte, los casos mostraron una mayor frecuencia del genotipo II que los controles, pero esto no fue estadísticamente significativa (23% vs 24%,  $p > 0,05$ , OR= 0.89, IC 95% 0.49-1.61). Los estudios realizados para estos genotipos en otras publicaciones reflejan un alto porcentaje de los genotipos ID y DD en la población hipertensa (Teresa *et al.*, 2003), (Agachan *et al.*, 2003) y (Galvnik *et al.*, 2007), esto en estudios europeos y en investigaciones asiáticas (Lee *et al.*, 1994), (Pasha *et al.*, 2002) y (Gupta *et al.*, 2009), aunque también hay algunas publicaciones en las que han descrito porcentajes bajos de los genotipos ID y DD (Mondry *et al.*, 2005) y (Polupanov *et al.*, 2007), en etnias europeas (Ishigami *et al.*, 1997), (Pasha *et al.*, 2002) y (Randhawa *et al.*, 2006) en etnias asiáticas, demostrando una gran variabilidad en los resultados.

En el caso del polimorfismo M235T del gen del AGT, la frecuencia del alelo T se encontró con un ligero aumento en los pacientes hipertensos que en los sujetos control pero no fue significativo con 0.56 vs. 0.53 (OR= 0.70 y RRG= 0.85). Cuando se compara el alelo T entre los dos grupos de la población de estudio con lo que se ha publicado anteriormente por otros autores, se encontró que la frecuencia del alelo de predisposición fue mayor (Rotimi *et al.*, 1994), (Procopciuc *et al.*, 2003), (Goldenberg *et al.*, 2006) y una menor frecuencia (Kishimoto *et al.*, 2001), (Agachan *et al.*, 2003), (Tsai *et al.*, 2003) y (Lévesque *et al.*, 2003), por otros específicamente este alelo se ha encontrado por algunos en mayor proporción en la raza negra y dentro de ella cambia la frecuencia de la aparición de éste, dependiendo de la región en donde el paciente creció

y se desarrolló, como en el caso de Rotimi *et al.*, 1994, el cual nos explica que en los individuos de raza negra de ascendencia africana occidental comparten una común ascendencia genética, por otra parte Ward *et al.*, 1993 determinó que la frecuencia del alelo 235T en afroamericanos dependía de la poca o nula mezcla con europeos, al igual que pasa con nuestra población en la cual la mezcla es bastante alta y la variabilidad se ve reflejada en los resultados.

Los porcentajes genotípicos para el polimorfismo M235T en nuestra población fueron 15% MM, 26% TT y 59% TM (pacientes con hipertensión) y 11% MM, 18% TT y 71% TM (pacientes normotensos). En comparación con los controles, los casos tenían una frecuencia mayor del genotipo TT (26% vs 18%,  $p > 0,05$ , OR= 1.51, IC 95% 0.82-2.79), MM (15% vs 11%,  $p > 0,05$ , OR= 1,29, IC 95% 0.61-2.71). Por otra parte, los casos mostraron una mayor frecuencia del genotipo TM que los controles (59% vs 71%,  $p > 0,05$ , OR= 0.56, IC 95% 0.33-0.96). Otras investigaciones hechas para estos genotipos en otras publicaciones reflejan un alto porcentaje de los genotipos TM y TT en la población hipertensa colocando al alelo T como el alelo de predisposición (Lizaraso *et al.*, 2003), (Pereira *et al.*, 2003), (Tsai *et al.*, 2006), (Basarici *et al.*, 2007), en cambio hay publicaciones que reflejan resultados contrarios (Tiret *et al.*, 1995), (Boerwinkle *et al.*, 1995), (Tobin *et al.*, 2004), (Yee-How *et al.*, 2005). El meta-análisis hecho por Zafarmand *et al.*, 2008 muestra una gran variabilidad entre los porcentajes de los genotipos estudiados en una serie de investigaciones principalmente europeas y asiáticas, reflejando de esta manera que el desarrollo de la enfermedad es un conjunto de factores que interactúan para la aparición de ésta ya que entre las etnias europeas y asiáticas estudiadas hay diferencias muy grandes en la genotipificación de este

polimorfismo entre regiones muy cercanas geográficamente, recalcando el hecho de estudiarlo en conjunto con los factores que rodean a la persona, se puede llegar a relacionar la enfermedad con estos polimorfismos.

Para el polimorfismo A1166C del gen de R1ATII, la frecuencia del alelo C de predisposición se encontró en la misma proporción en los sujetos control que en los pacientes hipertensos con 0.35 (OR= 0.78 y RRG= 0.90). Al comparar el alelo C entre los dos grupos estudiados en esta población con los datos publicados por otras investigaciones se logró encontrar que la frecuencia del alelo de predisposición es mayor en hipertensos (Bonnardeaux et al., 1994), (Agachan et al., 2003), (Tsai et al., 2003) y (Lu et al., 2005), y menor en (Araújo et al., 2004), (Bellwon et al., 2005) y (Jung et al., 2008). Nuestro estudio sigue la misma línea de estos tres últimos trabajos en los cuales describen una frecuencia del alelo C menor en la población hipertensa pero sin dejar a un lado la predisposición de éste en el desarrollo de la enfermedad; al igual que nosotros ellos proponen englobar los factores que rodean al paciente y sumarlos para analizar el riesgo relativo genético (RRG) de este alelo para la hipertensión.

Los porcentajes genotípicos para el polimorfismo A1166C en nuestra población fueron 57% AA, 7% CC y 36% AC (pacientes con hipertensión) y 42% AA, 11% CC y 42% AC (pacientes normotensos). En comparación con los controles, los casos tenían una frecuencia mayor del genotipo AA (42% vs 36%,  $p > 0,05$ , OR= 1.23, IC 95% 0.68-4.18), CC (11% vs 7%,  $p > 0,05$ , OR= 1,68, IC 95% 0.68-4.18). Por otra parte, los casos mostraron una mayor frecuencia del genotipo AC que los controles (47% vs 57%,  $p > 0,05$ , OR= 0.64, IC 95% 0.38-1.07). Investigaciones relacionadas con este tema han

encontrado un alto porcentaje de los genotipos AC y CC en la población hipertensa colocando al alelo C como el alelo de predisposición (Spiering *et al.*, 2000), (Jones *et al.*, 2003), (Agachan *et al.*, 2003), (Ge *et al.*, 2007), a diferencia de (Bellwon *et al.*, 2005), (Behravan *et al.*, 2006), (Assali *et al.*, 2010), los cuales no encontraron relación directa de los genotipos que contienen el alelo de predisposición en ellos, pero no lo descartaron como uno más de los factores que desarrollan o ayudan a que la hipertensión se presente en un individuo.

En cuanto al estudio epidemiológico podemos destacar que el 94% de los hipertensos estaban siendo tratados con uno o mas antihipertensivos en el momento del estudio; esto se vió reflejado en la tabla de presiones diastólicas como sistólicas, las cuales manejaban dentro del rango óptimo en el cual se desea mantener a un paciente con este tipo de enfermedad. El sobrepeso siempre ha sido uno de los factores importantes al momento de comenzar una terapia antihipertensiva ya que la terapia por sí sola no va a mantener al paciente controlado, en este estudio pudimos observar que el 85% de los hipertensos tenían un  $IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$  (sobrepeso) y solo el 15% con un  $IMC < 25 \text{ kg/m}^2$ ) colocándolos en un IMC normal, además del sobrepeso la realización de una actividad física es un punto a favor en lo pacientes que comenzaran o están en una terapia para alguna enfermedad cardiovascular. En la presente investigación se encontró que el 63% de los hipertensos mantenían una vida sedentaria alejada de cualquier actividad física, estos tres factores epidemiológicos en conjunto con el factor genético pudieran llegar a ser la bomba desencadenante de la enfermedad, ya que ninguno de los factores ya sea epidemiológicos como genéticos de manera individual

son considerados como desencadenantes de la enfermedad o causantes del desarrollo de ésta.

En el caso del polimorfismo I/D existen estudios (Rubio *et al.*, 2001), (Agachan *et al.*, 2004), (Degirmenci *et al.*, 2005), (Álvarez *et al.*, 2007), (Ortega *et al.*, 2007) y (Fernández *et al.*, 2009), en los cuales se ha tratado de demostrar que el alelo D en sus diferentes variables genotípicas (ID y DD) se encuentran o están relacionadas con el desarrollo, aparición o desencadenante de problemas renales en pacientes con DMTII, tales como albuminurias, nefropatías, síndrome metabólico y algunos problemas coronarios concomitantes a la DMTII, en nuestro estudio pudimos encontrar que los genotipos ID y DD (82%) estaban en mayor proporción en un grupo con DMTII que en el que no tenían la enfermedad (72%) de esta manera corroboramos lo ya establecido en investigaciones anteriores abriendo brecha a nuevos estudios de este tipo en los que se establezcan lineamientos y criterios epidemiológicos más sensibles que establezcan con mayor efectividad la importancia de este polimorfismo en el desarrollo de DMTII.

# **CAPÍTULO 8**

## **CONCLUSIONES**

## 8.1 Conclusiones

- ❖ Se implementó la técnica de PCR para la detección del polimorfismo (I/D) del gen de la enzima convertidora de angiotensina humana.
- ❖ Se implementó la técnica de PCR y RFLP para la detección del polimorfismo M235T del gen del angiotensinógeno humano.
- ❖ Se implementó la técnica de PCR y RFLP para la detección del polimorfismo A1166C del gen del receptor R1ATII.
- ❖ Se analizaron los polimorfismos I/D, M235T y A1166C y se logró genotipificar y determinar la frecuencia alélica en cada individuo de estudio.
- ❖ Para el polimorfismo I/D se estableció que los genotipos ID y DD no presentan diferencia contundente entre las poblaciones de estudio al igual que el alelo D, aunque el RRG para las personas que tuvieron los genotipos ID y DD fue de 1.02 veces más la probabilidad de presentarse en pacientes con HTA que en normotensos y el OR fue mayor a 1 (1.06) lo que nos indica que el evento se podría presentar 1.06 veces más cuando se encuentran los genotipos que contienen el alelo D. Además se presentó mayor porcentaje de los genotipos ID y DD en hombres que en mujeres con un 83% vs. 75%, esta tendencia a la alza en varones se presenta en los tres polimorfismos.
- ❖ Los genotipos I/D y DD (82% DMTII y 72% No DMTII) establecieron una diferencia en la cual pudiera ser importante seguir con el estudio con el fin de encontrar una relación directa entre el posible biomarcador y la enfermedad.
- ❖ Para el polimorfismo A1166C se estableció que los genotipos AC y CC no presentan diferencia contundente entre las poblaciones de estudio al igual que el

alelo C de predisposición. Encontrando un RRG para los genotipos AC y CC de 0.89 veces más la probabilidad de presentarse en pacientes con HTA que en normotensos y un OR menor a 1 (0.78) lo que nos indica que el evento se podría presentar 0.78 veces cuando se encuentran los genotipos AC y CC. Además se presento mayor porcentaje de los genotipos ID y DD en hombres que en mujeres con un 72% vs. 53%, observando esta misma tendencia en experimentos de anteriores investigadores.

❁ Para el polimorfismo M235T se estableció que los genotipos TM y TT no presentan diferencia contundente entre las poblaciones de estudio al igual que el alelo T de predisposición. Encontrando un RRG para los genotipos TM y TT de 0.85 veces más la probabilidad de presentarse en pacientes con HTA que en normotensos y un OR menor a 1 (0.70) lo que nos indica que el evento se podría presentar 0.70 veces cuando se encuentran los genotipos TM y TT. Además se presentó mayor porcentaje de los genotipos TM y TT en hombres que en mujeres con un 89% vs. 84%.

❁ Del 94% de los pacientes con terapia antihipertensiva el 60% mantenían monoterapia con un tratamiento a base de alguno de estos medicamentos: captopril, enalapril y metoprolol los cuales fueron los de mayor incidencia entre los pacientes y un 40% los que tienen establecida una multiterapia por lo general manejan algunas de estas mezclas betabloqueador/IECA, un diurético/IECA, bloqueador de los canales de  $Ca^{2+}$ /IECA.

❁ Se estableció que la DMTII sigue siendo la enfermedad concomitante más importante aunada a la HTA con un 50.39%, la hipercolesterolemia ocupa un 27.55% asociada a los pacientes con esta enfermedad por otra parte el sobrepeso

se mostró en un 85% y el sedentarismo un 63%, ocupando un porcentaje elevado de prevalencia en relación con la enfermedad de estudio.

# **CAPÍTULO 9**

## **PERSPECTIVAS**

## 9.1 Perspectivas

- ❖ El presente estudio fue realizado con una población mestiza con altas tasas de mezcla de razas debido a que el área metropolitana es densamente poblada y una ciudad cosmopolita, los estudios realizados en otros países destacan el uso de personas de una sola etnia o con una baja tasa de mestizaje, este sería un buen punto a revisar en estudios posteriores para que sea una variable a eliminar a la hora del análisis de resultados.
- ❖ En múltiples estudios alrededor del mundo se manejan diferentes cantidades de población a analizar, consideramos que nuestra población estaba en un rango medio comparándola con estudios internacionales, posiblemente otro punto a revisar sería la cantidad de muestra a considerar en próximas investigaciones, así como establecer criterios de exclusión e inclusión cada vez más rígidos con el fin de presentar cada vez mejores resultados en esta área.
- ❖ Dentro de las futuras direcciones derivadas de este trabajo son los estudios prospectivos para determinar el uso clínico de variantes moleculares con la ECA, AGT y los R1ATII como marcadores de pronóstico y la identificación de las vías de señalización alteradas en el sistema cardiovascular además de asociar estas variantes en pacientes con hipertensión, infarto al miocardio, enfermedad ventricular, falla cardiaca, DMTII y sus complicaciones tales como las albuminurias y nefropatías principalmente. Esto puede indicar el mecanismo subyacente en la asociación entre pacientes de "alto riesgo" así como las combinaciones genotípicas del gen del angiotensinógeno y el aumento de la mortalidad en las enfermedades cardiovasculares.

## **REFERENCIAS**

1. Rosas M., *et al.*, Hipertensión arterial en México. Guías y recomendaciones para su detección, control y tratamiento, *Arch Cardiol Mex*, 74:134-157. (2004).
2. Hernández H. *et al.*, Guías de práctica clínica basadas en la evidencia: Hipertensión Arterial, Asociación Colombiana de Facultades de Medicina (ASCOFAME). (2010).
3. Gamboa R. A., Physiopathology of Essential Arterial Hypertension, *Acta Med Per*, 23(2). (2006).
4. Banegas J. *et al.*, Guía Española de hipertensión Arterial,; 22 Supl 2:3-8. (2005).
5. Alcasena M., Hipertensión arterial sistémica: Fisiopatología, *Anales Sis San Navarra*, vol. 21, Suplemento 1. (1998).
6. Hipertensión arterial; [http://www.msd.es/publicaciones/mmerck\\_hogar/seccion\\_03/seccion\\_03\\_025.html](http://www.msd.es/publicaciones/mmerck_hogar/seccion_03/seccion_03_025.html) (14/07/2010).
7. Katzung G., Farmacología básica y clínica, Manual Moderno, 8ª edición, ISBN 0385-0598-8. (2002).
8. Shirlyn B., Hematología Clínica, Manual Moderno, 2ª edición, ISBN 968-456819-X. (2000).
9. Goodman & Gilman, Las bases farmacológicas de la terapéutica, 9ª edición, vol.1, ISBN 970-10-1134-1. (1996).
10. Gimenez-Roqueplo A., Un nuevo pasó en la descripción de la genética de la hipertensión, *SIIC Data Base*, 96(11):1089-1095. (2003).
11. Enlaces Médicos Boletín trimestral, Hipertensión arterial: diagnóstico y tratamiento, año I. no. 3. (2006).
12. Ordovas J., Interacciones entre genes y entorno y factores de riesgo cardiovascular *Rev Esp Cardiol Supl.*; 9:39B-51B. (2009).

13. Jimenez G. *et al.*, En el umbral de la medicina genómica, Este país. (2002).
14. Jimenez G. *et al.*, Desarrollo de la medicina genómica en México, Este país. (2002).
15. Quijano M., La medicina genómica, editorial. (2006).
16. Gimenez-Roqueplo A., Un nuevo pasó en la descripción de la genética de la hipertensión, SIIC Data Base, 96(11):1089-1095. (2003).
17. Caulfield M., *et al.*, Linkage of the angiotensinogen gene to essential hypertension, N. Engl. J. Med., 330: 1629-1633. (1994).
18. Lewin B., Genes IX, Mc Graw Hill, ISBN 970-10-6685-5. (2008).
19. What are SNPs?; [http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human\\_Genome/faq/snps.shtml](http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/faq/snps.shtml) (14/07/2010).
20. SNP; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=snp> (14/07/2010).
21. López C., Hipertensión Arterial Esencial: Aspectos Genéticos, MedWave. (2004).
22. Bonnardeaux A., Angiotensin II Type 1 Receptor Gene Polymorphisms in Human Essential Hypertension, *Hypertension*, Vol 24, No 1, pp. 63-69. (1994).
23. Zhenni J., Association of angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism with essential hypertension, CMJ; 114(12):1249-1251. (2001)
24. Nakahara K, Insertion/deletion polymorphism in the angiotensin converting enzyme gene affects heart weight, *Circulation*; 101(2): 148-151. (2000).
25. Rigat B, An insertion/ deletion polymorphism in angiotensin converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels, *J Clin Invest*; 86:1343-6. (1990).

26. Genética Médica; [http://caibco.ucv.ve /caibco /vitae/VitaeDos /Articulos/ Medicina Molecular / genticam.htm](http://caibco.ucv.ve/caibco/vitae/VitaeDos/Articulos/MedicinaMolecular/genticam.htm) (06/07/2010).
27. Iniesta R. *et al.*, Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos, *Gac Sanit*; 19 (4):333-41. (2005).
28. Jiménez F., Papel del polimorfismo genético CYP2C19 en los efectos adversos a fármacos y en el riesgo para diversas enfermedades, *Medicina clínica*, ISSN 0025-7753, Vol. 126, N°. 18, págs. 697-706. (2006).
29. Aguilar E., Un polimorfismo genético hace a los huicholes más susceptibles a los efectos del alcohol; <http://www.dicyt.com/noticias/un-polimorfismo-genetico-hace-a-los-huicholes-mas-susceptibles-a-los-efectos-del-alcohol> (16/02/2010).
30. Aguillón J. *et al.*, El polimorfismo genético del factor de necrosis tumoral alfa como factor de riesgo en patología, *Rev Méd Chile*; 130: 1043-1050. (2002).
31. Gimenez-Roqueplo A., Un nuevo paso en la descripción de la genética de la hipertensión, *SIIC Data Base* 96(11):1089-1095. (2003).
32. Caulfield M., *et al.*, Linkage of the angiotensinogen gene to essential hypertension, *N. Engl. J. Med.*, 330: 1629-1633. (1994).
33. Avila-Vanzzini A., *et al.*, Correlación del polimorfismo (I/D) del gen de la ECA y la función ventricular en pacientes con miocardiopatía dilatada de origen isquémico e ideopático, *Revista de Investigación Clínica* Vol.58, Núm. 1. (2006).
34. Rigat B., PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1), *Nucleic Acids Res*, March 25; 20(6): 1433. (1992).

35. Walker W.G., *et al.*, Relation between blood pressure and renin, renin substrate, angiotensin II, aldosterone and urinary sodium and potassium in 574 ambulatory subjects, *Hypertension*, 1: 287-9. (1979).
36. Wicks P., *et al.*, A population study of ethnic variations in the angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism: relationships with gender, hypertension and impaired glucose metabolism, *Hypertension*, 17:657±664. (1999).
37. Chiang F., *et al.*, Determination of Angiotensin-Converting Enzyme Gene Polymorphisms: Stepdown PCR Increases Detection of Heterozygotes, *Clinical Chemistry*; 44:1353-1356. (1998).
38. Agachan B., *et al.*, Angiotensin converting enzyme I/D, angiotensinogen T174M-M235T and angiotensin II type 1 receptor A1166C gene polymorphisms in Turkish hypertensive patients, *Experimental and Molecular Medicine*, Vol. 35, No. 6, 545-549. (2003).
39. Turner S., *et al.*, Context-Dependent Associations of the ACE I/D Polymorphism with Blood Pressure, *Hypertension*, 34(part 2):773-778. (1999).
40. Sierra C., *et al.*, Angiotensin-Converting Enzyme and Renin-Angiotensin System Genetic Polymorphisms and Cerebral White Matter Lesions in Essential Hypertension, *Hypertension*, 39; 343-347. (2002).
41. Li Y., *et al.*, Angiotensin-Converting Enzyme I/D and  $\alpha$ -Adducin Gly460Trp Polymorphisms from Angiotensin-Converting Enzyme Activity to Cardiovascular Outcome, *Hypertension*, 49:1291-1297. (2007).
42. Pirola C., *Genética Molecular de la Hipertensión Arterial: Genes de susceptibilidad y resistencia.* (2000).

43. Dickson M. *et al.*, Genetic Basis of Hypertension Revisiting Angiotensinogen, *Hypertension*, 48; 14-20. (2006).
44. Kishimoto T., *et al.*, A Molecular Variant of the Angiotensinogen Gene and Hypertension in a Case-Control Study in Japanese, *Yonago Acta Medica*, 44:79–83. (2001).
45. Gyton, Tratado de fisiología médica, Mc Graw Hill, 10ª edición, ISBN 970-10-3599-2. (2001).
46. Procopciuc L., *et al.*, Essential arterial hypertension and polymorphism of angiotensinogen M235T gene, *J.Cell.Mol.Med.*, vol 6, No 2, pp. 245-250. (2002).
47. Rotimi C., Angiotensinogen gene in human hypertension. Lack of an association of the 235T allele among African Americans, *Hypertension*, 24; 591-594. (1994).
48. Ward K, *et al.*, A molecular variant of angiotensinogen associated with preeclampsia. *Nat Genet.*, 4:59-61. (1993).
49. Lizaraso F., Evaluación de los polimorfismos ECA y angiotensinógeno como factores de riesgo genético de hipertensión primaria en dos poblaciones peruanas. (2003).
50. Pereira A., Angiotensinogen 235T Allele “Dosage” Is Associated With Blood Pressure Phenotypes, *Hypertension*, 41:25-30. (2003).
51. Goldenberg I., *et al.*, Polymorphism in the Angiotensinogen Gene, Hypertension, and Ethnic Differences in the Risk of Recurrent Coronary Events, *Hypertension*, 48; 693-699. (2006).

52. van den Borna B., The M235T polymorphism in the angiotensinogen gene is associated with the risk of malignant hypertension in white patients, *Journal of Hypertension*, vol 25 No 11:2227-2233. (2007).
53. Pildrow A. *et al.*, Angiotensinogen M235T and T174M Gene Polymorphisms in Combination Doubles the Risk, *Hypertension*, 49; 322-327. (2007).
54. Spiering W., *et al.*, Angiotensin II Sensitivity Is Associated With the Angiotensin II Type 1 Receptor A1166C Polymorphism in Essential Hypertensives on a High Sodium Diet, *Hypertension*, 36; 411-416. (2000).
55. Navarro E., Diccionario terminológico de ciencias médicas, Masson, 13° edición S. A, ISBN 84-458-0095-7. (1992).
56. van Geel P., Angiotensin II Type 1 Receptor A1166C Gene Polymorphism Is Associated With an Increased Response to Angiotensin II in Human Arteries, *Hypertension*, 35;717-721. (2000).
57. NORMA Oficial Mexicana NOM-030-SSA2-1999, Para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial; <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/030ssa29.html> (14/07/2010).
58. Hipertensión Arterial Esencial: Aspectos Genéticos; <http://www.mednet.cl/link.cgi/Medwave/Cursos/Genetica2004/Noviembre04/3368> (14/07/2010).
59. Malik F.S., *et al.*, Renin- angiotensin system: genes to bedside, *Am. Heart J.*, 134: 514-526. (1997).
60. Chiang F., Determination of Angiotensin-Converting Enzyme Gene Polymorphisms: Stepdown PCR Increases Detection of Heterozygotes, *Clinical Chemistry*, 44:1353-1356. (1998).

61. Jeunemaitre X., *et al.*, Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen, *Cell*, 71: 169-180. (1992).
62. Kageyama R., *et al.*, Primary structure of human preangiotensinogen deduced from the cloned DNA sequence, *Biochemistry*, 23: 3603-3609. (1984).
63. Eldridge, S. *et al.*, Sample size calculations for intervention trials in primary care randomizing by primary care group: an empirical illustration from one proposed intervention trial, *Statistics in Medicine*, 20 (3). pp. 367-376. ISSN 0277-6715. (2001).
64. Sanchez G. *et al.*, Assignment by in situ hybridization of angiotensinogen to chromosome band 1q4: the same region as the human renin gene, *Hum. Genet*, 84: 341-3. (1990).
65. Russ A. *et al.*, Rapid detection of the hypertension-associated Met235Thr allele of the human angiotensinogen gene, *Human Molecular Genetics*, Vol. 2 No.5 609-610. (1993).

PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
R1ATI	Receptores 1 de angiotensina II
VNTR	Repeticiones en Tándem de Número Variable
SSRs	Repeticiones de Secuencias Simples
SNS	Sistema Nervioso Simpático
SRAA	Sistema Renina Angiotensina Aldosterona
TSNT	Tris-SDS-NaCl- Tritón
TE	Tris-EDTA
UV	Ultra violeta
YG	Yuxtaglomerular

## RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO



Raúl Favela Gámez

Candidato para el Grado de:

Maestro en Ciencias con Especialidad en Farmacia

Tesis: EVALUACIÓN DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASOCIADOS A HIPERTENSIÓN  
ARTERIAL

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

### Biografía:

Datos Personales: Nacido en Monterrey, Nuevo León el 11 de enero de 1986, hijo de Raúl Favela García e Inocencia Gámez Vázquez.

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Químico Farmacéutico Biólogo en 2006.