



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"

INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS TRABAJADORES DEL

ESTADO

ASOCIACION DEL POLIMORFISMO G894T EN EL EXON 7 DEL

GEN *eNOS* CON HIPERTENSION ARTERIAL SISTEMICA

REGISTRO DE DETESIS: 232.2011

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE MEDICO ESPECIALISTA EN

CARDIOLOGIA

P R E S E N T A:

DRA. TALIA MARITZA LEAL ALVARADO

DIRECTOR DE TESIS

DR. RAMON M CORAL VÁZQUEZ

CIUDAD DE MEXICO AÑO 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dra. Aura Argentina Erazo Valle Solís
Subdirectora de Enseñanza e Investigación
Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" ISSSTE

Dr. Enrique Gómez y Álvarez
Profesor titular del curso de Cardiología
Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" ISSSTE

Dr. Ramón M. Coral Vázquez
Tutor de Tesis

Dr. Jose Luis Aceves Chimal
Asesor Metodológico

Dra. Talia Maritza Leal Alvarado
Médico Residente de la Especialidad de Cardiología
Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" ISSSTE

México, D.F., julio de 2012

INDICE

CONTENIDO	No. Pag.
1. ANTECEDENTES	4
2. JUSTIFICACION	8
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
4. HIPOTESIS	10
5. OBJETIVOS	11
6. MATERIAL Y METODOS	16
7. RESULTADOS	20
8. DISCUSION	25
9. CONCLUSIONES	27
10. BIBLIOGRAFIA	28

ANTECEDENTES

ASOCIACION DEL POLIMORFISMO G894T EN EL EXON 7 DEL GEN eNOS CON HIPERTENSION ARTERIAL SISTEMICA

La Hipertensión Arterial Sistémica es un problema de salud pública que condiciona fuertes costos a la economía de todas las naciones del mundo. Se estima que esta enfermedad es responsable directa de cerca del 30% de las personas que la padecen, proyectando la Organización Mundial de la Salud aproximadamente 24 millones de defunciones en los próximos 10 años. En México se estima una prevalencia del 16%.^{1,2} A la fecha no se ha establecido la etiología precisa de esta enfermedad, postulando diferentes expertos que la etiología es multifactorial con estrecha relación con la edad, género, factores ambientales, co-morbilidades y predisposición genética.³

En la fisiopatología de la Hipertensión Arterial Sistémica interviene la ingesta excesiva de cloruro de sodio, actividad elevada del sistema nervioso simpático, metabolismo inadecuado del calcio, incremento hormonal de aldosterona mediante el sistema renina-angiotensina y síndromes metabólicos. Estos últimos involucran la co-morbilidad asociada, destacando la Diabetes Mellitus y Dislipidemia, ambas con efecto importante en el desarrollo de aterosclerosis acelerada.³ La aterosclerosis avanzada modifica significativamente el metabolismo de las células endoteliales, afectando la producción de óxido nítrico y consecuentemente la capacidad de relajación de la vasculatura arterial macro y microvascular, condición que eleva las resistencias periféricas y la presión arterial global del organismo.⁴

Cuadro Clínico y Diagnóstico de Hipertensión Arterial Sistémica

El cuadro clínico varía en cada persona, sin embargo, la sintomatología puede estar presente en diferentes grados de intensidad independiente de las cifras tensionales. Las características clásicas de Hipertensión arterial Sistémica son cefalea opresiva en cinturón, acompañada de fosfenos, acufenos, dolor muscular en la base del cuello y sensación de cansancio corporal.⁴⁻⁶

El diagnóstico se establece con la presencia de la sintomatología mencionada y presencia de cifras tensionales por arriba de las normales (Tabla 1) en tres días distintos y a diferentes horas del día, considerando la toma de presión arterial en posición supina y de pie en ambos brazos.⁶

Factores genéticos

Se sabe que la presión sanguínea tiene una expresión fenotípica compleja, en la cual, diversos factores ambientales propician la expresión de la carga genética de cada individuo.^{7,8} Con diferentes modelos experimentales y estudios epidemiológicos se ha observado un efecto de la carga genética sobre los cambios en la presión arterial entre 30-60%, reconociéndose diferentes grados de asociación de algunos polimorfismos de genes relacionados con el sistema renina-angiotensina-aldosterona, canales epiteliales de sodio, metabolismo de lipoproteínas, receptores hormonales y factores de crecimiento, con la presencia de HAS.⁷⁻⁹

Las variaciones observadas en las relaciones de diferentes polimorfismos podrían ser explicadas a la gran variabilidad observada en la prevalencia de los diferentes polimorfismos de los genes involucrados en la génesis de la HAS. Nuestra población a pesar de la mezcla diversa de genomas de diferentes grupos étnicos ha podido mantener a la fecha una estabilidad genética, de tal manera que se puede hablar específicamente del genoma Azteca, el cual refleja prevalencias diferentes de muchos polimorfismos.⁹

A pesar de conocer la influencia del óxido nítrico en la fisiología natural de la contractilidad de la musculatura lisa de las arterias y que la presencia de aterosclerosis avanzada como un proceso natural de envejecimiento, existe una proporción importante de personas que no desarrollan HAS, por lo que se podría asumir que existe una predisposición genética a la producción reducida de óxido nítrico propiciado disminución en la relajación de la pared muscular de las arterias.¹⁰

Oxido Nítrico en el aparato cardiovascular

El endotelio tiene un papel importante en la regulación de la homeostasis vascular y en la mantención del tono vascular, estando envuelto con vías fisiológicas importantes en el control de la resistencia arterial al flujo sanguíneo. Entre diversos mediadores liberados por el endotelio, el óxido nítrico (ON) ejerce papel fundamental en la regulación del sistema cardiovascular. Después de su formación por el endotelio, el ON se difunde al músculo liso e interactúa con el grupo heme de la guanilato ciclasa soluble (sGC) volviéndola activa. Esa enzima sintetiza guanosina monofosfato cíclica (GMPc) a partir de la guanosina trifosfato (GTP), llevando a una acumulación de GMPc en esas células. Eso activa vías de señalización intracelulares que disminuyen el grado de contracción del músculo liso vascular, llevando al relajamiento del vaso, además de estos efectos vasculares, el ON también está envuelto en la inhibición de la agregación y adhesión plaquetaria.¹¹

El ON es formado por las enzimas ON-sintasas (NOS), que catalizan la conversión de L-arginina en L-citrulina y ON. Existen tres isoformas de esa enzima: neuronal (nNOS o NOSI), inducida (iNOS o NOSII) y endotelial (eNOS o NOSIII). La nNOS es encontrada en una variedad de células que incluyen las neuronas y células endoteliales. Tanto la nNOS como la eNOS son isoformas constitutivas y son calcio-dependientes, necesitando el

aumento de los niveles de calcio intracelular y consecuente ligazón de éste con la calmodulina (CaM) para la activación de esas enzimas. La iNOS no es constitutiva y es expresada en procesos inflamatorios.¹²

En el sistema cardiovascular, la eNOS es la principal responsable por la síntesis de ON.¹³ La eNOS se ubica en las invaginaciones de la membrana plasmática de células endoteliales, denominadas caveolas. La interacción de la eNOS con una proteína llamada caveolina resulta en la inactividad de la eNOS que se debe, en parte, a la ocupación del sitio de ligazón de la calmodulina.¹⁴

La reducción de la expresión o de la actividad de la eNOS puede resultar en menor producción de ON. Diversos estudios han sugerido que el desequilibrio en la biodisponibilidad del ON ejerce papel significativo en la disfunción endotelial. Varias enfermedades están asociadas a disfunción endotelial y reducción de la biodisponibilidad del NO, entre ellas, hipertensión¹⁸, preeclampsia¹⁹ y síndrome metabólico.¹⁵

El estrés oxidativo está envuelto en procesos fisiopatológicos de inúmeras enfermedades cardiovasculares, y existen evidencias que demuestran su contribución en la disfunción endotelial. Las especies reactivas del oxígeno (ROS), como el anión superóxido, reaccionan con el ON resultando en la formación de peroxinitrito. El aumento en la producción de ROS lleva, por lo tanto, a una reducción de la biodisponibilidad del ON,¹⁶ pudiendo favorecer el surgimiento de diversas enfermedades cardiovasculares. El aumento de las ROS también puede llevar a la oxidación del cofactor BH4 de la eNOS, llevando a un desacoplamiento de esa enzima. De esa forma, la eNOS pasa a producir anión superóxido en vez de ON, llevando a un ciclo vicioso que aumenta cada vez más el estrés oxidativo y reduce cada vez más la disponibilidad de ON.¹⁷

Polimorfismos en el gen de la Sintasa Endotelial de Óxido Nítrico (eNOS)

El gen eNOS en el humano se localiza en 7q35-q36,¹¹ codifica para la enzima sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS), la cual es la encargada de la síntesis del óxido nítrico (ON), un potente regulador del tono vascular, flujo sanguíneo y de la presión sanguínea.¹⁸⁻

22

El deterioro de la función endotelial, se traduce en una disminución en la producción del ON,^{18,20} describiéndose variantes genéticas relacionadas de este gen con la presencia de HAS, destacando en algunos estudios la presencia del polimorfismo G894T en el exón 7, el cual resulta en el cambio p.Glu298Asp (rs1799983).^{21,}

JUSTIFICACION

La etiología de la Hipertensión Arterial Sistémica es multifactorial, destacando en años recientes aspectos genéticos que en diferentes publicaciones han mostrado relación importante con esta enfermedad. En población sajona, africana y asiática se han observado diferentes polimorfismos involucrados en la producción de diferentes tipos de proteínas involucradas en los procesos fisiopatológicos de la hipertensión arterial. La descripción total del genoma humano ha identificado grupos raciales en el mundo, destacando en años recientes el genoma humano azteca, en el cual se describe una carga genética estable y consistente a pesar de la aportación genética de diferentes razas a las que se ha sido expuesto.

Considerando la variedad de aportaciones genéticas en el genoma mestizo mexicano, esencialmente por los grupos étnicos Sajón y Africano, existe la posibilidad de que los polimorfismos involucrados con el desarrollo de la Hipertensión Arterial Sistémica tengan una influencia diferencial. La producción de la enzima Sintasa de Óxido Nítrico producida por el gen eNOS localizado en 7q35-q36 puede ser modificada por mutaciones o polimorfismos del gen, condicionando el desarrollo de la enfermedad.

Consideramos que el conocimiento preciso de la presencia del polimorfismo G894T en el exón 7 del gen que codifica la Sintasa de Oxido Nítrico y su relación con la HAS, podrían permitir un manejo terapéutico más preciso y oportuno en beneficio del paciente, su familia y la Institución.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La etiología de la Hipertensión Arterial Sistémica (HAS) aún no se ha esclarecido, proponiendo diferentes expertos que esta enfermedad está influenciada por diversos factores ambientales, bioquímicos y genéticos. Publicaciones recientes indican que la prevalencia de esta enfermedad en las diferentes regiones del mundo puede obedecer a las variaciones genéticas en los diferentes grupos étnicos. Recientemente se ha asociado a mutaciones o polimorfismos en diferentes genes, así como a los posibles fenómenos de epigenética. El óxido nítrico producido por las células endoteliales tiene una intervención importante en la modulación de la contractilidad de la musculatura lisa de del árbol arterial, informando Timberlake que el polimorfismo G894T en el exón 7 del gen que

codifica la sintasa de óxido nítrico se puede relacionar con el desarrollo de Hipertensión Arterial. En México, nuestras poblaciones tienen un acervo genético distinto determinado por el mestizaje, en base a lo anterior planteamos las siguientes preguntas de investigación.

HIPOTESIS

En población mestizo mexicana:

- La prevalencia del polimorfismo G894T en el exón 7 del gen que codifica la Sintasa de Óxido Nítrico (eNOS) es significativamente diferente entre pacientes con y sin Hipertensión Arterial Sistémica.
- El polimorfismo G894T en el exón 7 del gen que codifica la Sintasa de Óxido Nítrico (eNOS) tiene una asociación importante (> 0.70) y significativa con la presencia de Hipertensión Arterial Sistémica.

OBJETIVO GENERAL

Determinar en población mestizo mexicana la prevalencia del polimorfismo G894T en el exón 7 del gen que codifica la Sintasa de Óxido Nítrico (eNOS), así como su asociación con la Hipertensión Arterial Sistémica.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Conocer en población mestiza mexicana con y sin HAS la prevalencia del polimorfismos del gen eNOS: G894T en el exón 7, que resulta en el cambio p.Glu298Asp (rs1799983).

POBLACION

Este estudio se llevó a cabo con muestras de ADN de Pacientes con y sin diagnóstico de hipertensión arterial sistémica atendidos en Hospitales de segundo nivel en clínicas de Hipertensión arterial del sistema ISSSTE. Los individuos incluidos fueron de origen étnico Mestizo-Mexicano, dado por al menos tres generaciones de la familia nacidos en México.

Criterios de inclusión de sujetos con Hipertensión esencial:

1. Haber aceptado participar en el estudio y firmar la carta de consentimiento informado.
2. Sujetos adultos con diagnóstico de Hipertensión esencial.
3. De origen étnico mestizo-Mexicano.

Criterios de exclusión de sujetos con Hipertensión esencial:

1. Se excluyeron a sujetos con diagnóstico de Hipertensión secundaria (e.g. insuficiencia renal crónica, insuficiencia cardíaca crónica, enfermedad coronaria, angina de pecho,

coartación de la aorta, antecedentes de infarto al miocardio, Hipertensión pulmonar, evento cardiovascular, patologías endócrinas, etc.).

Criterios de eliminación de sujetos con Hipertensión esencial:

1. Abandono voluntario del estudio.

Criterios de inclusión de sujetos control:

1. Haber aceptado participar en el estudio y firmar la carta de consentimiento informado.
2. Sujetos adultos clínicamente sanos.
3. De origen étnico mestizo-Mexicano.

Criterios de exclusión de sujetos control:

1. Fumadores a razón de más de 5 cigarrillos día.
2. Obesidad mórbida.

Criterios de eliminación de sujetos control:

1. Sujetos que durante el interrogatorio o exploración física resultaron con alguna enfermedad o trastorno fisiológico o metabólico que pudiera condicionar Hipertensión.
2. Abandono voluntario del estudio

DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio descriptivo, transversal y comparativo.

VARIABLES

Independientes

- Polimorfismo G894T en el exón 7 del Gen eNOS:

polimorfismo se define como un locus genético que está presente en dos o más alelos distintos, de forma que el alelo más raro tiene una frecuencia mayor o igual a 1% (0,01) en la población general.

La presencia del polimorfismo antes mencionado del Gen eNos, resulta en el cambio p.Glu298Asp (rs1799983)

- Prevalencia de polimorfismo G894T en el exón 7 del Gen eNOS: proporción de individuos dentro del grupo de estudio que presenten el polimorfismo mencionado durante la realización del estudio

Dependientes:

- Hipertensión Arterial Sistémica: presencia de Presión sistólica ≥ 140 mm Hg y/o diastólica \geq de 90 mm Hg, en más de 2 tomas, en días distintos. El diagnóstico de Hipertensión arterial sistémica se realizó de acuerdo a los lineamientos propuestos por la Asociación Americana de Cardiología y Colegio Americano de Cardiología (Tabla 1). También se considero como Hipertensos a pacientes que se encontraran ya con tratamiento antihipertensivo

TABLA I. VALORES DE REFERENCIA PARA LA PRESION ARTERIAL E HIPERTENSION

CATEGORIA	PRESIÓN SISTÓLICA	PRESIÓN DIASTÓLICA
Nivel óptimo mm Hg	< 120 mm Hg	< 80
Normal 84 mm Hg	120 a 129 mm Hg	80 a
Normal alta 89 mm Hg	130 a 139 mm Hg	85 a

HIPERTENSION

Estadio I mm Hg	140-159 mm Hg	90-99
Estadio II más mm Hg	160 o más mm Hg	100 o

Covariables:

- Edad: Tiempo cronológico de vida desde el nacimiento.

- Sexo: Característica fenotípica que identifica a una persona como masculino o femenino
- Factores de riesgo conocidos para enfermedad cardiovascular
 - **Diabetes Mellitus tipo 2:** Presencia de niveles altos de glucosa en sangre, debido a resistencia a, o secreción insuficiente de la insulina, el diagnóstico se establece en base a los criterios actuales de la Asociación Americana de Diabetes:

1. Síntomas de diabetes (poliuria, polidipsia, baja de peso no explicada) asociada a glicemia tomada al azar > 200 mg/dl., 2. Glicemia plasmática en ayunas > 126 mg/dl., 3. Glicemia plasmática 2 horas después de una carga de 75 g glucosa > 200 mg/dl., 4. Niveles de HbA1c (Hemoglobina glucosilada) >6.5%.

Tabaquismo: hábito de consumo de tabaco, se considerará tabaquismo positivo si el paciente consume más de 5 cigarrillos día.

Dislipidemia: Alteración en el metabolismo de los lípidos, considerado como factor de riesgo cardiovascular niveles de HDL <50 mg/dL en mujeres , HDL < 40mg/dL en varones y LDL >100mg/dL en ambos géneros.

Índice de Masa Corporal: es una medida de asociación entre el peso y la talla de un individuo, Se calcula según la expresión matemática. $IMC = \frac{peso(kg)}{estatura^2(m)}$

Consideramos obesidad a partir de IMC ≥ 30 de acuerdo a la clasificación propuesta por la OMS. **Tabla 2**

Tabla 2

IMC (Kg/talla 2)	ESTADIO
<18.5	Bajo peso
18.5-24.9	Peso Normal
25 a 29.9	Pre- obeso
30 a 34.9	Obesidad grado I
35 a 39.9	Obesidad grado II
más de 40	Obesidad Mórbida

Tratamiento antihipertensivo: Aplicación de fármacos dirigidos al control de la elevación de la presión arterial.

MATERIAL Y METODOS

Después de ser autorizado por el Comité de Investigación y Ética a los pacientes que cumplieron los criterios de selección se les explicó en detalle el estudio y se les invitó a participar en el mismo, firmando carta de consentimiento informado.

Todos los pacientes se sometieron a toma de peso, talla y Tensión Arterial.

La medición de la Tensión arterial se llevó a cabo de la siguiente manera:

- Con el paciente sentado de manera confortable y con un buen soporte para la espalda, su brazo descubierto, semiflexionado y apoyado en una mesa que permitiera al brazo mantenerse a la altura del corazón.

- Se tomaron al menos dos mediciones separadas 1-2 min, en ambos brazos y se realizó una adicional si hubo una diferencia sustancial entre las dos primeras.
- Se Utilizó un brazalete estándar (12-13 cm de ancho y 35 cm de largo). En el caso de obesos (> 35 cm de circunferencia del brazo), utilizar brazalete de 20 cm de ancho. La cámara de aire debe cubrir al menos 80% de la circunferencia del brazo.
- Se usó la fase I y V de los ruidos de Korotkoff para identificar las presiones sistólica y diastólica respectivamente.

En caso de que el sujeto hubiese ingerido café, tabaco o realizado ejercicio, se espero 30 minutos antes de la medición.

De acuerdo al diagnóstico de Hipertensión Arterial Sistémica se dividieron en 2 grupos:

- Casos: Pacientes con Hipertensión Arterial Sistémica.
- Control: Pacientes sin Hipertensión Arterial Sistémica.

Posteriormente se extrajo una muestra de sangre periférica (10 ml) mediante punción en alguno de los siguientes vasos localizados en miembros torácicos (Vena cefálica o Basílica) con aguja hipodérmica calibre 32G. La muestra sanguínea se depositó en tubo de vidrio seco, se etiqueto con los datos personales del paciente (Nombre, número de expediente y fecha de obtención) y se mantuvo en refrigeración a 4° C.

En cada paciente (Casos y sanos) se registrará la edad, sexo, peso, talla, IMC y factores de riesgo conocidos para enfermedad cardiovascular.

Extracción de ADN de sangre periférica

Las muestras fuerm colocadas en hielo agregándosele sacarosa-tritón 2X (Sacarosa 0.64M, Trizma-base 0.02M, MgCl₂ 0.01M y Tritón 100X al 2%) y agua desionizada (ddH₂O). Los leucocitos se separaron por centrifugación y se decantó el sobrenadante HT esencial hasta que se obtuvo un botón nuclear. Para lisar los leucocitos se añadió amortiguador de lisis nuclear, pH 8.2, (Trizma-base 10 mM, NaCl 400 mM y Na₂EDTA 2mM), sulfato dodecílico sódico (SDS) al 20% y Proteinasa K [20 mg/ml]. Se dejó incubar por 14 h a 37° C y se adicionó después de dicho lapso NaCl saturado y se centrifugará. El sobrenadante fue transferido a tubos de 15 ml y el ADN se precipitó con dos volúmenes de etanol absoluto y se agitó por inversión. Posteriormente, el ADN se lavó en etanol frío al 70%, se dejó secar a temperatura ambiente para su posterior re-suspensión en dH₂O, almacenándose a -20°. La concentración de ADN se determinó por espectrofotometría. Para conocer la calidad de las muestras se llevó a cabo una electroforesis en gel de agarosa al 1.2%.

Genotipificación por PCR en tiempo Real

El análisis de los SNPs de los genes se llevó a cabo mediante discriminación alélica por PCR en tiempo real con sondas de hidrólisis de acuerdo con el sistema PCR allelic discrimination TaqMan assays (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Todas las reacciones se realizaron con 10-20 ng de DNA, 2.5 µl de TaqMan Universal Master Mix 2x (AB), 0.25 µl de los primers y la sonda (40x) y agua a un volumen final de 5 µl. En todos los ensayos se incluyeron los controles negativos correspondientes. El PCR en

tiempo real se realizó en el equipo Prism 7900HT Sequence Detection System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) bajo las siguientes condiciones: 95°C por 10 min, y 40 ciclos de amplificación (95°C por 15s y 60°C por 1 min). Para cada ensayo se utilizaró el TaqMan® SNP Genotyping Assays específico para el rs1799983.

ANALISIS ESTADISTICO

Se utilizó el programa estadístico SPSS 19.0 para Windows. Para el análisis descriptivo empleamos proporciones y porcentajes. Para el análisis comparativo utilizamos prueba t de student para variables continuas y χ^2 para variables nominales. Calculamos el Odd Ratio (OR) mediante tablas de contingencia. La distribución del polimorfismo se evaluó mediante el principio de equilibrio de Hardy Weinberg. Consideramos significancia estadística con $p < 0.05$.

RESULTADOS

Incluimos un total de 100 pacientes, 50 casos y 50 controles. Pudiendo observarse diferencias significativas en algunas variables demográficas así como en factores de riesgo cardiovascular. Entre los pacientes hipertensos, se encontró un mayor porcentaje de hombres (62%); por su parte en el grupo control predominó el sexo femenino (60%) con significancia estadística ($p = 0.045$); Además en el grupo de Hipertensión se encontró un mayor índice de masa corporal (29.5 ± 4.6 vs 26.5 ± 3.1 ; $p < .001$) y niveles más altos de glucosa (98.3 ± 25.7 vs 98.3 ± 25.7 ; $p < .001$). **Tabla 3**

CARACTERISTICAS BASALES			
TABLA 3	HIPERTENSOS	NO HIPERTENSOS	p
EDAD (años)	51.8 ± 9.3	50.1 ± 7.1	0.48
HOMBRES n(%)/ MUJERES n(%)	31 (62%)/19 (38%)	20 (40%)/30(60%)	0.045
IMC	29.5 ± 4.6	26.7 ± 3.0	<0.001
GLUCOSA	98.2 ± 25.6	87.8 ± 9.4	0.008
COLESTEROL TOTAL (mg/ dl)	192 ± 38.9	192 ± 34.3	0.93
COLESTEROL HDL (mg/ dl)	43.2 ± 10.7	47.3 ± 14.3	0.11
COLESTEROL LDL (mg/ dl)	122 ± 30.1	119.7 ± 30.9	0.70
TRIGLICERIDOS	184.1 ± 10.7	158.6 ± 76.2	0.17
TAS (mg/ dl)	138.4 ± 12.7	110.3 ± 10.7	< 0.001
TAD (mg/ dl)	85.1 ± 8.7	70.7 ± 7.02	< 0.001

IMC= índice de Masa Corporal, TAS= Tensión Arterial Sistólica; TAD: Tensión Arterial Diastólica

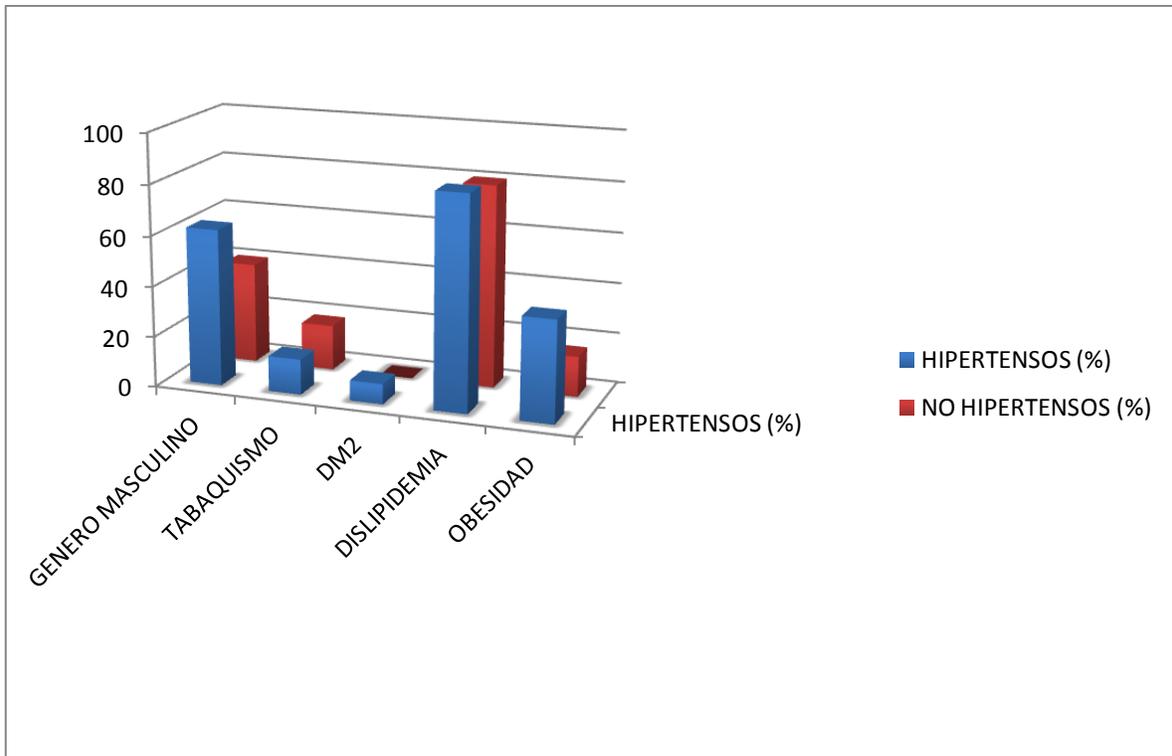
Los resultados del análisis de las variables demográficas y los factores de riesgo cardiovascular más destacados fueron un OR relacionado a Diabetes Mellitus de 2.08; el OR estimado para el sexo masculino fue de 2.44 y para Obesidad de 3.5. **Tabla 4**

Análisis de asociación de las variables demográficas y Factores de Riesgo Cardiovascular con Hipertensión Arterial Sistémica.

Tabla 4	% (n)	OR	IC 95%	p
SEXO MASCULINO	62 (31)	2.44	1.09-5.46	0.04
TABAQUISMO	14 (7)	0.74	0.25-2.17	0.78
DIABETES MELLITUS	8 (4)	2.08	1.69-2.57	0.12
DISLIPIDEMIA	84 (42)	1.31	0.47-3.66	0.79
OBESIDAD	40 (20)	3.5	1.36-8.99	0.01

En el grupo de pacientes hipertensos se encontró un mayor porcentaje de pacientes de sexo masculino, diabéticos y con obesidad (**Figura 1**

Figura 1 Distribución de variables demográficas y factores de riesgo cardiovascular

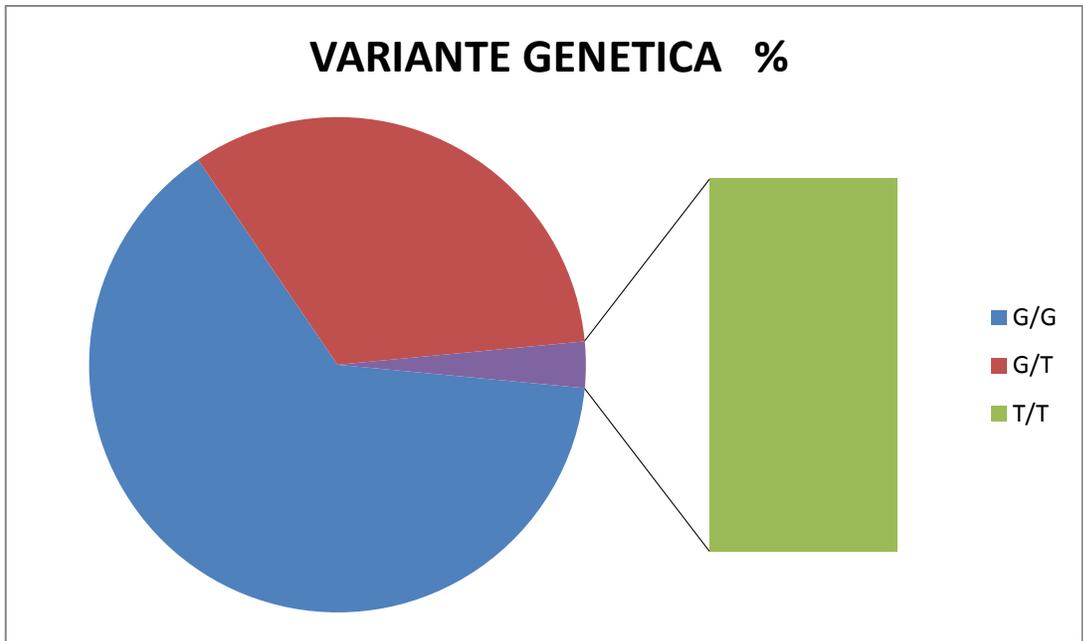


La prueba de Hardy Weinberg mostró equilibrio genético en ambos grupos, y el análisis de asociación no mostró relación entre las variedades del polimorfismo G894T en el exón 7 del gen eNOS (Homo y heterocigoto).

Las variantes genéticas estudiadas fueron G/G que representa a la variante homocigota ancestral, G/T siendo el polimorfismo heterocigoto y T/T en su variante homocigota. La distribución en el total de individuos se representa en la **Figura 1**

FIGURA 1

DISTRIBUCIÓN DE LAS VARIANTES GENÉTICAS ESTUDIADAS EN LA POBLACION DE ESTUDIO



La prevalencia del polimorfismo G894T en el exón 7 del gen eNOS fue similar en pacientes con y sin hipertensión arterial sistémica esencial, predominando el estado heterocigoto. **Tabla 5**

TABLA 5	HIPERTENSOS	NO HIPERTENSOS	p
VARIANTE GENETICA	n (%)	n (%)	
G/G	29(58%)	35 (70%)	0.29
G/T	19 (38%)	14 (28%)	0.39
T/T	2 (4%)	1 (2%)	1

En el grupo de pacientes con hipertensión el polimorfismo estuvo presente en el 42% de los individuos, siendo la variante genética más común la heterocigota mostrando una tendencia a incremento del riesgo para Hipertensión arterial. **Tabla 6**

TABLA 6 ANALISIS DEL POLIMORFISMO G894T EN HIPERTENSOS (Homo y heterocigoto)

Frecuencias genotípicas					
	% (n)	r	OR	P	IC 95%
G/G	58 (29)	0.1	0.59	0.29	0.25-1.3
T/T	4 (2)	2.04	2.04	1	0.17-23.2
G/T	38 (19)	0.1	1.5	0.39	0.68-3.6

G/G: homocigoto ancestral; T/T polimorfismo homocigoto; G/T polimorfismo heterocigoto

El riesgo para desarrollo de Hipertensión en pacientes con el polimorfismo heterocigoto (G/T) G894T fue de 1.6 (p 0.38; IC 95% 0.68-3.7). La variante homocigota solo se encontró en el 4% de los pacientes mostrando también tendencia a un incremento de riesgo sin embargo ninguna variante presento un riesgo atribuible con significancia estadística. **Tabla 6**

DISCUSION

A la luz de los recientes avances en el proyecto de genoma humano, ha aumentado el entusiasmo en la identificación múltiples determinantes genéticos. La Hipertensión Arterial Sistémica no ha sido la excepción, considerándola actualmente, como un trastorno altamente heterogéneo, en el que las anomalías genéticas apuntan como causa etiológica. En este estudio exploramos al polimorfismo G894T en el exón 7 del gen *eNOS* como posible factor relacionado con esta enfermedad cardiovascular.

Algunos estudios epidemiológicos sugieren que las variaciones genéticas, incluidas aquellas para la *eNOS*, aumentan el riesgo de HAS, aunque la influencia de estos polimorfismos ha mostrado resultados contrastantes en diversas poblaciones. Este escenario refleja el impacto variable del contexto genético de las poblaciones y su interacción con factores ambientales, los cuales, a su vez, pueden modular el contexto molecular. Nuestros hallazgos, posiblemente son un reflejo del fenómeno mencionado, puesto que no observamos una prevalencia ni relación significativa de la presencia del polimorfismo G894T entre pacientes con y sin hipertensión arterial.

Los factores de riesgo conocidos como relacionados con el desarrollo de la hipertensión arterial, han sido ampliamente descritos en estudios epidemiológicos y fisiopatológicos, en nuestra población encontramos como principal factor de riesgo la obesidad, sin embargo es bien conocido que para el desarrollo de Hipertensión Arterial Sistémica es necesario el efecto simultáneo de diversos factores ambientales, fisiopatológicos y genéticos. Se ha sugerido que la progresión de la arterioesclerosis observada con el avance de la edad tiene mayor importancia fisiopatológica sobre la génesis de la hipertensión arterial. Sin embargo en nuestros hallazgos no fue posible respaldar esta sugerencia puesto que la edad fue un factor sin relación significativa con la presencia de

la enfermedad dado que no hubo diferencia entre los grupos de estudio puesto que se buscaba eliminar la mayoría de confusores.

No obstante, aunque nuestros hallazgos no mostraron relación ni tendencia del polimorfismo G894T con la presencia de hipertensión arterial sistémica, es necesario considerar que posiblemente el control epigenético se encuentre involucrado en la expresión de este polimorfismo, pues se conoce su efecto como mecanismo regulatorio adicional que permite a los humanos mantener estables los patrones de expresión génica a través de generaciones, permitiendo al mismo tiempo cierta plasticidad del genoma ante cambios en el ambiente, los cuales eventualmente desencadenan estrés metabólico que puede modificar diversas variables bioquímicas y fisiológicas.

En suma, los hallazgos de este estudio no mostraron una prevalencia, relación ni tendencia del polimorfismo G894T en pacientes con hipertensión arterial sistémica, posiblemente como consecuencia de los siguientes eventos no estudiados: Grados de enfermedad aterosclerosa y el rol de control epigenético. Ambos aspectos deben ser explorados para poder determinar la influencia real de los polimorfismos relacionados con la producción de enzimas y factores bioquímicos presentes en la fisiopatología de la enfermedad.

CONCLUSIONES

El polimorfismo G894T no tiene una relación ni tendencia directa con la presencia de Hipertensión Arterial Sistémica.

La expresión del polimorfismo G894T posiblemente está influenciada por diversos factores ambientales, progresión de la arterioesclerosis y control epigenético.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Los hallazgos encontrados en cuanto al riesgo atribuible a la presencia del polimorfismo en su variante heterocigota u homocigota como ya fue mencionado no fueron significativos, incluso no fue posible atribuir un riesgo a la variante genética T/T dada su escasa frecuencia; esto puede atribuirse al tamaño de muestra de nuestro estudio. Se requiere un tamaño de muestra mayor para fundamentar nuestros hallazgos.

Referencias bibliográficas

1. Valles V, Arroyo P, Fernandez V, Herrera J, Kuri-Morales P, Olaiz G, Tapia-Conyer R: The Mexican Ministry of Health conducted a national survey of chronic disease in 1992-3. *Hypertension* 1999; 33: 1094
2. Velazquez-Monroy O, Rosas PM, Lara EA, Pastelin HG, Castillo C, Attie F, Tapia Conyer R. Prevalence and interrelations of noncommunicable chronic diseases and cardiovascular risk factors in Mexico. *ArchCardiol Mex.* 2003;73:62-77.
3. Johnson RJ, Herrera-Acosta J, Schreiner GF, Rodriguez-Iturbe B. Subtle acquired renal injury as a mechanism of salt-sensitive hypertension. *N Engl J Med.* 2002;346:913-23.
4. Oparil S, Zaman MA, Calhoun DA. Pathogenesis of Hypertension. En: Ausiello DA, ed. *Physiology in Medicine: A series of articles linking medicine with science.* Physiology in Medicine. *Annals of Internal Medicine*, Paul Epstein, Series Editor. *Ann Intern Med.* 2003;139:761-776.
5. Calhoun DA, Bakir SE, Oparil S. Etiology and pathogenesis of essential hypertension. In: Crawford MH, DiMarco JP, eds. *Cardiology.* London: Mosby International; 2000:3.1-3.10.
6. Whitworth JA; World Health Organization, International Society of Hypertension Writing Group. 2003 World Health Organization (WHO)/International Society of Hypertension (ISH) statement on management of hypertension. *J Hypertens.* 2003;21:1983-92.
7. Kunes J, Zicha J. The interaction of genetic and environmental factors in the etiology of hypertension. *Physiol Res.* 2009;58 Suppl 2:S33-41.
8. Zhao Q, Hixson JE, Rao DC, Gu D, Jaquish CE, Rice T, Shimmin LC, Chen J, Cao J, Kelly TN, Hamm LL, He J. Genetic variants in the apelin system and blood

- pressure responses to dietary sodium interventions: a family-based association study. *J Hypertens*. 2010;28:756-63.
9. Timberlake DS, O'Connor DT, Parmer RJ. Molecular genetics of essential hypertension: recent results and emerging strategies. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2001;10:71-9.
 10. Thomas GD, Zhang W, Victor RG. Nitric oxide deficiency as a cause of clinical hypertension: promising new drug targets for refractory hypertension. *JAMA*. 2001;285:2055-7.
 11. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*. 1993; 329 (27): 2002-12
 12. Lacchini R, Sabha M, Coeli FB, Favero FF, Yugar-Toledo J, Izidoro-Toledo TC, et al. T allele of -344C/T polymorphism in aldosterone synthase gene is not associated with resistant hypertension. *Hypertens Res*. 2009; 32 (2): 159-62
 13. Cooke JP, Dzau VJ. Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease. *Annu Rev Med*. 1997; 48: 489-509.
 14. Dudzinski DM, Igarashi J, Greif D, Michel T. The regulation and pharmacology of endothelial nitric oxide synthase. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2006; 46: 235-76.
 15. Gomes VA, Casella-Filho A, Chagas AC, Tanus-Santos JE. Enhanced concentrations of relevant markers of nitric oxide formation after exercise training in patients with metabolic syndrome. *Nitric Oxide*. 2008; 19 (4): 345-50.
 16. Vasquez-Vivar J, Kalyanaraman B, Martasek P, Hogg N, Masters BS, Karoui H, et al. Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95 (16): 9220-5.
 17. Gryglewski RJ, Palmer RM, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature*. 1986; 320 (6061): 454-6.

18. Marsden PA, Heng HHQ, Scherer SW, et al: Structure and chromosomal localization of the human endothelial nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem.* 1993;268:17478–17488.
 19. Lockette W, Otsuka Y, Carretero O. The loss of endothelium dependent vascular relaxation in hypertension. *Hypertension.* 1986;8(suppl II):II-61–II-66.
 20. Rees DD, Palmer RMJ, Moncada S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci.* 1989;86:3375–8.
 21. Node K, Kitakaze M, Yoshikawa H, Kosaka H, Hori M. Reduced plasma concentrations of nitric oxide in individuals with essential hypertension. *Hypertension.* 1997;30:405–8.
 22. Sander M, Chavoshan B, Victor RC. A large blood pressure-raising effect of nitric oxide synthase inhibition in humans. *Hypertension.* 1999;33:937–42.
- Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M, Shimasaki Y, Kugiyama K, Ogawa H, et al. T-7863C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm. *Circulation.* 1999;99:2864–70