



Universidad de la República  
Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA)  
Área Biología – Subárea Genética

**Genes relacionados con la metabolización de medicamentos en pacientes hipertensos y población general, y su relación con el mestizaje poblacional en Tacuarembó**  
Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias Biológicas

Autor: Lic. Sara Flores Gutiérrez

Orientador: Dra. Mónica Sans

Co-orientador: Dra. Dinorah Castro de Guerra

Tribunal: Dra. Patricia Esperón

Dr. Bernardo Bertoni

Dr. Julio da Luz



Montevideo, Abril de 2019.

Al amor,

al amor de mi madre

y al amor de mi novio,

Quienes me han demostrado que no existen fronteras ni distancias para amar.

## **Agradecimientos**

Debo comenzar por agradecer a las instituciones que financiaron y apoyaron este trabajo de investigación; al Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA) de la Universidad de la República y a la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII).

A mi tutora la Dra. Mónica Sans, me faltan las palabras para agradecer su confianza y ayudarme a lograr mis metas. Desde el principio siempre con la mejor disposición, comprensión. Me siento muy honrada de que me haya aceptado como su estudiante.

A mi co-tutora la Dra. Dinorah Castro, un ejemplo a seguir, luchadora y bondadosa. Gracias por acompañarme nuevamente en este camino para lograr otra meta, por sus consejos, por su ayuda. La quiero mucho!

Al PDU de Genética Humana del CUT, en especial al Dr. Pedro Hidalgo, muchas gracias por recibirme y brindarme la oportunidad de trabajar con ustedes.

Un especial agradecimiento a los médicos de los Nodos de Salud de ASSE Tacuarembó, Rosa María Marco, Ana Laura Nuñez, Claudia Suárez y al cardiólogo Walter Zapater del Hospital de Tacuarembó, su asesoramiento fue fundamental en este trabajo.

Al Dr. Gonzalo Figueiro, mil gracias por su paciencia y disposición para ayudarme y asesorarme en cualquier momento y circunstancia, por escuchar mis ideas y siempre tomarme en cuenta.

Al Departamento de Biodiversidad y Genética de IIBCE, muchas gracias por hacerme sentir desde el principio que era una más del equipo, tuve mucha suerte de encontrarlas y que me ayudaran en mi proceso de adaptación, siempre dispuestas a escucharme, ayudarme, y divertirnos. Cada una maravillosas personas Caro, Nadia, Naty, Marianna, Yani, Fede, Leticia, y en especial a Adriana y Susana por brindarme la oportunidad de trabajar allí.

A mi amiga Patricia Mut, más que gracias, fueron muchos los momentos compartidos juntas, muchos viajes, muchos bailes, muchas risas y lágrimas, gracias por tus palabras, por acompañarme siempre. Estoy segura de que faltan compartir muchos momentos más. A Soledad Rodríguez, siempre con una sonrisa, gracias por tu cariño, confianza, por abrirme las puertas de tu

casa y de tu familia, por escucharme y tus consejos. Mil gracias a las dos, facilitaron mi adaptación al país, me enseñaron muchas cosas y lo más importante me brindaron su amistad. Las quiero!!

A mis roomates, Fede y Caro, gracias por su paciencia, su compañía, tuve más que suerte de encontrarlos y poder convivir juntos.

A mi familia que desde lejos y regados por el mundo sé que me acompañan y se alegran de cada uno de mis logros. A mi madre, gracias por tu apoyo, por tu amor, por tus buenas energías. La mejor del mundo!

A Roberto D'Apuzzo, llegaste para quedarte en mi corazón y en mi vida. Gracias por estar, por tu ayuda incondicional, por acompañarme en todo, tu apoyo, por enseñarme a amar y porque estoy segura de que siempre lo haré.

A todos, gracias!

## Resumen

“Genes relacionados con la metabolización de medicamentos en pacientes hipertensos y población general, y su relación con el mestizaje poblacional en Tacuarembó”

La Hipertensión Arterial (HTA) es una enfermedad que puede afectar distintos órganos, a la vez que es un factor de riesgo para las enfermedades cardiovasculares. Para el año 2013 la prevalencia de HTA en la población uruguaya entre 25-64 años era del 36,6%. La terapia antihipertensiva se basa en tratamientos con fármacos de uso frecuente, que al ser empleados en individuos deficientes en el metabolismo del medicamento utilizado conllevan la aparición de efectos adversos, incluso fatales. Se han establecido diferencias importantes entre diferentes grupos étnicos en cuanto a la prevalencia de polimorfismos de genes que intervienen en el metabolismo de fármacos; sin embargo, en países con historias ligadas a intensos procesos de mestizaje, la multiétnicidad y la heterogeneidad genética hacen necesario determinar la frecuencia de las variantes genéticas en cada población para establecer patrones poblacionales propios. Los estudios farmacogenéticos poblacionales son el insumo para una mejor planificación de ensayos clínicos y de farmacovigilancia y deben ser relevantes en los servicios de salud y en la planificación de programas de salud pública. En este estudio buscamos asociar el conocimiento farmacogenético con la HTA en la población de Tacuarembó, ya que es el resultado de un notable aporte trihíbrido (europeo, africano e indígena) que la hacen de interés particular en estudios poblacionales. Se recolectaron 102 muestras de pacientes con hipertensión arterial y una muestra de 109 individuos de la población general de Tacuarembó, a su vez dentro del grupo de hipertensos se subdividieron las muestras entre individuos respondedores y no-respondedores al Enalapril. Se estudiaron dos genes asociados con la metabolización del Enalapril, la Inserción/Delección *Alu-ACE* (rs1799752) y el *CYP3A4\*1B* (rs2740574). Para estimar la ancestralidad de ambos grupos se analizaron las regiones hipervariables I y II del ADN mitocondrial y un panel de 79 marcadores individuales de ancestría (AIMs). La frecuencia de la Inserción/Delección *Alu ACE* arrojó diferencias significativas entre el grupo de hipertensos y la población general de Tacuarembó, pero no entre el grupo de respondedores y no-respondedores. La frecuencia del alelo G del *CYP3A4\*1B* fue similar a la reportada en otras poblaciones de Latinoamérica, no se encontraron diferencias significativas entre

el grupo de hipertensos respondedores y no-respondedores. En cuanto el análisis de ancestralidad, aproximadamente el 62% de los haplogrupos mitocondriales son de origen indígena. La estimación por medio de los AIMs mostró un mayor aporte indígena en la muestra de los hipertensos (0,22) en comparación con la población general de Tacuarembó (0,13); en ambos grupos el mayor aporte es el europeo (0,73-0,78). La presencia de la inserción del polimorfismo I/D *Alu-ACE* está más asociado con el componente indígena. Se observó una asociación del alelo G del polimorfismo *CYP3A4\*1B* y el aporte africano en no-respondedores. Este estudio representa un aporte al conocimiento de la estructura genética del departamento de Tacuarembó y es el primer intento en tratar de buscar asociación entre los polimorfismos relacionados con la metabolización al medicamento antihipertensivo Enalapril y ancestralidad.

## Índice

Introducción .....	1
1.1.- Aspectos generales de genética de poblaciones.....	1
1.1.1.- ADN de herencia uniparental.....	2
1.1.2.- ADN autosómico.....	3
1.2.- Variabilidad genética y Farmacogenética.....	4
1.3.- Hipertensión Arteria Esencial.....	7
1.4.- Tratamiento para la HTA.....	11
1.5.- Aspectos farmacogenéticos en la HTA.....	16
1.5.1.- ACE (Inserción/Delección).....	18
1.5.2.- CYP3A4*1B.....	20
1.6.- Variabilidad genética poblacional en Uruguay.....	25
1.7.- Aspectos epidemiológicos de la HTA en Uruguay. Prevalencia y tratamiento.....	26
Objetivos e Hipótesis.....	29
2.1.- Objetivo General.....	29
2.2.- Objetivos específicos.....	29
2.3.- Hipótesis.....	30
Materiales y métodos.....	31
3.1.- Población en estudio.....	31
3.1.1.- Pacientes con hipertensión arterial esencial.....	32
3.1.2.- Población General.....	35
3.2.- Caracterización de pacientes y población general en relación a variables asociadas a la HTA.....	36
3.2.1.- Índices antropométricos.....	36
3.3.- Análisis moleculares.....	37
3.3.1.- Recolección de la muestra y extracción de ADN.....	37
3.3.2.- Determinación de los polimorfismos genéticos asociados a la hipertensión y respuesta al Enalapril.....	38
3.3.2.1.- Análisis de los datos genéticos.....	41
3.3.3.- Polimorfismos informativos sobre la ancestralidad.....	43
3.3.3.1.- Análisis de datos para la estimación de la ancestralidad.....	46

3.4.- Asociación entre los polimorfismos del <i>ACE</i> y <i>CYP3A4</i> con la ancestralidad.....	47
3.5.- Asociación entre todas las variables consideradas.....	47
Resultados.....	48
4.1.- Caracterización general de los pacientes y población general.....	48
4.2.- Caracterización genética.....	51
4.2.1.- Frecuencias genotípicas y alélicas del gen <i>ACE</i> .....	51
4.2.1.1.- Distancias genéticas calculadas a partir del análisis de las frecuencias alélicas del gen <i>ACE</i> entre las poblaciones de estudio y otras de diferentes continentes.....	54
4.2.1.2.- Comparación intergrupala o entre grupos.....	57
4.2.2.- Frecuencias genotípicas y alélicas del <i>CYP3A4*1B</i> .....	58
4.2.2.1.- Distancias genéticas calculadas a partir del análisis de las frecuencias alélicas del <i>CYP3A4*1B</i> entre el grupo de pacientes con HTA y otras de diferentes continentes.....	60
4.2.2.2.- Comparación intergrupala o entre grupos.....	62
4.2.2.3.- Análisis de la secuencia de la región promotora del <i>CYP3A4</i> .....	63
4.3.- Caracterización sobre ancestralidad.....	65
4.3.1.- Estimación de ancestralidad a través del ADN mitocondrial.....	65
4.3.2.- Estimación de mestizaje a través de marcadores informativos de ancestralidad (AIMs).....	67
4.4.- Asociación entre ancestralidad y los polimorfismos estudiados.....	70
4.4.1.- Inserción/Delección <i>Alu-ACE</i> .....	70
4.4.2.- Polimorfismo <i>CYP3A4*1B</i> .....	72
4.5.- Asociación de todas las variables consideradas.....	73
Discusión.....	78
5.1.- Variables biológicas e hipertensión arterial.....	78
5.2.- Análisis genético.....	84
5.3.- <i>ID Alu</i> del gen <i>ACE</i> y el <i>CYP3A4*1B</i> .....	85
5.4.- Ancestralidad.....	93
5.5.- Ancestralidad, polimorfismos estudiados y otras variables.....	95
Conclusión.....	98
Bibliografía.....	102

## Índice de tablas

Tabla 1. Cifras meta de PA según tipo de población y grupos etarios .....	8
Tabla 2. Fármacos en el tratamiento antihipertensivo .....	12
Tabla 3. Distribución por edad y sexo en las muestras de HTA y población general de Tacuarembó. N(frecuencias).....	48
Tabla 4. Características generales de los pacientes respondedores y no-respondedores al fármaco. N(frecuencias).....	50
Tabla 5. Valores observados y frecuencias genotípicas y alélicas del gen <i>ACE</i> en las poblaciones estudiadas.....	52
Tabla 6. Distribución de las frecuencias genotípicas de la <i>I/D Alu-ACE</i> entre grupos de edad y sexo. ....	53
Tabla 7. Valores observados y frecuencias genotípicas y alélicas del gen <i>ACE</i> entre respondedores y no-respondedores al fármaco .....	54
Tabla 8. Frecuencias alélicas de la Inserción <i>Alu-ACE</i> a nivel mundial .....	55
Tabla 9. Valores observados y frecuencias genotípicas y alélicas del gen <i>CYP3A4*1B</i> entre HTA y otras poblaciones a nivel mundial.....	59
Tabla 10. Valores observados y frecuencias genotípicas y alélicas del <i>CYP3A4*1B</i> entre pacientes con HTA y entre hipertensos respondedores y no-respondedores al fármaco .....	60
Tabla 11. Frecuencias alélicas del polimorfismo <i>CYP3A4*1F</i> .....	64
Tabla 12. Valores observados y frecuencia de los haplogrupos de ADNmt de la población de HTA Tacuarembó .....	65
Tabla 13. Valores observados y frecuencia de los haplogrupos de ADNmt entre el grupo de respondedores y no-respondedores.....	67
Tabla 14. Estimación de ancestralidad por AIMs usando STRUCTURE k=3 en HTA y Población General.....	69
Tabla 15. Estimación de ancestralidad por AIMs usando STRUCTURE k=3 en Respondedores y No-respondedores .....	70
Tabla 16. Frecuencia fenotípica del <i>I/D Alu Ace</i> y el <i>CYP3A4*1B</i> entre todas las muestras de estudio.....	¡Error! Marcador no definido.

## Índice de Figuras

Figura 1. Interacción del IECA con el RAAS.....	14
Figura 2.Ubicación en el cromosoma del gen ACE.....	18
Figura 3.Frecuencia del polimorfismo <i>ACE</i> I/D (rs1799752). ....	19
Figura 4. Esquema del metabolismo de una droga (R) cuando entra en una célula .....	22
Figura 5. Ubicación en el cromosoma 7 del locus <i>CYP3A4</i> .....	22
Figura 6. Frecuencia del polimorfismo <i>CYP3A4*1B</i> (rs2740574) a nivel mundial .....	24
Figura 7 <sup>a</sup> y 7 <sup>b</sup> . Ubicación de las Policlínicas donde se recolectaron las muestras.....	33
Figura 8. Estructura del gen <i>ACE</i> y ubicación del polimorfismo Inserción/Delección.....	38
Figura 9. Estructura del gen <i>CYP3A4</i> y ubicación de los polimorfismos más estudiados.....	40
Figura 10. Esquema del genoma mitocondrial humano y detalle de la región control, con la localización aproximada de las regiones hipervariables.....	45
Figura 11. Determinación de los genotipos del <i>Alu-ACE</i> por gel de agarosa. D/D homocigoto para el alelo D, D/I heterocigoto, I/I homocigoto para el alelo I.....	51
Figura 12. Dendrograma de la Inserción <i>Alu-ACE</i> a partir del cálculo de distancias genéticas por FST en las poblaciones de estudio y otras a nivel mundial .....	57
Figura 13. Cromatograma de los genotipos para el gen <i>CYP3A4*1B</i> .....	58
Figura 14. Dendrograma del gen <i>CYP3A4*1B</i> a partir del cálculo de distancias genéticas por FST en las poblaciones de HTA de Tacuarembó y otras a nivel mundial.....	62
Figura 15. Determinación por el cromatograma de los genotipos del <i>CYP3A4*1F</i> .....	63
Figura 16. Valores DeltaK Structure .....	68
Figura 17. Estimación de mestizaje por el Structure K=3 .....	68
Figura 18. Boxplot de los componentes ancestrales en la muestra de HTA y Población general de Tacuarembó (Pob Gen).....	69
Figura 19. Boxplot de los componentes ancestrales en los hipertensos respondedores y no-respondedores .....	70
Figura 20. Boxplot de la asociación entre la presencia de la Inserción (I) y ausencia (D) del <i>Alu-ACE</i> y los componentes ancestrales en el grupo de HTA y población general .....	71
Figura 21. Boxplot de la asociación entre la presencia de la Inserción (I) y ausencia (D) del <i>Alu-ACE</i> y los componentes ancestrales en el grupo de respondedores y no-respondedores .....	72

Figura 22. Boxplot de la asociación entre los alelos A y G del <i>CYP3A4*1B</i> y los componentes ancestrales en el grupo de respondedores y no-respondedores.....	73
Figura 23. Análisis de correspondencia múltiple entre respondedores, no-respondedores, sexo, variables antropométricas, variables genéticas y ADNmt .....	74
Figura 24. ANOSIM entre respondedores y no-respondedores en relación a sexo, genotipos y ADNmt.....	75
Figura 25. Análisis de correspondencia múltiple entre respondedores, no-respondedores, sexo y variables genéticas .....	76
Figura 26. ANOSIM entre respondedores y no-respondedores para sexo y genotipos .....	77

## **Introducción**

### **1.1.- Aspectos generales de genética de poblaciones**

La Genética de Poblaciones, es aquella área de la genética que se encarga de estudiar la variabilidad a nivel intra e inter poblacional, por medio del análisis de la estructura genética (frecuencias fenotípicas, genotípicas y alélicas), dejando entrever qué mecanismos evolutivos están influyendo o han influido en la población de estudio, para así buscar las interpretaciones biológicas, culturales y sociales pertinentes (Cavalli-Sforza y Bodmer, 1981). Los estudios de genética de poblaciones buscan detectar y analizar la variabilidad genética que existe entre los individuos de distintas poblaciones. Tal es el caso de la población actual de Uruguay, que es el resultado de diferentes aportes genéticos continentales, el amerindio original, el europeo y el africano, por lo que puede ser considerada híbrida (Sans et al., 1997).

Las poblaciones humanas presentan en su acervo genético frecuencias alélicas particulares que la diferencian de las demás. La fuente de estudio de la variabilidad desde el punto de vista genético son los polimorfismos, los cuales se pueden definir como la existencia simultánea de al menos dos alelos para un gen donde el alelo menos frecuente tiene una frecuencia mayor o igual al 1%. Es a través del estudio de los polimorfismos que es posible analizar y tipificar las frecuencias poblacionales, para conocer de manera directa la estructura genética de las mismas (Cavalli-Sforza y Bodmer, 1981). También permiten clasificar y diferenciar a los grupos humanos de manera intra e interpoblacional, lo que brinda la posibilidad de trazar vías migratorias y procesos de mestizaje. Por esta razón, son una herramienta muy poderosa para el estudio de la evolución, caracterización y variación entre las poblaciones (Schandield, 2006).

El aislamiento geográfico y la endogamia debido a fuerzas sociales y culturales, ocurridas durante extensos períodos de tiempo, han creado y reforzado las diferencias genéticas poblacionales, mientras que las migraciones y el flujo de genes por el contrario han reducido en algunos casos dichas diferencias (Risch et al., 2002). El resultado de los diversos procesos microevolutivos es que no hay límites geográficos definidos, sino que existe una gradación en el predominio o frecuencia de determinados polimorfismos relacionados principalmente a la

distancia geográfica (Burroughs et al., 2002). La mayor variabilidad genética ocurre entre individuos de una misma población, en relación a la que hay entre diferentes poblaciones. Se ha descrito que, a nivel de la especie humana, la variación intrapoblacional está en torno al 90% y 95% de la variación total en sus genes autosómicos; mientras que las diferencias entre poblaciones de diferentes continentes se han estimado aproximadamente entre 5% y 9% (Rosenberg et al., 2002).

Un aspecto importante en microevolución radica en el hecho de entender el papel que juegan los niveles de flujo génico causados por los eventos de migración, los cuales se pueden medir entre los componentes tanto a nivel intra como interpoblacional evaluados por la genética de poblaciones (González y Barreto, 2013). Estos niveles se pueden verificar a partir de la presencia de cambios en la estructura de ADN, así como a través de la evaluación de las frecuencias y distribución que presentan varios polimorfismos nucleares, entre ellos los del tipo microsatélites (STR) y los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) tanto en las regiones autosómicas como en el cromosoma Y. Estos últimos son la variación más frecuente del genoma humano.

#### 1.1.1.- ADN de herencia uniparental

El sistema de herencia del ADN mitocondrial (ADNmt) y del segmento no recombinante del cromosoma Y se conoce como uniparental, debido a la transmisión de segmentos de ADN que no intervienen en la recombinación, son heredados por el padre o la madre a las siguientes generaciones. Esos segmentos no recombinantes son particularmente informativos en estudios de índole evolutivo y de diferenciación genética entre y dentro de las poblaciones. Estos fragmentos se conocen como “haplotipos”, definidos como bloques completos de bandas y loci dispuestos en los cromosomas o en el ADNmt, cedido a sus descendientes en forma obligada, debido a la ausencia de recombinación (Pardo-Govea et al., 2007).

Muchos estudios sobre el origen ancestral del *Homo sapiens* y sobre el poblamiento de América fueron abordados a través de la identificación de haplotipos presentes en sus poblaciones (Pardo-Govea et al., 2007). Cobra especial importancia el ADN mitocondrial, ya que, sobre la base del conocimiento disponible, se puede asumir que toda variación en ese genoma proviene de

eventos de mutación. Por lo tanto, es posible trazar rutas migratorias y calcular diversidad intrapoblacional y distancias interpopulacionales, aún en casos de poblaciones que han divergido en tiempos relativamente recientes (Figueiro, 2006).

En líneas generales, la molécula de ADNmt posee mayores ventajas para estudios de uso poblacional y de evolución que el ADNn, debido a: 1- El elevado número de mitocondrias que posee cada célula. 2- La alta cantidad de moléculas de ADNmt organizados en nucleoides en comparación con el limitado número de moléculas de ADN encontradas en el núcleo de la célula. 3- La pausada descomposición de mitocondrias, que facilita la toma de muestras en materiales degradados. 4- Una tasa de mutación promedio de 5 a 10 veces mayor que el segmento de ADN nuclear. 5- La ausencia de recombinación con otros genes de ADN nuclear que permiten trazar vías migratorias que edifiquen la historia y la evolución del ser humano a través de linajes maternos. Es importante recordar, que la complejidad genética y diferencial que cada grupo humano será reflejo de la interacción de las fuerzas evolutivas y de los procesos socioculturales que intervengan (Robin y Wong, 1988 en Pereira Dos Santos, 2005; Castro de Guerra et al., 2009).

### 1.1.2.- ADN autosómico

Un marcador genético es un segmento de ADN con una ubicación física conocida en un cromosoma ([www.genome.gov](http://www.genome.gov)). En el caso de los marcadores autosómicos, un grupo de SNPs se pueden usar para predecir la ascendencia continental de un individuo y por lo tanto inferir sobre ese aporte genético en poblaciones de interés. Aunque se han identificado millones de SNPs, se ha demostrado que solo un pequeño subconjunto necesita ser genotipado para predecir con exactitud la ancestralidad (Sampson et al., 2011). Estas mutaciones son conocidas como Marcadores Informativos de Ancestralidad (AIMs) se usan comúnmente para estimar las proporciones de mestizaje de manera eficiente y económica. Los AIMs son polimorfismos que muestran grandes diferencias en la frecuencia de los alelos entre las poblaciones de diferentes continentes y se pueden usar para inferir los orígenes geográficos de los individuos y/o poblaciones (Galanter et al., 2012). Usando un panel de AIMs distribuidos a lo largo del genoma, es posible estimar las proporciones ancestrales relativas en individuos mezclados como los latinoamericanos, así como inferir el tiempo transcurrido desde el proceso de mezcla (Falush et al., 2003).

Varios grupos de investigación han diseñado paneles para estimar la ascendencia individual y controlar los efectos de la estratificación en las poblaciones latinoamericanas. Son varias las propuestas sobre el número y los marcadores informativos para estudiar estas poblaciones. Un grupo de investigadores realizaron un estudio probando un panel de 446 AIMs en 18 poblaciones americanas, después de una serie de validaciones y diferentes criterios de control de calidad, estimaron 325 de éstos eran suficientemente poderosos para determinar la ancestralidad en poblaciones mestizas y específicamente latinoamericanas (Galanter et al., 2012). Posteriormente, Marcheco-Teruel et al. (2014), utilizaron 128 AIMs del grupo de los 325 anteriormente mencionados para estimar la ancestralidad en 1019 individuos de Cuba. Duque et al. (2012), estimó el componente ancestral autosómico con 75 AIMs del grupo de los 325 mencionados anteriormente, en la población de Antioquia, Colombia, y concluyeron que este número de AIM tiene un alto poder informativo para estimar la proporción de mezcla individual, aunque no es suficiente para aportar información de utilidad epidemiológica.

## **1.2.- Variabilidad genética y Farmacogenética**

Es importante entender que los estudios de microevolución humana son la fuente de datos más importante utilizada en la verificación de la distribución de la variabilidad entre diferentes grupos poblacionales humanos. Su utilidad involucra la identificación de variantes genéticas, dado por el uso de diferentes tipos de marcadores moleculares, principalmente SNPs, ya que provienen de poblaciones con origen específico. En el caso de poblaciones latinoamericanas, la multietnicidad asociada a sus orígenes genera distinta cantidad y distribución de la variación genética en las mismas, situación conocida como estructuración genética, la cual implica la distribución de los alelos de diferentes orígenes en algunos segmentos de la población (Rondón González y Barreto, 2013).

Conocer la diversidad genética de las diferentes poblaciones humanas puede constituir un importante aporte para los estudios de salud. Muchos de los SNPs descritos están asociados a enfermedades o diferencias en el metabolismo de drogas, por esa razón, debido a los complejos y variados procesos de mestizaje, los grupos poblacionales con distintos orígenes ancestrales no deberían ser considerados como iguales, ya sea en términos de riesgos de enfermedades o

respuestas a las drogas (Risch et al., 2002). El origen ancestral es un factor de riesgo que puede cambiar la probabilidad que un individuo responda de la manera esperada a la terapia que le fue asignada. Sin embargo, esta ancestralidad es una etiqueta imprecisa para las variaciones genéticas que una persona puede o no poseer. En la actualidad es posible tomar los datos genéticos de los individuos y determinar la presencia de polimorfismos en los genes que se saben predisponen a padecer una enfermedad o están involucrados en la capacidad de respuesta de los medicamentos. Un perfil genotípico puede determinar con certeza si un individuo posee o no estos polimorfismos. De acuerdo con Burroughs et al. (2002), en el futuro, los tratamientos médicos van a estar individualmente adaptados, basados en su origen ancestral.

Las diferencias en el origen individual de los integrantes de las poblaciones generan variabilidad intrapoblacional. Describir esa variabilidad tiene importantes implicaciones, tanto en investigaciones básicas como aplicadas. En términos generales, los polimorfismos en genes que no se asocian a una patología son de interés en estudios familiares y en la identificación de individuos, así como en investigaciones criminales o biológicas de paternidad (Torrades, 2002). Pero hay polimorfismos con origen étnico o continental específico que dan origen procesos patológicos, originando las enfermedades genéticas monogénicas, como es el caso de la anemia drepanocítica, la fibrosis quística o la Corea de Huntington. Algunos otros funcionan como mecanismos de defensa contra algunas enfermedades infecciosas, como son los casos de malaria y tuberculosis, mientras que hay polimorfismos que pueden tener su principal impacto sobre funciones orgánicas importantes, o, pueden constituir factores de riesgo, como es el incremento en el desarrollo de ciertas enfermedades poligénicas y multifactoriales (Lares-Asseff et al., 2001). Es por esta razón que son de especial interés en la prevención y el estudio de los mecanismos moleculares de enfermedades complejas como el Alzheimer, diabetes o hipertensión, entre muchas otras (Luque y Herráez, 2000; Iniesta et al., 2005).

Por otra parte, las variaciones genéticas en las enzimas metabolizadoras de medicamentos son reconocidas como una de las mayores causas de variabilidad interindividual en la respuesta a ciertos fármacos (Scordo et al., 2004). Es importante mencionar que la respuesta a los medicamentos está medida por tres grandes factores; el primer factor incluye los aspectos biológicos como la edad, el sexo y la constitución genética de los individuos; el segundo factor está determinado por influencias ambientales como la dieta, clima, consumo de cigarrillos, alcohol,

drogas y agentes contaminantes, mientras que el tercer factor los constituye aspectos culturales y psicosociales, que tienen que ver con las actitudes y creencias que pueden presentarse en algunas etnias y como éstos pueden afectar la efectividad o adherencia de una terapia médica en particular. Es importante aclarar que varios de estos factores pueden actuar simultáneamente en un mismo individuo, afectando el proceso de absorción de las drogas, distribución, biotransformación, excreción e interacción del receptor en diferentes modos y en diferentes grados (Laress-Asseff et al., 2001; Sookoian et al., 2004; Abad Santos et al., 2008).

Entre los factores mencionados tienen especial importancia la constitución genotípica de los individuos, ya que las enzimas que metabolizan las drogas son codificadas por genes que poseen diferencias en su expresión y pueden afectar la reacción individual de los pacientes. Desde 1950 se conoce la existencia de individuos “metabolizadores rápidos” y “metabolizadores lentos” en respuesta a un fármaco, explicando respectivamente que el fármaco sea ineficaz o resultar en una exagerada acumulación del mismo en el organismo. Es importante conocer las diferencias interindividuales en la respuesta a los medicamentos. Hasta ahora es evidente la variabilidad de los genes que codifican para aquellas enzimas metabolizadoras y que afectan en gran modo el resultado del tratamiento de la droga (Ingelman-Sundberg et al., 2007). En ese sentido han cobrado auge los estudios en el área de la farmacogenética, que se ocupa de correlacionar la información genética del paciente con su respuesta a los fármacos, con la finalidad de administrar a cada paciente el tratamiento más adecuado. Es una disciplina orientada al estudio de los aspectos genéticos relacionados con la variabilidad de la respuesta a medicamentos en individuos o poblaciones. Su objetivo es conseguir una medicina individualizada, es decir, administrar el fármaco más eficaz con el menor riesgo de efectos adversos y la dosis adecuada desde el primer momento (Abad Santos et al., 2008).

La distribución y frecuencia de ciertos polimorfismos en genes asociados con la actividad metabolizadora de diversos fármacos también pueden presentar diferencias entre grupos étnicos (Hong-Hao Zhou, 2002).

### 1.3.- Hipertensión Arterial Esencial

La presión arterial (PA) es la fuerza que ejerce la sangre contra las paredes de los vasos (arterias) al ser bombeada por el corazón. La hipertensión arterial (HTA), también conocida como presión arterial alta o elevada, es un trastorno en el que los vasos sanguíneos tienen una tensión persistentemente alta, lo que puede dañarlos. Cuanto más alta es la tensión, más esfuerzo tiene que realizar el corazón para bombear (OMS, 2018). La HTA es una enfermedad multifactorial y se define como una elevación de la presión arterial sistólica igual o mayor a 140 mmHg, así como una elevación de la presión arterial diastólica igual o mayor a 90 mmHg (Carretero y Oparil, 2000; Ramírez-Bello et al., 2011).

La HTA es un factor de riesgo para un grupo denominado enfermedades no transmisibles (ENT), que comprenden las cardiovasculares, cáncer y diabetes, entre otras, y son responsables del 70% de las muertes que ocurren en el mundo; en Uruguay representan el 60% (Ministerio de Salud Pública Uruguay, 2017).

Hay dos tipos de hipertensión arterial, la primaria o esencial y la secundaria. La hipertensión arterial esencial representa más del 90% de los casos de hipertensión en Estados Unidos (Oparil et al., 2003). Es un trastorno heterogéneo, dado que diferentes pacientes que tienen diferentes factores causales que llevan a una alta presión arterial.

La presión arterial es un rasgo cuantitativo que es altamente variable. Existe una fuerte correlación positiva y continua entre la presión arterial y el riesgo de enfermedades cerebro vasculares (ECV), enfermedad renal y mortalidad. Esta correlación es más robusta con la presión arterial sistólica que con la diastólica (Carretero y Oparil, 2000). El *European Study on Cardiovascular Risk Prevention and Management in Daily Practice* (EURIKA, 2011), es un estudio internacional en el que participan 12 países de Europa (Austria, Bélgica, Francia, Alemania, Grecia, Noruega, Rusia, España, Suiza, Suecia, Turquía y Reino Unido) adjudica el 8,8% de riesgo de ECV a la falta de control de la HTA.

El reporte de la guía del *Eighth Joint National Committee* (JNC 8) en 2014, la cual está avalada por la Organización Mundial de la Salud y la Sociedad Americana de la Hipertensión, y la Guía Canadiense de manejo de HTA del 2016, establecen criterios en las cifras de presión

arterial deseables para la población general y por grupos etarios, los cuales son referencia en la mayoría de los países a nivel mundial, entre esos Uruguay. Los valores que plantean se muestran en la Tabla 1.

*Tabla 1.* Cifras meta de PA según tipo de población y grupos etarios

<b>Grupo poblacional</b>	<b>Cifras de PA objetivo</b>
Población general $\geq 18$ años	PAS < 140 mmHg
	PAD < 90 mmHg
Población > 80 años	PAS < 150 mmHg
	PAD < 90 mmHg
Población $\geq 18$ años con Diabetes Mellitus	PAS < 130 mmHg
	PAD < 80 mmHg

En 2005 la Organización Mundial de la Salud estimó que la mortalidad debida a la hipertensión fue de aproximadamente 7,5 millones a nivel mundial (Zubeldia et al., 2016). Para el año 2010 se estimó que la prevalencia de hipertensión era de 1.39 billones de personas a nivel mundial, representando el 31% de todos los adultos. Comparando con datos mundiales del año 2000 se observó un aumento de 5,2% en la prevalencia de esta enfermedad (Mills et al., 2016).

El Instituto Nacional de Salud Pública de México en el 2006 estimó 17 millones de hipertensos en la población adulta, cifra con la que se alcanza una prevalencia de 30,8% (Ramírez-Bello et al., 2011). Los resultados del Estudio de Nutrición y Riesgo Cardiovascular en España (ENRICA) señalan que el 33,3% de la población española es hipertensa (Zubeldia et al., 2016). En Estados Unidos se estima que 43 millones de personas son hipertensas lo que representa el 24% de la población adulta (Carretero y Oparil, 2000).

Dentro de los factores de riesgo para HTA, podemos encontrar conductuales y biológicos. Los factores de riesgo conductuales son: consumo de tabaco, consumo nocivo de alcohol, inactividad física, alimentación no saludable. Dentro de los factores de riesgo biológicos encontramos: edad, sexo, sobrepeso/obesidad, glucemia elevada. El principal factor de riesgo biológico es el aumento de la presión arterial, al que se atribuyen el 19% de las muertes a nivel mundial, seguido por el sobrepeso y la obesidad y el aumento de la glucosa sanguínea (Ministerio

de Salud Pública Uruguay, 2017). El reconocimiento de estos factores hipertensinogénicos principalmente conductuales, puede permitir la prevención, el tratamiento o la cura no farmacológica de la hipertensión. Factores como la obesidad, resistencia a la insulina, alto consumo de alcohol, también tienen un alto componente genético.

Se ha postulado que la obesidad, y especialmente la obesidad abdominal, es el principal factor hipertensinogénico. Se estima que cada aumento de peso del 10% se asocia con aumento de 6,5 mmHg en la presión arterial sistólica (Ashley y Kannel, 1974). La obesidad es también la causa de la resistencia a la insulina, diabetes mellitus de inicio en adultos, hipertrofia ventricular izquierda, hiperlipidemia y enfermedad aterosclerótica. Es un importante problema de salud cardiovascular, su incidencia y prevalencia están aumentando en la mayoría de las sociedades industrializadas y en los Estados Unidos ha alcanzado proporciones epidémicas (Carretero y Oparil, 2000).

Una forma de medir la obesidad es el Índice de Masa Corporal (IMC). Se ha observado una asociación directa entre éste y la hipertensión en estudios de población transversales y longitudinales desde la infancia hasta la vejez. Un IMC <25 es considerado normal o saludable, mientras que un IMC de 26 a 28 (en comparación con el IMC <23) aumenta el riesgo de una presión alta en un 180% y el riesgo de resistencia a insulina >1000% (Haffner et al., 1992; Carretero y Oparil, 2000).

El Índice Cintura-Talla (IC/T) es otra variable antropométrica que ha sido propuesta como un predictor superior del daño cardiovascular; se construye de la relación entre la estatura del sujeto y la circunferencia de la cintura (Muñoz et al., 2016). Representa una correlación relativamente simple, útil y no invasiva, para ser aplicado en individuos vulnerables, y es una alternativa bastante utilizada en estudios poblacionales sobre obesidad y distribución regional de la grasa, teniendo en cuenta su eficacia para detectar riesgo cardiometabólico. La circunferencia de la cintura debe estar en menos de la mitad de la talla, de ahí que si es mayor de 0,5, es diagnóstica de obesidad abdominal, cifras mayores han mostrado tener una elevada correlación con el porcentaje de masa grasa corporal, y algunos profesionales lo reconocen como el mejor predictor de riesgo en pacientes con síndrome metabólico, equiparable al índice de masa corporal en la predicción de diabetes mellitus tipo 2, según algunos autores (Hernández Rodríguez y Duchi Jimbo, 2015). En el año 2014 Torresani et al., estudiaron 316 mujeres de la ciudad-capital de

Buenos Aires y concluyeron que el IC/T se asoció fuertemente con el LDL y la HTA. Gonzales et al. (2011) encontró que el IC/T se asoció fuertemente en sujetos mexicanos con la glucosa elevada en ayunas, los triglicéridos, HTA y HDL. En Chile Koch et al. (2008), reportaron que la HTA, diabetes mellitus tipo 2 y las dislipidemias fueron más frecuentes en aquellos sujetos con IC/T alto.

Se considera que las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de mortalidad en las mujeres, con el 70% de las muertes cardiovasculares atribuibles a factores de riesgo modificables, como la hipertensión. En la Comunitat Valenciana, España, en 2013 las enfermedades cardiovasculares fueron la primera causa de defunción en mujeres (34,4%) y la segunda en hombres (28,0%) (Zubeldia, et al., 2016). Los datos del *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES), en EEUU entre 1999 y 2004, mostraron disparidades significativas de género en los niveles de PA, en los cuales la presión arterial sistólica (PAS) fue alrededor de 4 mmHg más alta en las mujeres (Ong et al., 2008). Un gran estudio de 11782 pacientes hipertensos de Europa, Norte América, Asia y Latinoamérica encontró una PAS significativamente más alta en mujeres en comparación con los hombres, mientras que la PAD no evidenció diferencia entre sexos (Thoenes et al., 2010). Huertas Robles (2001), reporta en México que la mujer posmenopáusica existe mayor prevalencia de hipertensión arterial.

La edad está considerada como un factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares. Las mujeres al llegar a la menopausia presentan un progresivo aumento de la incidencia de enfermedad coronaria aguda (Magro López et al., 2004). Zubeldia et al., (2016), para la Comunitat Valenciana reportó que la asociación de la presión arterial con la edad manifestó una tendencia positiva ascendente con el aumento de la edad. La probabilidad de tener HTA de las personas de 45 a 64 años fue cuatro veces mayor que el grupo de referencia y para los sujetos de más de 64 años fue quince veces mayor.

Se tiene información acerca de variaciones genéticas o genes cuyos productos están sobreexpresados o subexpresados, así como los fenotipos intermedios que regulan para causar una alta PA (Carretero y Oparil, 2000). Se ha estimado que el componente genético es muy importante para el desarrollo de la HTA, varios estudios han puesto en evidencia que los genes juegan un papel principal en su desarrollo; el carácter hereditario llega a exceder 50%. Existen dos estrategias principales para identificar genes de susceptibilidad a HTA, los análisis de ligamiento y los análisis

de asociación. En el 2010 se incrementaron drásticamente los estudios de genes candidatos a HTA y hallaron algunos genes que son excelentes candidatos porque codifican a proteínas que regulan la presión sanguínea y que participan en el sistema renina-angiotensina, son el convertor de la enzima aniotensina I (*ACE*), el angiotensinogen (*AGT*) y el receptor 1 de angiotensina II (*AGTR1*) (Ramírez-Bello et al., 2010). En tres metaanálisis se evidenció que el genotipo 235T/T del gen del angiotensinógeno *AGT* confiere susceptibilidad a HTA. Otro metaanálisis demostró que la variante T174M y dos variantes ubicadas en la región promotora G-217A y A-20C del *AGT* se asociaron con riesgo a HTA (Pereira et al., 2008). Otros genes que se asocian con HTA son los que codifican para el óxido nítrico sintasa endotelial (*eNOS*), factor de necrosis tumoral-alfa (*TNF-alfa*), interleucina-6 (*IL-6*), entre otros (Ramírez-Bello et al., 2010). El gen *ACE* y en particular el polimorfismo de Inserción/Delección del exón 16, tiene como principal efecto una alteración de las concentraciones celulares y plasmáticas de la enzima codificada por este gen, convirtiéndolo en un posible candidato para la susceptibilidad al desarrollo de afecciones tales como la enfermedad cardiovascular, HTA y las complicaciones crónicas de la diabetes (Danilov et al., 2017).

#### **1.4.- Tratamiento para la HTA**

Para iniciar la terapia farmacológica en pacientes con HTA, sus cifras de PA deben estar por encima de los valores meta previamente expuestos en la Tabla 1. Los 5 grupos farmacológicos considerados de primera línea para el inicio de la terapia farmacológica antihipertensiva son: inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA), antagonistas de los receptores de la angiotensina II (ARA II), diuréticos tiazídicos, calcio antagonistas dihidropiridínicos (DHP) y beta bloqueantes (Tabla 2) (Ministerio de Salud Pública, 2017).

Tabla 2. Fármacos en el tratamiento antihipertensivo

<b>Grupo Farmacológico</b>	<b>Opciones y dosis (día)</b>	<b>Efectos secundario principales</b>
Diuréticos	Hidroclorotiazida: 12,5 - 50 mg Indapamida: 1,5 - 2,5 mg	Hipopotasemia, hiponatremia, hiperuricemia, hiperglicemia
Calcio antagonistas DHP	Amlodipina: 5 - 10 mg Nifedipina retard: 40 - 60 mg Lercandipina: 10 - 20 mg Nicardipina: 60 - 120 mg	Edema de MMII
IECA	Captopril: 25 - 200 mg Cilazapril: 2,5 - 5 mg Enalapril: 20 - 40 mg Lisinopril: 10 - 40 mg Perindopril: 2,5 - 10 mg Quinapril: 10 - 20 mg Ramipril: 5 - 20 mg	Tos seca, angiodema, hiperpotasemia
ARA II	Losartan: 50 - 100 mg Candesartan: 8 - 16 mg Ibersartan: 150 - 300 mg Temilsartan: 20 - 80 mg Vasaltran: 80 - 320 mg	Hiperpotasemia, tos
Beta bloqueantes	Carvedilol: 12,5 - 25 mg Labetalol: 200 - 800 mg Propranolol: 80 - 240 mg Atenolol 25 - 100 mg Bisoprolol: 5 - 20 mg Metropolol: 50 - 400 mg Nevibolol: 5 - 40 mg	Broncoespasmo, bradicardia, bloqueos Mejor tolerados en EPOC, asma, diabeticos

La octava guía del Eighth Joint National Committee (JNC 8) para el manejo de la HTA, la cual se usa en Uruguay, recomienda los IECA y los ARA II como tratamiento de primera línea para la mayoría de los pacientes hipertensos. Al igual que los otros antihipertensivos, no son 100% efectivos ni son 100% seguros (Flaten y Monte, 2017).

Se han desarrollado dos tipos de medicamentos para tratar la HTA mediante la orientación del sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS) a diferentes niveles: los Inhibidores de la enzima convertidora de la Angiotensina (IECA) que bloquean específicamente la cascada que conduce a la producción de angiotensina II (AngII) y los bloqueadores de los receptores de la angiotensina II (ARBs), que principalmente se unen a los receptores AngII, antagonizando así el efecto de AngII (Lupoli et al., 2015).

El sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS), a través de la modulación del equilibrio de electrolitos y líquidos corporales, controla la función cardiovascular y renal (Lupoli et al., 2015). Los efectos fisiológicos de su efector principal, la angiotensina II (AngII), un potente vasoconstrictor, están mediados por el receptor de la angiotensina II tipo I (AT1R). El AT1R tiene efectos vasopresores y regula la secreción de aldosterona; es un efector importante que controla la PA y el sistema cardiovascular (Catt et al., 1984). La AngII también participa en la proliferación celular, la hipertrofia íntima-media y la disfunción endotelial (Lupoli et al., 2015).

El RAAS regula la PA mediante la liberación de angiotensinógeno del hígado al torrente sanguíneo. El angiotensinógeno es escindido por la renina para formar la angiotensina I que luego se convierte en angiotensina II a través de la enzima convertidora de angiotensina, ACE. La angiotensina II promueve la constricción de los vasos sanguíneos que conduce a un aumento de la presión arterial. Los IECA inhiben la conversión de la angiotensina I a la angiotensina II, lo que reduce la presión arterial al prevenir la constricción del músculo liso en la vasculatura y al reducir la liberación de aldosterona (Figura 1) (Cooper-DeHoff y Johnson, 2016; Flaten y Monte, 2017).

Los genes de las enzimas que participan en el sistema RAAS, tienen polimorfismos con diferentes variantes que participan de distinta manera; algunas de las cuales son específicas o más frecuentes en algunos grupos humanos.

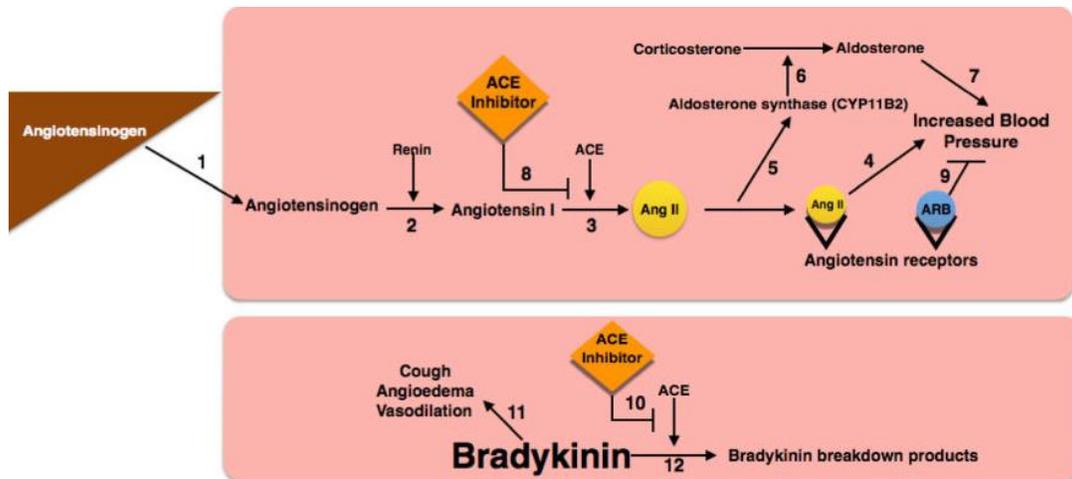


Figura 1. Interacción del IECA con el RAAS

El angiotensinógeno se libera del hígado (1) a la sangre, donde se convierte en angiotensina I por acción de la renina (2). La angiotensina I se convierte en angiotensina II (Ang II) por la enzima convertidora de angiotensina (ACE, 3). Ang II se une a los receptores de angiotensina, lo que resulta en un aumento de la presión arterial (4). Ang II también estimula la producción y liberación de aldosterona (5, 6), lo que conduce a un aumento de la presión arterial (7). Los IECA impiden la conversión de angiotensina I en Ang II (8). Los bloqueadores del receptor de angiotensina compiten con Ang II en los sitios de unión de los receptores de angiotensina y dan como resultado una disminución de la PA (9). ACE es una enzima importante para la descomposición de la bradiquinina (12). En presencia de la inhibición del ACE, la bradiquinina se acumula y puede provocar efectos adversos (10, 11). Tomado de Flaten y Monte, 2017.

La conversión de angiotensina I a angiotensina II no es la única vía que produce angiotensina II; la tripsina, la catepsina o la quimasa del corazón producen angiotensina II, lo que provoca como efecto el aumento de la presión arterial. Los IECA son inhibidores competitivos y la producción de hormonas se puede superar aumentando el sustrato de angiotensina I in vitro. Además, los IECA inhiben el metabolismo de la bradiquinina, lo que provoca efectos secundarios como tos seca y angioedema (Flaten y Monte, 2017).

Dentro del grupo de los Inhibidores de la enzima convertidora de la Angiotensina (IECA), específicamente el Enalapril es uno de los fármacos antihipertensivos más consumidos en el Uruguay, y es proporcionado de forma gratuita en las policlínicas y hospitales públicos por la Administración de los Servicios de Salud del Estado (ASSE). Mangoush et al. (1990) estudió la eficacia del Enalapril en 67 pacientes hipertensos en Libia, encontraron que solo falla en el control

de la PA en pacientes con hipertensión severa. La dosis óptima para la mayoría de los pacientes que lograron la normalización de la PA fue 20 – 40 mg por día. En Noruega, estudios comparativos del Enalapril con betabloqueantes (Propanol, Metoprolol y Atenolol) en pacientes con hipertensión leve a moderada han revelado que es igual o más eficaz (Helgeland et al., 1986). La comparación entre Enalapril y Atenolol reveló una eficacia casi paralela de los dos fármacos en todos los grados de hipertensión, aunque el porcentaje de reducción de la PA con enalapril fue superior al atenolol. Además, la reducción de la presión arterial sistólica (PAS) fue más marcada con enalapril que con atenolol en pacientes con hipertensión leve a moderada en Libia. En conclusión, encontraron un potente efecto antihipertensivo en el Enalapril (Mangoush et al., 1990).

A pesar de las diversas clases de medicamentos antihipertensivos disponibles, solo un tercio de los pacientes hipertensos alcanzaron la meta de la PA, según fue reportado en un estudio en el que participaron más de 26 países de Europa, Norteamérica, Latinoamérica, Asia, Turquía, Australia y Marruecos, entre el 2005 y 2006. Thoenes et al., (2010). Los errores de prescripción, la falta de adherencia y los efectos adversos se encuentran entre las causas de estas tasas alarmantes (Fontana et al., 2014). En Estados Unidos (EEUU) la carga económica asociada con el tratamiento de la HTA y comorbilidades secundarias asociadas como el infarto de miocardio, la enfermedad renal y el accidente cerebrovascular, son significativas (Flaten y Monte, 2017).

El principal objetivo del tratamiento antihipertensivo es la prevención de eventos cardiovasculares adversos en gran parte atribuidos al descontrol de la PA (Cabrera et al., 2015). La fisiopatología de la hipertensión y el control de la PA son bastante heterogéneas a nivel molecular y la hipertensión esencial incluye un amplio conjunto de mecanismos, lo que sugiere que una vez que se identifique el mecanismo dañado, el paciente se beneficiaría de una combinación individualizada de fármacos y dosis. Por lo tanto, la identificación de los mecanismos que subyacen a la hipertensión podría contribuir a un tratamiento individualizado, favoreciendo el control de la PA y, en consecuencia, reduciendo la morbilidad y la mortalidad relacionadas con la hipertensión (Fontana et al., 2014).

## 1.5.- Aspectos farmacogenéticos en la HTA

La variabilidad genética interindividual es una de las razones de las diferentes respuestas a los fármacos antihipertensivos (Cabrera et al., 2015; Céspedes-Garro et al., 2015). Algunas variantes génicas o alelos pueden afectar la cantidad o la función de la proteína codificada por un gen. Por lo tanto, algunos alelos pueden ser de relevancia funcional, ya que pueden alterar la cantidad y/o la actividad de los productos genéticos en las células, y pueden afectar la absorción, distribución, metabolismo y eliminación del fármaco (Fontana et al., 2014).

La complejidad de la regulación del genoma y la heterogeneidad de la hipertensión son algunas de las razones del lento progreso en el conocimiento de la genética de la hipertensión y la farmacogenética de la respuesta a los fármacos antihipertensivos. A pesar de varios esfuerzos para entender el papel de la genética en las variantes asociadas con la respuesta a los fármacos, actualmente no hay una prueba farmacogenética disponible para guiar el tratamiento de la hipertensión en la práctica clínica. El desafío en la implementación clínica de una receta guiada por genes es la falta de pruebas sólidas sobre el impacto de las variantes genéticas en la mejora de la respuesta antihipertensiva (Fontana et al., 2014).

Las investigaciones farmacogenéticas en las pasadas décadas han descubierto diferencias significativas en los grupos étnicos, en cuanto al metabolismo, efectividad clínica, y por otro lado los perfiles terapéuticos de importantes drogas. Muchos estudios han sugerido que los pacientes de ciertos grupos étnicos pueden estar sujetos a grandes riesgos, como en el caso de que el medicamento puede no ser efectivo, o, que la dosis del medicamento puede crear una sobredosis o falta de la misma en el individuo. Un ejemplo de esto ocurre en los pacientes afroamericanos y descendientes de europeos en EEUU, los cuales difieren significativamente en la respuesta a los beta-bloqueadores, IECA y diuréticos, usados cada uno en combinación para el tratamiento de la hipertensión, en este caso los afroamericanos no responden a estos tratamientos. Por otra parte, otro estudio reportó que los asiáticos son considerablemente más sensibles que los europeos en cuanto a los efectos del beta-bloqueador propranolol, en el ritmo cardíaco y la presión sanguínea (Burroughs et al., 2002).

La identificación de factores heredados puede ayudar en el descubrimiento de sus

contrapartes medioambientales, así como proveer una estrategia racional identificando a los miembros más susceptibles de una población, hacia quienes debe estar dirigido las estrategias de prevención, no sólo a enfermedades sino al tratamiento de las mismas, optimizando el beneficio de los pacientes y de los especialistas en salud (Risch et al., 2002).

El Consorcio Internacional de Estudios Farmacogenómicos Antihipertensivos (ICAPS) fue creado en 2012 para promover la colaboración entre diferentes grupos de investigación. El Consorcio podría facilitar la identificación y replicación de los hallazgos farmacogenéticos para la variabilidad en la respuesta a fármacos antihipertensivos y podría revelar señales fuertes que se utilizarán más para guiar la selección del tratamiento (<http://www.pharmgkb.org/page/icaps>). Juntos, estos esfuerzos pueden revelar nuevas estrategias terapéuticas y optimización de dosis/fármaco para el tratamiento de la hipertensión. Además, la disponibilidad preventiva de información genética en los registros médicos del paciente puede favorecer la prescripción basada en información genómica que podría ser más rentable que el ensayo-error en la práctica actual (Fontana et al., 2014).

Aunque los enfoques de genes candidatos y los estudios de asociación de genoma (GWAS) están comenzando a mostrar predictores genéticos validados en la respuesta de la PA a la terapia antihipertensiva, es muy probable que existan predictores genéticos significativos aun por identificar en forma de alelos raros (frecuencia <1%), variación en el número de copias, polimorfismos flanqueantes intrónicos, variación en el ARN y, finalmente existe una alta probabilidad de que la respuesta de la PA a un agente antihipertensivo se deba a causas poligénicas y multifactoriales (Eadon y Chapman, 2016).

La mayor expectativa con relación a la farmacogenética de la hipertensión radica actualmente en genes específicos que influyen en el sistema regulador de la PA o los genes asociados con la PA (Cabrera et al., 2015). Los genes más estudiados en farmacogenética de los inhibidores del sistema renina-angiotensina-aldosterona (RASS), específicamente el Enalapril, son el *ACE*, especialmente el polimorfismo de inserción/delección (*I/D*) en el intrón 16 y los genes del Citocromo P450, en especial el *CYP3A4\*1B* (Lupoli et al., 2015; Cooper-DeHoff y Jonhson, 2016).

### 1.5.1.- *ACE* (Inserción/Delección)

El gen de la enzima convertidora de angiotensina (*ACE*), se expande a lo largo de 21 kb, (26 exones y 25 intrones), se ubica en la región 17q23.3 (Figura 2), y pertenece al sistema renina-angiotensina junto con los genes de la renina, del angiotensinógeno, y de los receptores de tipo I y II de la angiotensina II. La principal función de este sistema es la conversión del angiotensinógeno en angiotensina II por parte de las enzimas renina y *ACE* (Zorrilla et al., 2006). Tiene una variante caracterizada como la inserción (I) o la delección (D) de una repetición *Alu* de 287 pares de bases en el intrón 16 (rs1799752) (Eadon y Chapman, 2016). Estudios acerca del *ACE* han demostrado diferencias en sus niveles plasmáticos según el genotipo del individuo: los individuos cuyo genotipo es delección/delección (D/D) poseen niveles dos veces más altos que los individuos cuyo genotipo es inserción/inserción (I/I), mientras que los individuos heterocigotas portan niveles intermedios de la enzima circulante (Zorrilla et al., 2006, Danilov et al., 2017).

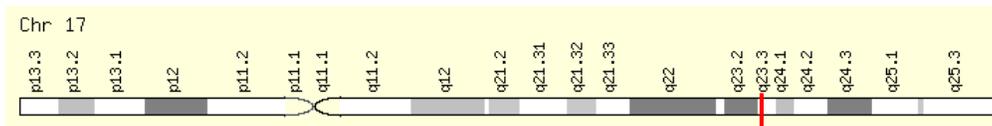


Figura 2. Ubicación en el cromosoma del gen *ACE*  
(Tomado de genecards.org)

Se plantea la hipótesis de que los tratamientos con IECA son particularmente eficaces en pacientes con el genotipo D/D, ya que este genotipo se ha asociado con un aumento de los niveles séricos de *ACE* y una mayor actividad del gen, lo que conduce a un mayor potencial de inhibición (Flaten y Montén, 2017). Por su parte, Eadon y Chapman (2016), hacen referencia a que la variante de la inserción (I) se ha asociado con los niveles séricos más bajos de *ACE*, lo que representa el 47% de la varianza del nivel de *ACE* entre individuos. Como resultado, se ha evaluado extensivamente este polimorfismo como un factor predictivo para el uso de los IECA. Sin embargo, a pesar de décadas de investigación intensiva, que involucra el genotipado de miles de pacientes, la respuesta de la predicción de la PA basada en el genotipo *ACE* I/D sigue siendo controvertida (Danilov et al., 2017).

También existen datos contradictorios con respecto a la asociación de los niveles de angiotensina II y los genotipos *ACE* (I/I, I/D, D/D). Un estudio de asociación de este polimorfismo llegó a la conclusión de que, aunque el polimorfismo influye en los niveles plasmáticos del ACE, no afecta la producción de angiotensina II o aldosterona en los sujetos (Danser et al., 1999). Sin embargo, otro estudio demostró que los niveles plasmáticos más altos de angiotensina II se generaron en hombres normotensos con el genotipo D/D (Ueda et al., 1995). Por último, un estudio final concluyó que existe un mayor nivel de conversión vascular de angiotensina I a angiotensina II en sujetos con el alelo D. En resumen, y pese a los resultados no concluyentes, la posibilidad de una mejor respuesta terapéutica en pacientes con genotipo D/D o portadores del alelo D, hace de este gen un objetivo atractivo para estudios de genes candidatos. (Cooper-DeHoff y Johnson, 2016; Danilov et al., 2017).

Varios estudios a nivel poblacional demuestran que la prevalencia del polimorfismo I/D *Alu-ACE* varía en los distintos grupos étnicos, y que la frecuencia del alelo D es inferior en las poblaciones de origen asiático que en las poblaciones de origen europeo (Zorrilla et al., 2006). Se observa una alta frecuencia de la inserción (I) a nivel mundial, con valores que oscilan entre 30% y 70%, sin embargo, las mayores frecuencias se encuentran en poblaciones indígenas donde en algunas llega a estar fijado (Figura 3).



Figura 3. Frecuencia del polimorfismo ACE I/D (rs1799752).

Frecuencias tomadas de la base de datos ALFRED (<https://alfred.med.yale.edu/alfred/index.asp>).

Al existir diferencias continentales en la distribución de frecuencias de este polimorfismo, abre la necesidad de ampliar su estudio en poblaciones que son producto del aporte génico de esos tres continentes. Zorrilla et al. (2006) estudiaron el *ACE I/D* en 108 individuos de la población de Montevideo y observaron una frecuencia de la inserción (I) de 0,44. Encontraron diferencias significativas con poblaciones urbanas asiáticas (China y Taiwán) y latinoamericanas (Perú y México), ya que presentan mayor frecuencia del alelo I. Al comparar con poblaciones europeas como Francia y Holanda no encontraron diferencias. Concluyeron que este polimorfismo del gen *ACE* en la población montevideana se comporta de manera similar a poblaciones europeas y no como una población trihíbrida. Esto genera la interrogante de cómo será la distribución de este polimorfismo en otras áreas de Uruguay, y en especial Tacuarembó, donde estudios previos han mostrado una mayor diversidad genética que Montevideo, particularmente mayor proporción del componente genético amerindio.

### 1.5.2.- *CYP3A4\*1B*

Existen más de 30 familias de enzimas humanas metabolizadoras de fármacos, una de las más influyentes en este rol, es el de las enzimas del citocromo P450 (CYP) (Ingelman-Sundberg et al., 2007), cuya actividad varía entre los individuos y entre grupos étnicos.

El complejo CYP está altamente distribuido en animales, plantas y protistas y existe en la naturaleza desde antes de la división entre organismos eucariotas y procariotas. En mamíferos se ha encontrado en gran variedad de órganos, glándulas y tejidos, pudiendo destacar entre otros riñones, cerebro, testículos, mucosa intestinal, membrana nasal, garganta e hígado (Santiago et al., 2002).

Los fármacos hidrosolubles (solubles en agua) se eliminan sin modificarse por la orina y

permanecen poco tiempo en el organismo, sin embargo, los fármacos liposolubles (solubles en grasas) no son metabolizados tan fácilmente y permanecen durante más tiempo en el organismo. Los CYP tienen como función el promover la eliminación del fármaco a través de la biotransformación de sustancias liposolubles, para facilitar su excreción a través de la orina o bilis (Laress-Asseff et al., 2001); y en algunos casos activa el fármaco o la prodroga. El complejo CYP está involucrado en el metabolismo oxidativo de compuestos endógenos como esteroides, ácidos grasos o vitaminas liposolubles (A y D), y en el metabolismo de xenobióticos entre los que se encuentran muy diversas drogas, carcinógenos, pesticidas, alcaloides, antihipertensivos entre otros (Santiago et al., 2002).

Las enzimas que metabolizan compuestos xenobióticos se han clasificado históricamente en dos categorías: las de fase I, que cumplen una misión metabolizadora y las de fase II, que tienen la misión de conjugar los sustratos con otros compuestos. La metabolización de los antihipertensivos se produce principalmente en el hígado a través de dos tipos de reacciones: las de fase I y las de fase II. Para que los sistemas enzimáticos de metabolización del hígado puedan actuar sobre fármacos lipófilos es necesario aumentar su polaridad a través de las reacciones de fase I. Estas reacciones suelen ser oxidaciones, reducciones, o hidrolisis que introducen en la estructura un grupo reactivo que lo convierte químicamente más polar. Las reacciones de fase II suelen actuar sobre el grupo reactivo introducido en la fase I mediante la conjugación de este con moléculas tales como el ácido glucurónico, el glutatión o aminoácidos. Las isoenzimas del citocromo P450, tienen como función la de catalizar en los microsomas hepáticos, reacciones de fase I de un número importante de fármacos con estructuras químicas muy diferentes (Figura 4) (Rodríguez-Arcas et al., 2010; Eadon y Chapman, 2016).

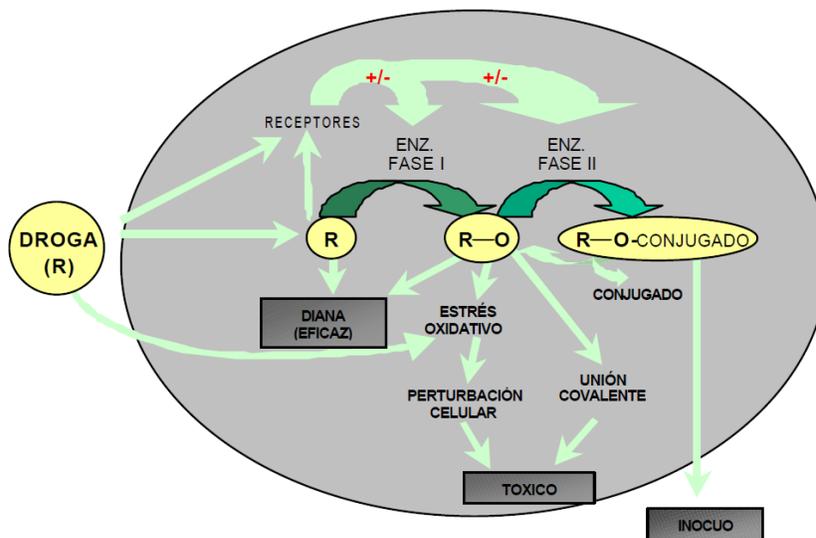


Figura 4. Esquema del metabolismo de una droga (R) cuando entra en una célula

Una vez que ha penetrado en la célula, tanto la droga no metabolizada como su metabolito pueden ejercer un efecto beneficioso actuando sobre su diana terapéutica o por el contrario pueden llegar a ser tóxicos como consecuencia de una perturbación en el ciclo celular o por la formación de uniones covalentes con ácidos nucleicos o proteínas. Tomado de Santiago et al., 2002.

Los fármacos antihipertensivos son principalmente metabolizados por enzimas del citocromo P450 y dentro de ellas las isoformas 2D6, 2C9, 2C19 y 3A4 tienen un papel especialmente relevante (Rodríguez-Arcas et al., 2010). En particular una de las familias del CYP que participa de manera principal en la metabolización de los IECA y del Enalapril, es la CYP3 (Rodríguez Arcar et al., 2010). La familia CYP3 posee una única subfamilia: CYP3A, que a su vez comprende cuatro genes: *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP3A7* y *CYP3A3* (Zanger y Schwab, 2013). Se ubican en una región de 231 kb en el cromosoma 7q22.1 (Figura 5). *CYP3A4*, *CYP3A5* y *CYP3A7* codifican para enzimas que metabolizan prácticamente los mismos sustratos (Santiago et al., 2002).

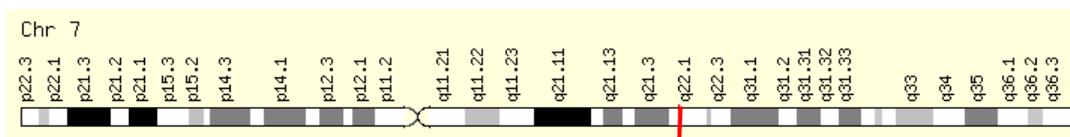


Figura 5. Ubicación en el cromosoma 7 del locus *CYP3A4*

Tomado de genecards.org

El CYP3A4 cataliza el metabolismo oxidativo de gran variedad de sustancias con marcadas diferencias estructurales. Está implicado en el metabolismo de más del 60% de las drogas en uso entre las que se incluyen agentes inmunosupresores como la ciclosporina, antimicóticos como el clotrimazol y antibióticos macrólidos, como la eritromicina. También actúa en la hidroxilación de algunos esteroides como la testosterona, la progesterona y el cortisol, y en antihipertensivos (Santiago et al., 2002; Rodríguez Arcar et al., 2010).

El CYP3A4 se expresa abundantemente en el hígado (30-40% del CYP total del hígado) y en el intestino delgado (Santiago et al., 2002). Pero la variabilidad entre individuos de diferentes poblaciones es extremadamente alta, aunque no se ha demostrado la ausencia total de expresión (Zanger y Schawb, 2013).

Todos los agentes antihipertensivos se caracterizan por tener grupos funcionales carboxilo que requieren activación hepática para formarse. En el caso del Enalapril este se convierte extensivamente a través de la hidrólisis a su metabolito activo el enalaprilato. El Enalapril es también un profármaco que es absorbido por el tracto gastrointestinal y metabolizado por las esterasas hepáticas. En la fase de eliminación el enalaprilato es el único metabolito detectable (Zisaki et al., 2015). Es aquí donde juega un rol importante el CYP3A4 ya que se encarga de facilitar la metabolización y excreción de este medicamento.

Felix et al. (1998) determina una alteración en la región promotora 5' del gen y es considerado uno de los polimorfismos genéticos con mayor impacto funcional. El polimorfismo conocido como *CYP3A4\*1B* (rs2740574), el cual ocurre en la región 5' flanqueante del gen, implica una transición de A>G en la posición -293 desde el sitio de inicio de la transcripción. El alelo G codifica una enzima menos activa en comparación con el *wild type*, ya que se demostró que modificaba un elemento regulador transcripcional putativo 5' al gen CYP3A4 (Georgitsi et al., 2011).

Es muy escasa la información acerca de la relación del polimorfismo *CYP3A4\*1B* con el Enalapril. Se sabe que este gen juega un rol muy importante en la metabolización de ese

medicamento y que el portar la variante G del *CYP3A4\*1B* confiere una deficiencia en la actividad de la enzima (Georgitsi et al., 2011). El fenotipo de un individuo homocigoto para el alelo G es metabolizador pobre, y si es heterocigoto para el alelo G es metabolizador intermedio.

Existen diferencias en cuanto la distribución de la frecuencia del *CYP3A4\*1B* entre diferentes grupos étnicos (Figura 6). La frecuencia de la variante G es muy bajo en poblaciones asiáticas (ausente en Japón y China, 1% en Tailandia y 2% en Vietnam). La mayor frecuencia del alelo G (70-80%) se observa en las poblaciones africanas. La frecuencia de la variante en europeos es de 2%. Un estudio en Estados Unidos detectó una frecuencia de 4,3% en eurodescendientes y de 27,1% en afroamericanos (Georgitsi et al., 2011; Liu et al., 2017). Los datos en poblaciones de Latinoamérica (Perú, Colombia, Puerto Rico y mexicanos de Estados Unidos) reportan frecuencias del alelo G que varían de 4% al 18%. No se tiene información en Uruguay.



Figura 6. Frecuencia del polimorfismo *CYP3A4\*1B* (rs2740574) a nivel mundial

Datos tomados del Proyecto 1000 genoma.

## 1.6.- Variabilidad genética poblacional en Uruguay

Una implicación importante del reconocimiento biológico del mestizaje es la evidente diversidad biológica humana en diferentes países latinoamericanos, con el estudio de enfermedades genéticas heredables, con alta incidencia en poblaciones europeas o africanas como la fibrosis quística, cáncer o la anemia falciforme (Rondón González y Barreto, 2013).

La población de Uruguay para el 2013 era de 3.440.157 habitantes (Instituto Nacional de Estadística, 2014). Uruguay ha sido tradicionalmente considerado una nación cuya población es predominantemente derivada de europeos. Sin embargo, estudios genéticos mostraron que la contribución de otros grupos étnicos al acervo genético del Uruguay es importante, lo cual condujo a considerarla como población trihíbrida (Sans et al., 1997).

En el momento de la conquista, la región estaba poblada con indígenas Charrúas, Minuanos, Chanaes, Arachanes y Guaraníes. Fue en el siglo XVI cuando comenzaron a llegar los europeos a estas tierras, y 100 años más tarde la región tenía solamente dos áreas pobladas de modo estable: el sur, disputado por los españoles y los portugueses, y el norte, ocupado por las Misiones Jesuíticas. Los primeros habitantes de Montevideo fueron españoles que llegaron de Argentina en 1726. Los descendientes de africanos fueron introducidos regularmente en el área a partir de 1743, aunque antes ya lo hacían de forma ilegal (Mourat, 1969; Pi y Vidart, 1969 en Sans et al., 1997).

Estudios en cuanto a la constitución genética a la población uruguaya muestran, por una parte, la heterogeneidad de la población, pero también, que las distintas regiones tienen aporte de los tres grandes grupos (europeo, indígena, africano), con un máximo de aporte indígena en Tacuarembó de 20% y africano de 15%, aproximaciones estimadas a partir de marcadores clásicos como grupos sanguíneos ABO, RH, MNSs, Kell, Kidd, Duffy y Diego, y el sistema HLA (Sans et al., 1997). Hidalgo et al. (2005), estimaron el componente ancestral en distintas regiones de Uruguay por medio de 5 marcadores genéticos (LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 y GS), obtuvieron una fuerte presencia de genes europeos 84,1%, seguido de indígena (10,4%) y en menor

contribución el africano (5,6%). Muchos estudios se han realizado en Uruguay estimando la ancestralidad por línea materna, liderados en su mayoría por la Dra. Mónica Sans. Los resultados de ADN mitocondrial con datos de todo el país mostraron un 58% de aporte europeo, 32% indígena y 11 % africano, siendo el aporte indígena intermedio entre la región norte y la sur, mientras que el aporte africano es relativamente homogéneo (Pagano et al., 2005), lo que muestra que, al comparar con los datos de la herencia biparental, el aporte materno indígena es muy alto. Bertoni et al. (2005), estudiaron el cromosoma Y, es decir, la herencia paterna, llegando a la conclusión de que aproximadamente el 90% es de origen europeo. Esto demuestra que en Uruguay los orígenes uniparentales presentan el mismo patrón que otras poblaciones latinoamericanas, de uniones direccionadas entre hombres europeos y mujeres indígenas (Bonilla, et al., 2004).

Con relación a enfermedades y ancestralidad, Bonilla et al. (2015) estudiaron la asociación entre el riesgo de padecer cáncer de mama y la ancestralidad en la población uruguaya; utilizaron un panel de 160 AIM's para estimar la ancestralidad en 312 individuos entre pacientes y controles. Confirmaron que la población uruguaya es trihíbrida, donde se muestra la contribución de europeos (76,6%), africanos (9,4%) e indígenas (14%). Encontraron variación considerable en la ancestralidad entre los participantes a nivel individual, el rango de proporción africana varió entre 1% y 43%, el de ancestralidad indígena entre el 1% y 48% y la europea desde 33% hasta 96%. No encontraron una fuerte evidencia de asociación entre la ancestralidad nuclear y la mitocondrial con el riesgo de cáncer de mama entre los pacientes y controles de Uruguay, pero sí encontraron una asociación de haplogrupo europeo H con el riesgo de cáncer de mama.

Es necesario continuar con este tipo de estudios, en especial para genes asociados a padecimientos de enfermedades crónicas y frecuentes en Uruguay como la hipertensión; y también en genes que influyen en el resultado de las terapias anticancerígenas, antihipertensivas, entre otras.

### **1.7.- Aspectos epidemiológicos de la HTA en Uruguay. Prevalencia y tratamiento**

En Uruguay para el 2013 se observó que aproximadamente el 36,6% de la población adulta es hipertensa (Ministerio de Salud Pública, 2017), cifra que es elevada para lo reportado en otros

países de la región. Sandoya et al. (2012) realizaron un estudio acerca de la evolución de la HTA en Uruguay desde 1948 hasta 2011, mostrando que, si bien la mortalidad cardiovascular ha venido descendiendo en el país, la mortalidad por HTA se ha incrementado.

En el mismo estudio Sandoya et al. (2012), reportan que la prevalencia de HTA aumentó de forma sostenida desde los 20 años de edad, afectando a aproximadamente la mitad de los individuos a los 50 años, al 60% entre los 60 y 69 años y al 70% luego de los 70 años. Discuten que es posible que el sobrepeso y obesidad asociado al estilo de vida sedentario y a la alimentación inapropiada lleve a que las generaciones más jóvenes estén experimentando un aumento en la prevalencia de HTA.

Para el 2006 el 65,8% de individuos en Uruguay recibía tratamiento de su HTA (68% en mujeres y 62,2% en hombres). De acuerdo con datos de 1980, el porcentaje de hipertensos con cifras de PA controladas por tratamiento era de 29% en Montevideo, mientras que los datos de 2008-2011 muestran 27,1% de control por tratamiento de la PA (Sandoya et al. 2012).

Para el 2013, la prevalencia de hipertensos no diagnosticados o sin tratamiento para ambos sexos es de 60,8% (68% en hombres y 52,4% en mujeres); se estima que 6 de cada 10 individuos con hipertensión desconocían que padecían de esta enfermedad o no estaban en tratamiento, y esta cifra es significativamente mayor en hombres. Es debido entonces a su elevada prevalencia, a su baja captación e inadecuado control, que la HTA constituye un problema de salud pública a todo nivel: regional y nacional (Ministerio de Salud Pública, 2017).

Las diferencias inter-étnicas en el surgimiento de algunas poblaciones son las responsables de las variaciones entre los individuos; por lo tanto, al ser la población de Uruguay de origen genéticamente diverso, es necesario y de suma importancia conocer cómo es la distribución de los polimorfismos asociados a enfermedades complejas como la hipertensión y de las enzimas metabolizadoras de medicamentos, ya que permitirá determinar la proporción de individuos tienen una predisposición a no responder adecuadamente a ciertos tratamientos como en el caso del Enalapril, convirtiéndose en un problema de salud pública para el Estado.



## Objetivos e Hipótesis

### 2.1.- Objetivo General

Evaluar la distribución de algunos polimorfismos genéticos que influyen en la respuesta terapéutica del Enalapril, utilizado en el tratamiento de la Hipertensión Arterial, en pacientes del Departamento de Tacuarembó, Uruguay, así como su posible relación con la ancestralidad y otras variables relacionadas con la enfermedad.

### 2.2.- Objetivos específicos

- 1.- Caracterizar a los pacientes hipertensos en función de algunas variables predisponentes como la edad, sexo, Índice de masa corporal (IMC) e Índice cintura/talla (IC/T).
- 2.- Analizar la distribución y frecuencia del polimorfismo de Inserción/Delección en el exón 16 del gen *ACE* (rs1799752) y el polimorfismo *CYP3A4\*1B* (rs2740574) en pacientes hipertensos y población general de Tacuarembó, y entre hipertensos respondedores y no-respondedores al medicamento Enalapril (inhibidor de la enzima convertora de la angiotensina).
- 3.- Establecer el origen genético de los pacientes hipertensos y relacionarlo con una muestra de la población general de Tacuarembó, a través de haplogrupos del ADN mitocondrial y de polimorfismos autosómicos de ancestralidad, para comparar ambos grupos.
- 4.- Comparar y discutir los datos obtenidos entre sí y con datos publicados, para realizar las asociaciones entre la frecuencia de cada uno de los polimorfismos mencionados y las diferentes variables consideradas.

### 2.3.- Hipótesis

Debido a la influencia de la ancestralidad en la distribución de genes de susceptibilidad a enfermedades y asociados con la respuesta a medicamentos, resulta de interés analizar la distribución de este tipo de polimorfismos en poblaciones donde la heterogeneidad genética juega un papel importante, como es el caso de Tacuarembó y que las diferencian de otras poblaciones de Uruguay. Se plantean las siguientes hipótesis:

H0-1: Existe variación en la frecuencia de los polimorfismos *I/D ALU-ACE* y el *CYP3A4\*1B* relacionados a la respuesta al tratamiento antihipertensivo con enalapril, en los distintos grupos poblacionales analizados.

H1-1: No existe variación en la frecuencia de los polimorfismos *I/D ALU-ACE* y el *CYP3A4\*1B* relacionados a la respuesta al tratamiento antihipertensivo con enalapril, entre los distintos grupos poblacionales analizados.

H0-2: Hay variación en la frecuencia de los polimorfismos *I/D ALU-ACE* y el *CYP3A4\*1B* en los distintos grupos poblaciones estudiados, y se relaciona con la ancestralidad, presentando frecuencias intermedias entre poblaciones europeas, indígenas y africanas.

H1-2: No hay variación en la frecuencia de los polimorfismos *I/D ALU-ACE* y el *CYP3A4\*1B* en los distintos grupos poblaciones estudiados, y no se relaciona con la ancestralidad.

## Materiales y métodos

### 3.1.- Población en estudio

Tacuarembó es una de las ciudades más grandes de la región noreste y es la capital del departamento que lleva su mismo nombre. Fundada en 1832, en su mayoría por brasileros de origen portugués, seguido de italianos, españoles, poblaciones originarias de la región (Charrúas, Minuanos y Guaraníes), y esclavos africanos que llegaron junto con familias brasileras o como fugitivos de Brasil (Pi y Vidart, 1969; Sans, 1994; Bonilla et al., 2004; Bertoni et al., 2005). Actualmente la población es de unos 54,755 habitantes según el censo del año 2011 (Instituto Nacional de Estadística de Uruguay, 2011).

Diferentes estudios han demostrado la diversidad genética en la población de Tacuarembó, donde se ha encontrado el máximo nivel de ancestralidad indígena a nivel biparental, mientras que a nivel materno comparte los valores máximos con la región de Bella Unión, en el departamento de Artigas (Sans et al., 1997; Bonilla et al., 2004; Sans et al., 2014). Estudios genéticos con marcadores clásicos (grupo sanguíneos, proteínas, HLA) arrojaron un 65% de contribución europea, 15% africana y 20% indígena (Sans et al., 1997); no existen estimaciones con marcadores moleculares o específicos de ancestralidad. Se estimó que el aporte por línea materna es de 21% europea, 17% africano y 62% nativo americano (Bonilla et al., 2004), mientras que la contribución por vía paterna es primordialmente europea (95%) seguido de un 5% indígena (Bertoni et al., 2005). El alto porcentaje en esta región de linajes mitocondriales nativos americanos podría explicarse por la interacción direccional en las uniones entre poblaciones europeas e indígenas y la subsiguiente ausencia de migración de mujeres fuera de la región. Esto se apoya en el hecho que, al menos hasta 1920, era mayor la tasa de hombres inmigrantes que llegaban a Tacuarembó que de mujeres (Sans, 1994).

Para cumplir con los objetivos de este trabajo se seleccionaron diferentes muestras poblacionales:

3.1.1.- Pacientes con hipertensión arterial esencial (N=102): que acudieron a las consultas de médicos de familia en las policlínicas rurales de ASSE (Administración de los Servicios de Salud del Estado) de los alrededores de la ciudad de Tacuarembó (Figura 7.a y 7.b): Rincón de Tranqueras (N=25), Barrio Godoy (N=10), Barrio Los Molles (N=5), Barrio Torres (N=4), Curtina (N=25) y aquellos que asistieron a consulta en cardiología del Hospital de Tacuarembó (N=33), entre los meses de noviembre 2016 y marzo 2017; fueron seleccionados según los siguientes criterios:

- Tener diagnóstico de hipertensión arterial esencial, es decir, valores iguales o mayores de 140 mm de Hg en la presión sistólica e iguales o mayores a 90 mm de Hg en la presión diastólica. Para ello se contó con la asistencia de los médicos especialistas y se revisaron las historias médicas de los pacientes.
- No emparentados biológicamente hasta segundo grado.
- Que tanto los pacientes, como los padres y abuelos hayan nacido en la región noreste de Uruguay.



Figura 7a. Ubicación de las Policlínicas donde se recolectaron las muestras



Figura 7.b. Ubicación de la Policlínica Curtina donde se recolectaron muestras.

A cada paciente se le entregó información sobre el proyecto de investigación relacionado con el presente trabajo de tesis y sobre su disposición para que su muestra pueda ser utilizada en futuros proyectos del PDU de Diversidad Genética Humana del CUT; una vez que aceptaron participar, firmaron los consentimientos informados correspondientes, aprobados por la Comisión de Ética de la Investigación Científica de la Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación de la Universidad de la República (Expedientes N° 121900-000087-14 y N° 121900-000211-6) y se les solicitó su colaboración pidiéndoles:

- a) una muestra de sangre o de saliva
- b) responder dos encuestas: la relacionada con la información necesaria para este trabajo, y otra para la base de datos del PDU de Diversidad Genética Humana del CUT. (Anexos 1 y 2)
- c) permitir que se le realicen algunas mediciones antropométricas (peso, talla y circunferencia de cintura).

La encuesta aplicada a los pacientes hipertensos, permitió obtener datos acerca de su historial médico, valores de bioquímica sanguínea, datos antropométricos (peso, talla, circunferencia de cintura), medida de presión arterial, información sobre el tratamiento con el Enalapril relacionados a: tiempo de consumo, reacciones adversas, cambio de medicamento, entre otros (Anexo 2). En base a la información relacionada al tratamiento antihipertensivo se dividió la muestra en respondedores y no-respondedores, considerándose como respondedores a aquellos individuos cuya PA está controlada por el uso de Enalapril, y los no-respondedores son aquellos pacientes que debieron cambiar de tratamiento debido a que no hubo control de la PA después de un tiempo de consumo de ese medicamento.

3.1.2.- Población General: se tomó un grupo de individuos (N=109) como población de referencia cuyas muestras forman parte del banco de muestras de ADN que se hallan en el PDU de Diversidad Genética Humana del Centro Universitario de Tacuarembó (cortesía PC Hidalgo). Estos individuos tenían las siguientes características:

- No emparentados biológicamente hasta segundo grado
- Que tanto ellos, como los padres hayan nacido en la región noreste de Uruguay.

Las muestras y toda la información ya se encontraban disponibles en el laboratorio del PDU; al momento de ser tomadas se les solicitó a los participantes:

- a) una muestra de saliva
- b) responder la encuesta del proyecto del PDU de Diversidad Genética Humana del CUT, que permitió obtener información acerca del sexo, edad, procedencia de padres y abuelos (Anexo 1).

### **3.2.- Caracterización de pacientes y población general en relación a variables asociadas a la HTA**

Los pacientes hipertensos y la población general fueron caracterizados según la edad y sexo. En el caso de los hipertensos también fueron caracterizados en base a variables antropométricas.

#### 3.2.1.- Índices antropométricos:

El grado de obesidad es un importante factor de riesgo para la hipertensión (Ramírez-Bello et al., 2011), y algunos parámetros antropométricos son indicadores de dicha condición. Las mediciones se realizaron solo en la muestra de hipertensos siguiendo los procedimientos descritos por Weiner y Lourie (1969). Los parámetros utilizados fueron: peso (P), talla (T) y circunferencia de cintura (CC).

Con los valores de peso y talla se calculó el índice de masa corporal (IMC), que se define mediante la siguiente fórmula:  $IMC = \text{Peso (Kg)} / \text{Talla (m)}^2$ . Un IMC <25 indica que el individuo está en su peso ideal, cuando es >25 y <30 indica que el individuo está en sobrepeso y cuando es  $\geq 30$  el individuo es obeso.

Con los valores de circunferencia de cintura y talla se calculó el índice cintura/talla (IC/T), definido mediante la siguiente fórmula:  $IC/T = \text{Circunferencia de cintura (cm)} / \text{Talla (cm)}$ . Al estar correlacionado directamente con la grasa abdominal, un IC/T <0,5 es de bajo riesgo y  $\geq 0,5$  es de alto riesgo para el diagnóstico de síndrome metabólico, elevadas concentraciones de triglicéridos, colesterol, glucosa en sangre e hipertensión (Marrodán et al., 2013).

En primer lugar, se hizo un análisis estadístico descriptivo de los dos grupos, en función de características generales como edad y sexo. En el caso de los hipertensos también fueron caracterizados en función de los índices de masa corporal (IMC) y el índice cintura/talla (IC/T). Se realizó una caracterización similar al grupo de pacientes clasificados en respondedores y no respondedores al Enalapril.

En los casos de variables cuantitativas se realizó en primera instancia la prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar la normalidad de las muestras con  $N > 50$ . Para los casos que no presentaban distribución normal se realizó una prueba no paramétrica de contraste de medias

como la prueba de Kruskal-Wallis, dado que es una prueba de comparación de muestras que se ajusta a un  $N > 50$  y no supone distribución normal. Para los análisis de variables categóricas se realizó una prueba de Ji cuadrado ( $\chi^2$ ) con corrección de Bonferroni. En todos los casos se consideró un intervalo de confianza del 95% y un  $\alpha=0,05$  (<http://vassarstats.net/>).

De acuerdo a las características descritas, se realizó la comparación entre grupos de hipertensos y población general, y dentro del grupo de hipertensos entre respondedores y no-respondedores, a través de las pruebas estadísticas mencionadas.

### **3.3.- Análisis moleculares**

#### 3.3.1.- Recolección de la muestra y extracción de ADN:

A los pacientes hipertensos se les extrajo aproximadamente 5 ml de sangre por punción venosa en tubos con EDTA tetra sódico al 15% como anticoagulante. Aquellos pacientes que no aceptaron la extracción de sangre, se les pidió 1,5ml aproximadamente de saliva en un tubo eppendorf de 5ml con 1,5ml de buffer comercial para evitar su degradación. La misma estrategia de obtención de saliva fue utilizada para la muestra general.

Las muestras fueron recolectadas por las enfermeras de las policlínicas y del Hospital de Tacuarembó. Luego fueron transportadas en conservadoras con hielo al laboratorio de Diversidad Genética Humana del CUT para hacer la extracción de ADN.

Para la obtención del ADN a partir de sangre, se empleó un kit de extracción de ViVo Science. El kit incluye todos los componentes necesarios para aislar y purificar ADN genómico a partir de sangre entera. La lisis de las células nucleadas se realiza en presencia de Proteinasa K, liberando el contenido celular. Mediante centrifugación, el lisado atraviesa la columna de purificación donde el ADN es retenido de manera específica por la membrana. Luego de lavados sucesivos para eliminar contaminantes, el ADN es recuperado en solución con la pureza adecuada para su utilización en diversas técnicas de biología molecular (de acuerdo con el protocolo del fabricante). La extracción se realizó en el laboratorio de Diversidad Genética Humana del CUT (Anexo 3).

Para la obtención de material genético por saliva, se empleó el método de extracción de “salting out” (Miller et al., 1988) (Anexo 4).

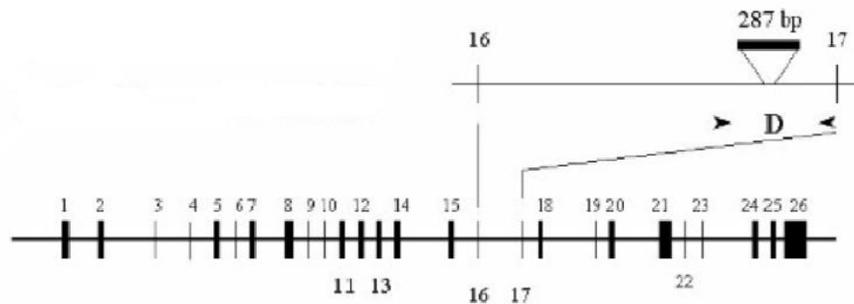
### 3.3.2- Determinación de los polimorfismos genéticos asociados a la hipertensión y respuesta al Enalapril

Una vez obtenido el ADN de todos los individuos, se procedió a determinar los polimorfismos genéticos:

- a) Detección de la Inserción/Delección *ALU* del intrón 16 del gen *ACE*.
- b) Análisis de la región promotora 5' del gen *CYP3A4*.

- a) Inserción/Delección *ALU ACE* (rs1799752)

En la Figura 8, se puede observar la ubicación del polimorfismo rs1799752 en el gen *ACE* que se distingue por la inserción o delección de 287pb en el intrón 16.



*Figura 8.* Estructura del gen *ACE* y ubicación del polimorfismo Inserción/Delección

Tomado de <https://www.uninet.edu/cin2000/conferences/poch/poch.html>.

Para realizar la amplificación del ADN de este segmento, se empleó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La determinación de este polimorfismo se realizó bajo las condiciones publicadas por García-Obregón et al. (2006). Los oligómeros utilizados fueron:

*Forward* (F): 5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3'

*Reverse (R): 5'- GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-3'*

Se adaptó el protocolo a un volumen final de 25ul.

La mezcla para la amplificación se preparó de la siguiente manera:

Buffer 10X.....	2,4ul
MgCl <sub>2</sub> 50mM.....	1ul
dNTP's 35uM.....	1,4ul
Oligómero F 0,25uM.....	1ul
Oligómero R 0,25uM.....	1ul
Taq Platinum.....	0,4ul
H <sub>2</sub> O.....	16,8ul
ADN (50-150ng/ul).....	1ul

Se utilizó un termociclador marca BIO RAD, modelo T100 Thermal Cycler y se sometieron las muestras a las siguientes condiciones de amplificación: etapa inicial a 94°C por 10 minutos; desnaturalización a 94°C por 1 minuto; hibridación a 56°C por 1 minuto 30 segundos; extensión a 72°C por 1 minuto 30 segundos; luego se repitieron los pasos 2 al 4 por 35 ciclos y una etapa final de 72°C por 10 minutos.

Para identificar la presencia o ausencia de la inserción, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 2%, con tinción en bromuro de etidio y visualizado en luz ultravioleta. Los fragmentos a visualizar fueron de 198pb si tenían la delección y de 480pb si estaba presente la inserción. La determinación se realizó en el Laboratorio de Diversidad Genética Humana del CUT.

b) Determinación de *CYP3A4\*1B* (rs2740574)

En la Figura 9, se observa la región promotora del gen *CYP3A4*, que contiene el polimorfismo rs2740574.

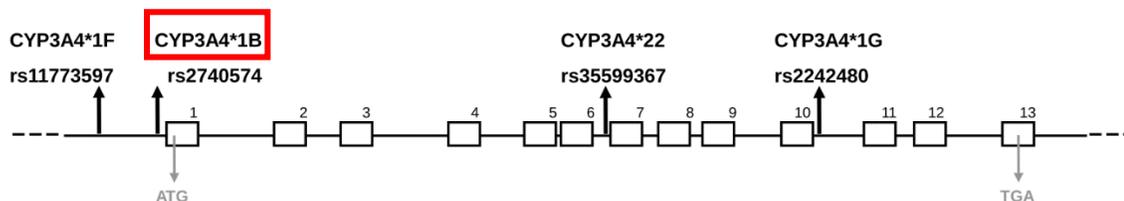


Figura 9. Estructura del gen *CYP3A4* y ubicación de los polimorfismos más estudiados.

Subrayado en rojo el de interés para esta investigación. Tomado de Nuñez et al., 2016.

Para la amplificación de ese fragmento de ADN se empleó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La determinación se realizó bajo las condiciones publicadas por Liu et al. (2017), para un volumen final de 25ul. Los oligómeros usados fueron:

*Forward* (F): 5´- GTGCAGAGACAGCAGCTGAG-3´

*Reverse* (R): 5´- TCTCCTCTGAGTCTTCCTTTCA-3´.

La mezcla para la amplificación se preparó de la siguiente manera:

Buffer 10X.....	2,5ul
MgCl <sub>2</sub> 50mM.....	0,75ul
BSA 20ng/ml.....	0,25ul
dNTP´s 35uM.....	0,5ul
Oligómero F 0,25uM.....	0,5ul
Oligómero R 0,25uM.....	0,5ul
Taq Platinum.....	0,1ul
H <sub>2</sub> O.....	19ul
ADN (50-150ng/ul).....	1ul

Se utilizó un termociclador marca Labnet, modelo MultiGene TC020-24 y se sometieron las muestras a las siguientes condiciones de amplificación: etapa inicial a 94°C por 5 minutos; desnaturalización a 94°C por 40 segundos; hibridación a 58°C por 40 segundos; extensión a 72°C por 1 minuto 30 segundos; luego se repitieron los pasos 2 al 4 por 35 ciclos y una etapa final de 72°C por 5 minutos.

Para ver el producto amplificado, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 2%, con tinción en bromuro de etidio y visualizado en luz ultravioleta. El fragmento a visualizar es de 882pb, que incluye toda la región promotora del gen. El trabajo de laboratorio se realizó en el Laboratorio de Antropología Biológica de la FHCE, UdelaR.

El producto amplificado se purificó con columnas de sílice y se secuenció en el servicio de secuenciación del Institut Pasteur de Montevideo. Las secuencias se analizaron y con el programa CHROMAS Lite 2.1 (<http://www.technelysium.com.au/chromas.html>) y se alinearon en el programa BIOEDIT (Hall, 1999). El rs2740574 corresponde a un cambio A>G en la posición -293, se usó como secuencia de referencia la AF181105.1 del GeneBank ya que es la única secuencia disponible que corresponde solo a la región promotora del gen *CYP3A4*.

#### 3.3.2.1.- Análisis de los datos genéticos

Se calcularon las frecuencias alélicas por conteo directo. Se analizó el ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) a partir de las frecuencias genotípicas dentro de cada uno de los grupos considerados: hipertensos, población general, hipertensos respondedores y no-respondedores; se compararon las frecuencias alélicas y distribución de genotipos entre los grupos mencionados. Todas las comparaciones se realizaron a través de una prueba de Ji cuadrado ( $\chi^2$ ) (<https://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa2.pl> y <http://www.oege.org/software/hwe-mr-calc.shtml>).

##### a) Gen *ACE*

Se comparó la distribución de frecuencia de la Inserción/Delección del *ACE*, entre los hipertensos y población general, así como con otras poblaciones a nivel mundial obtenidas de la base de datos ALFRED (<https://alfred.med.yale.edu/alfred/index.asp>): las poblaciones africanas Nguni, San, Sotho-Tswana, Hausa, Yoruba, Nigeria; las europeas de Vascos, Canarias, Francia, Galicia, Italia, Portugal, Cerdeña; Indígenas americanos Pima-Mexico, Maya-Yucatan, Ache, Bari, Guarani, Guibiba, Caingang, Karitiana, Quechua, Xavante y Yanomami, así como dos poblaciones americanas mestizas: hispanos de EEUU y población de Porto Alegre, Brasil. Con el programa Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier, 2015) se realizó un Análisis Molecular de la Varianza (AMOVA) para estimar la heterogeneidad interpoblacional con este marcador y se estimaron las distancias genéticas entre pares de poblaciones, que permitieron obtener una matriz (Pairwise Fst), elaborándose luego los dendrogramas correspondientes con el programa FigTree (Rambaut, 2009, disponible en: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

#### b) Gen *CYP3A4*

En el caso del polimorfismo *CYP3A4\*1B*, se comparó la frecuencia de los alelos A y G entre la muestra de hipertensos de Tacuarembó y otras poblaciones generales a nivel mundial obtenidas del Proyecto 1000 Genomes (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/?gts=rs2740574>), Coto et al., 2010 y Badavi et al., 2015. Las poblaciones son: España, Italia, Irán, China, Nigeria, Gambia, Sierra Leona, Yoruba, Colombia, Perú, Puerto Rico, México-USA. Para este polimorfismo no se tienen datos en poblaciones indígenas. La diferenciación poblacional con el uso de este polimorfismo se realizó a partir del cálculo de AMOVA y de distancias genéticas, obteniendo la matriz de distancia entre las poblaciones (Distancia Pairwise Fst) con el programa Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier, 2015), elaborándose luego los dendrogramas correspondientes con el programa FigTree (Rambaut, 2009, disponible en: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

Se analizó en detalle las secuencias de la región reguladora del *CYP3A4*, del grupo de los hipertensos, en busca de otros polimorfismos de interés con el programa BIOEDIT (Hall, 1999).

### 3.3.3.- Polimorfismos informativos sobre la ancestralidad

Para analizar la ancestralidad tanto materna como biparental se utilizaron los siguientes datos:

- a) La secuencia de la región hipervariable I y II del ADN mitocondrial para la estimación de ancestralidad por vía materna.
- b) 79 marcadores informativos de ancestralidad (AIMS) para la estimación de la ancestralidad biparental en la población de estudio.

- a) Secuencias de las regiones HVR-I e HVR-II del ADN mitocondrial

Para realizar la amplificación del ADN mitocondrial, se empleó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Para obtener las secuencias de interés se utilizaron los siguientes oligómeros:

Región HVR-I:

15997F 5'-CAC CAT TAG CAC CCA AAG CT-3' (Sans et al., 2011)

011R 5'-GCT GAG TGG TTA ATA GGG TGA TAG-3' (Sans et al., 2012).

Región HVR-II:

16372F 5'-CCC TTC TCG TCC CCA TGG AT-3' (Kemp et al., 2007)

397R: CAT ACC GCC AAA AGA TAA AAT (Sans et al., 2011).

Se trabajó con un volumen final de 50ul en cada caso.

La mezcla para la amplificación se preparó de la siguiente manera:

Buffer 10X.....	5ul
MgCl <sub>2</sub> 25mM.....	6ul
BSA 20ng/ml.....	0,5ul
dNTP's 35uM.....	1,3ul

Oligómero F 0,25uM.....	0,4ul
Oligómero R 0,25uM.....	0,4ul
Taq Platinum.....	0,2ul
H <sub>2</sub> O.....	33,7ul
ADN (50-150ng/ul) .....	2,5ul

Se utilizó un termociclador marca Labnet, modelo MultiGene TC020-24 y se sometieron las muestras a las siguientes condiciones de amplificación: etapa inicial a 94°C por 5 minutos; desnaturalización a 94°C por 30 segundos; hibridación a 58°C por 30 segundos; extensión a 72°C por 40 segundos; luego se repitieron los pasos 2 al 4 por 35 ciclos y una etapa final de 72°C por 5 minutos (Sans et al. 2012)

Para ver el producto amplificado, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 2%, con tinción en bromuro de etidio y visualizado en luz ultravioleta. El fragmento a visualizar para la HVR-I es de 629pb entre la posición 15996 y 16372; para la HVR-II es de 635pb entre la posición 11 y 397 (Figura 10).

El producto amplificado se purificó en columnas de sílice y se secuenció en el servicio de secuenciación del Instituto Pasteur de Montevideo. Las secuencias se analizaron y alinearon con el programa CHROMAS Lite 2.1 (<http://www.technelysium.com.au/chromas.html>) y el programa BIOEDIT (Hall, 1999). Se comparó con la secuencia de referencia de Cambridge (revisión hecha por Andrews et al. 1999 de la secuencia original de Anderson et al. 1981).

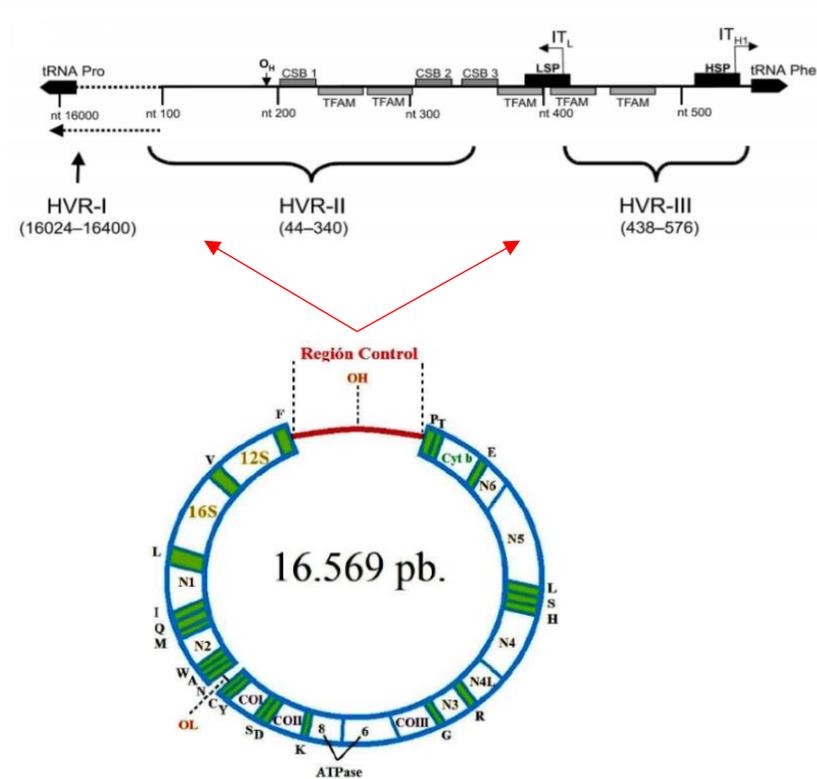


Figura 10. Esquema del genoma mitocondrial humano y detalle de la región control, con la localización aproximada de las regiones hipervariables

Modificado de Figueiro, 2013.

#### b) Determinación de los marcadores de ancestralidad (AIMs)

Se utilizó un panel de 79 AIMs compuesto por un subconjunto de los utilizados en un estudio de ancestralidad realizado para distintas poblaciones de América (Galanter et al. 2012). El poder informativo de los AIMs se basa en la diferencia en las frecuencias alélicas entre las poblaciones parentales putativas de una población mezclada. El valor absoluto de la diferencia en frecuencias alélicas es la medida más comúnmente usada de informatividad entre dos poblaciones parentales (Shriver et al., 2003; Duque et al., 2012).

El panel de AIMs fue analizado en el servicio del nodo del CeGen-ISCI (Centro Nacional de Genotipado- Instituto de Salud Carlos III) en la Universidad de Santiago de Compostela, España. Para el envío del ADN se preparó una placa especial que está equilibrada para el formato del secuenciador, con las muestras evaporadas y la placa sellada con films adhesivo. El ADN debe tener una concentración de 10-20 ng/ul. Para genotipar los 79 AIMs de interés (Anexo 5), se usó la Plataforma de Sequenom MassArray de Agena Bioscience – tecnología iPLEX® Gold, Pro

Sample ID Panel. La tecnología de MassArray Agena Bioscience (Sequenom) permite el análisis de variantes puntuales en el ADN, así como pequeñas inserciones y deleciones con una longitud máxima de 40 pares de bases, seleccionadas por el usuario. La característica principal es el uso de la espectrometría de masas MALDI-TOF para la detección de los productos de la reacción de discriminación alélica. El proceso de genotipado consta de dos reacciones. En primer lugar, se amplifican los fragmentos de ADN que contienen los SNVs (*single nucleotide variants*) de interés mediante una PCR multiplex y, a continuación, se lleva a cabo la reacción de discriminación alélica, primera extensión. En la tecnología iPLEX® Gold todas las reacciones terminan tras una extensión de una única base (Single Base Extensión, SBE) que genera una diferencia de masa en el producto de extensión según la base añadida. Esta diferencia de masa se detecta mediante espectrometría de masas MALDI-TOF. Las reacciones se realizan en placas de 384 pocillos y los productos son transferidos de forma automatizada mediante un robot a la superficie del Spectrochip, que será leído en el espectrómetro de masas (agenabio.com). Con esta técnica es posible identificar hasta 30 SNPs por ensayo.

#### 3.3.3.1.- Análisis de datos para la estimación de la ancestralidad

##### a) ADN mitocondrial

La determinación de los haplogrupos y de los haplotipos del ADN mitocondrial en la muestra de pacientes hipertensos, tanto respondedores como no respondedores, para identificar la ancestralidad por vía materna, se realizó de acuerdo con el criterio del programa Haplogrep2 (V2.1.13) (Weissensteiner et al. 2016). La frecuencia de los haplotipos dentro de cada haplogrupo se realizó por conteo directo. Estos datos de la frecuencia de los haplogrupos de los hipertensos se compararon con los publicados por Bonilla et al. (2004) en una muestra de población general de Tacuarembó. Las diferencias con población general, así como entre respondedores y no respondedores fueron evaluados utilizando una prueba de Ji cuadrado ( $\chi^2$ ).

## b) AIMS

Se genotipó y analizó una submuestra de pacientes hipertensos (N=38); que incluyó individuos respondedores (N=23) y no respondedores (N=15). Estas submuestras fueron comparadas con una submuestra de la población general, compuesta por 70 individuos.

Para el análisis de mestizaje con los datos de los 79 AIMS se utilizó el programa STRUCTURE 2.3 (Pritchard et al., 2010). Los datos de las frecuencias genotípicas por individuo de cada grupo parental se obtuvieron de una base de datos de la Universidad de Compostela, cedidos por la Dra. Raquel Cruz y de la base de datos del Proyecto *1000 Genomes* (España, Italia, CEPH-Residentes de Utah con ancestría europea, Luhya, Quechua, Tepehuanos, Zapotec, Maya, Aymara, Nahua, Yoruba) (<http://www.internationalgenome.org/data>). Para estimar las diferencias en la ancestralidad entre los hipertensos y la población general, y entre respondedores y no respondedores, se realizó una prueba de Wilcoxon de suma de rangos, en el ambiente R versión 3.2.4 (<http://r-project.org>), que permite comparar de manera independiente cada uno de los componentes parentales europeo, africano o indígena.

### **3.4.- Asociación entre los polimorfismos del *ACE* y *CYP3A4* con la ancestralidad**

Para evaluar la asociación entre las frecuencias alélicas del polimorfismo (I/D) *ALU-ACE* y del *CYP3A4\*1B* (A/G) con los datos de ancestralidad, se realizó una prueba de Wilcoxon de suma de rangos, entre el grupo de hipertensos con la población general y entre hipertensos respondedores y no respondedores. El resultado se observó gráficamente en unos *boxplot*, realizados en el ambiente R versión 3.2.4 (<http://r-project.org>).

### **3.5.- Asociación entre todas las variables consideradas**

Para evaluar la asociación entre las variables consideradas, tanto antropométricas como moleculares, se realizó un análisis de correspondencia múltiple (ACM) y un análisis de similitud entre grupos (ANOSIM) en el ambiente R versión 3.2.4 (<http://r-project.org>).

## Resultados

### 4.1.- Caracterización general de los pacientes y población general

La comparación a nivel intragrupal e intergrupala entre las variables sexo y edad en el grupo de pacientes con HTA y población general se observan en la Tabla 3. En ambas muestras el porcentaje de mujeres fue mayor al de hombres, en el grupo de HTA fue de 73% vs 27% y en población general de 70% vs 30%; no hay diferencias entre los grupos con respecto a esta variable ( $\chi^2$  0,218, 1g.l, p=0,641).

Tabla 3. Distribución por edad y sexo en las muestras de HTA y población general de Tacuarembó. N(frecuencias)

Característica	HTA	Pob.Gen	p
Sexo	102	109	
F	75 (0,735)	77 (0,706)	0,641
M	27 (0,265)	32 (0,293)	
Edad (Media±DE)	52,92±10,65	40,59±12,33	<b>0,017</b>
F			
≤44	15 (0,20)	52 (0,675)	
45-64	56 (0,756)	23 (0,298)	<b>0,000</b>
≥65	3 (0,04)	2 (0,025)	
M			
≤44	4 (0,148)	18 (0,562)	
45-64	19 (0,703)	11 (0,343)	<b>0,000</b>
≥65	4 (0,148)	3 (0,093)	

En negrita valores significativos para  $p \leq 0,05$

La distribución de la edad en ambos grupos es diferente, la media en el grupo de HTA es de 53 años (52 las mujeres y 55 los hombres) y en la población general es de 40 años (40 las mujeres y 42 los hombres). Más del 70% de la muestra de pacientes con HTA se ubica en el rango

de edad de 45-64 años, sin importar el sexo, lo cual sería coherente con el hecho de que esta enfermedad tiene su mayor ocurrencia a partir de los 40 años. En el grupo de la población general el mayor porcentaje de individuos se ubicó en el rango <44 años. Se aplicó la prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov a la distribución de edad en ambos grupos; el resultado mostró que la distribución no era normal, por lo que se aplicó posteriormente una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis la cual dio valores significativos ( $p=0,017$ ) indicando que hay diferencia en la distribución etaria entre el grupo de pacientes con HTA y la población general. Se dividió por rangos de edad y por sexo para ver si nuestra muestra de HTA se comporta como lo observado en la literatura; en nuestra muestra y en relación al sexo el 75,6% de las mujeres y el 70,3% de los hombres se ubica en la categoría de 45-64 años. Para comparar con la población general se aplicó una prueba de independencia Ji cuadrado corregido por Bonferroni, la cual mostró diferencias estadísticamente significativas ( $\chi^2$  45,41, 2 g.l,  $p<0,001$ ) tanto para el sexo femenino como para el masculino, indicando que hay una diferencia en la distribución etaria entre los grupos de pacientes con HTA y población general en ambos sexos.

En el grupo de pacientes con HTA se tomaron medidas antropométricas (peso, talla, circunferencia de cintura) para estimar los índices de masa corporal (IMC) y el índice cintura/talla (IC/T). Según el IMC se encontró que el 85,2% de los pacientes entran en la categoría de sobrepeso y obesidad. El 28,4% de los pacientes tienen un  $IMC \geq 25$  y  $<30$ , lo cual corresponde a la categoría de sobrepeso, mientras el 56,8% tienen un  $IMC >30$  correspondiente a la categoría de obesidad. En cuanto al IC/T, el 95% de los hipertensos presentaron valores  $>0,5$ , entrando en la categoría de alto riesgo. No se pudieron coleccionar los datos antropométricos necesarios para calcular estos índices en la población general de Tacuarembó, por lo que no se puede realizar una comparación que permita estimar si hay una relación de estas variables con la hipertensión en nuestra muestra de estudio.

Por otro lado, se analizó a los hipertensos separados en grupos de respondedores (85%) y no-respondedores (15%) al tratamiento con Enalapril de acuerdo a las variables sexo, edad, IMC e IC/T (Tabla 4). La variable sexo no fue significativa para un  $p \leq 0,05$  al aplicar la prueba de Fisher ( $p=0,10$ ), indicando que no hay diferencia en la distribución de sexos entre ambos grupos, sin embargo, casi todos los hombres de la muestra son respondedores. Para la variable edad se aplicó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis la cual no dio diferencias significativas ( $p=0,54$ ),

indicando que la distribución de la edad es similar entre respondedores y no respondedores. El análisis entre rango de edad y sexo no dio significativo para la prueba de independencia de Ji cuadrado ( $\chi^2$  7,328, 3 g.l,  $p=0,092$ ). Se aplicó una prueba de Ji cuadrado para las variables de IMC ( $\chi^2$  0,805, 2 g.l,  $p=0,668$ ) y el IC/T ( $\chi^2$  0,98, 2 g.l,  $p=0,155$ ), las cuales no dieron significativas, entre el grupo de respondedores y no-respondedores; al comparar entre sexos tampoco dio significativo ni para el IMC ni el IC/T.

*Tabla 4.* Características generales de los pacientes respondedores y no-respondedores al fármaco. N(frecuencias)

Característica	Respondedores	No-respondedores	p
Sexo	87	15	
F	61 (0,7)	14 (0,933)	0,108
M	26 (0,3)	1 (0,066)	
Edad (Media±DE)	52,74±10,62	53,93±11,15	0,54
F			
≤44	12 (0,196)	3 (0,23)	0,588
45-64	47 (0,77)	9 (0,692)	
≥65	2 (0,032)	1 (0,076)	
M			
≤44	4 (0,153)	0	0,296
45-64	19 (0,73)	0	
≥65	3 (0,115)	1	
IMC*			
Normal	12 (0,137)	3 (0,2)	0,668
Sobrepeso	26 (0,298)	3 (0,2)	
Obesidad	49 (0,563)	9 (0,6)	
IC/T			
Bajo riesgo <0,5	3 (0,034)	2 (0,133)	0,155
Alto riesgo >0,5	84 (0,965)	13 (0,866)	

\*Normal: ≥18 y <25, Sobrepeso: ≥25 y <30, Obesidad: ≥30

## 4.2.- Caracterización genética

### 4.2.1.- Frecuencias genotípicas y alélicas del gen ACE

En la Figura 11 se muestra un gel con los genotipos observados para este polimorfismo.

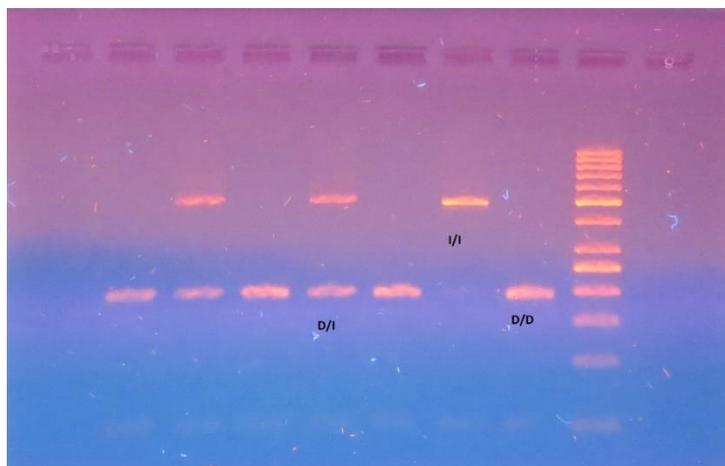


Figura 11. Determinación de los genotipos del *Alu-ACE* por gel de agarosa. D/D homocigoto para el alelo D, D/I heterocigoto, I/I homocigoto para el alelo I

En la Tabla 5 se presentan las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo rs1799752 de la Inserción/Delección *Alu* del gen *ACE*, en el grupo de hipertensos y en la población general. Los resultados obtenidos en el análisis de las frecuencias genotípicas indican que en la muestra de hipertensos se observa mayor frecuencia de individuos heterocigotos D/I (0,49), que en la población general (0,284) y menos homocigotos D/D (0,32 vs 0,53). El cálculo del equilibrio de Hardy-Weinberg para los HTA no dio significativo, indicando que la distribución de genotipos está en equilibrio en este grupo ( $\chi^2$  0, 1g.l, p=0,99). En cambio, la población general no se encuentra en equilibrio ( $\chi^2$  13,54, 1g.l, p=0,0004), debido a que se encontró menor frecuencia de individuos heterocigotos a lo esperado (0,284 vs 0,438). Al comparar la distribución de genotipos entre ambos grupos, pacientes con HTA y población general, se observan diferencias significativas ( $\chi^2$  11.13, 2g.l, p=0,0038), es mayor el porcentaje de individuos heterocigotos en el grupo de pacientes con HTA (49% vs 28,4%), en cambio, en la población general es mayor el número de individuos homocigotos D/D (53,2% vs 32,3%). El alelo D es el más frecuente en ambos grupos, pero en HTA la Inserción (I) tiene mayor frecuencia (0,431 vs 0,325).

Tabla 5. Valores observados y frecuencias genotípicas y alélicas del gen ACE en las poblaciones estudiadas

Población	Genotipos N(frecuencia)			p	Alelos	
	D/D	D/I	I/I		D	I
HTA (N=102)	33 (0,323)	50 (0,49)	19 (0,186)	0,99	0,568	0,431
Población General (N=109)	58 (0,532)	31 (0,284)	20 (0,183)	<b>0,0004</b>	0,674	0,325

En negrita valores significativos para  $p \leq 0,05$

Debido al desequilibrio en la población general, decidimos indagar en relación a la distribución de genotipos entre los rangos de edad y sexo. Se mantiene el desequilibrio en la muestra que corresponde a mujeres  $\leq$  de 44 años de edad (N=52) ( $\chi^2$  7,14, 1g.l,  $p=0,007$ ) y también, para mujeres+hombres de ese rango de edad (N=70) ( $\chi^2$  9,99, 1g.l,  $p=0,001$ ), debido a que es menor la frecuencia de individuos heterocigotos a lo esperado; los otros grupos etarios no mostraron desequilibrio, pero se trata de muestras pequeñas (N<25) en todos los casos.

Al separar en rangos de edad entre los pacientes con HTA y población general (Tabla 6), se observan diferencias significativas en el grupo de mujeres entre los 45 y 64 años de edad ( $\chi^2$  6.1, 2g.l,  $p=0,046$ ) y en el grupo masculino  $\geq 65$  años ( $p=0,01$ ).

Tabla 6. Distribución de las frecuencias genotípicas de la I/D *Alu-ACE* entre grupos de edad y sexo.

Rangos	Genotipos	HTA	Pob Gen	p
		<b>F</b>		
		N=15	N=52	
	D/D	5 (0,33)	26 (0,5)	
	D/I	8 (0,53)	15 (0,288)	p=0,21
	I/I	2 (0,13)	11 (0,211)	
		<b>M</b>		
<44		N=4	N=18	
	D/D	2 (0,5)	12 (0,66)	
	D/I	2 (0,5)	4 (0,22)	p=0,7
	I/I	0	2 (0,11)	
		<b>F</b>		
		N=55	N=23	
	D/D	17 (0,309)	14 (0,608)	
	D/I	27 (0,49)	6 (0,26)	<b>p=0,046</b>
	I/I	11 (0,2)	3 (0,13)	
		<b>M</b>		
45-64		N=18	N=11	
	D/D	8 (0,44)	3 (0,27)	
	D/I	8 (0,44)	6 (0,545)	p=0,66
	I/I	2 (0,11)	2 (0,18)	
		<b>F</b>		
		N=5	N=2	
	D/D	1 (0,2)	0	
	D/I	2 (0,4)	0	p=0,62
	I/I	2 (0,4)	2 (1)	
		<b>M</b>		
>65		N=5	N=3	
	D/D	0	3 (1)	
	D/I	3 (0,6)	0	<b>p=0,01</b>
	I/I	2 (0,4)	0	

En negrita valores significativos para  $p \leq 0,05$

En la Tabla 7 se observan las frecuencias genotípicas y alélicas del grupo de pacientes con HTA separados como respondedores y no-respondedores al tratamiento con Enalapril. La distribución de genotipos dentro de los respondedores ( $\chi^2$  0,01, 1 g.l, p=0,942) y no-respondedores ( $\chi^2$  0,04, 1 g.l, p=0,847) muestra que ambos grupos se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg. Cuando comparamos la distribución de genotipos entre ambos grupos no se encuentran diferencias significativas (p=0,99). La distribución de genotipos entre sexos entre respondedores y no respondedores no fue significativa ( $\chi^2$  1,4, 2g.l, p=0,496), sin embargo, en el grupo respondedores se observa una tendencia de mayor frecuencia de homocigotos I/I en las mujeres en comparación con los hombres (21,3% vs 11,5%), y mayor frecuencia de homocigotos D/D en los hombres en comparación con las mujeres (38,4% vs 29,5%) (Anexo 8). Las frecuencias alélicas en ambos grupos son iguales.

Tabla 7. Valores observados y frecuencias genotípicas y alélicas del gen ACE entre respondedores y no-respondedores al fármaco

Población	Genotipos N(frecuencia)			p	Alelos	
	D/D	D/I	I/I		D	I
Respondedores (N=87)	28 (0,321)	43 (0,494)	16 (0,183)	0,94	0,568	0,431
No-respondedores (N=15)	5 (0,333)	7 (0,466)	3 (0,2)	0,84	0,566	0,433

4.2.1.1.- Distancias genéticas calculadas a partir del análisis de las frecuencias alélicas del gen ACE entre las poblaciones de estudio y otras de diferentes continentes

Para cuantificar el grado de diferencias entre las poblaciones estudiadas, utilizamos una medida de distancia genética (Fst), a partir de las frecuencias alélicas del gen ACE en sus dos variantes (I y D), en población general e hipertensos de Tacuarembó. También se comparó con otros datos reportados para el mundo (europeos, africanos e indígenas, previamente descritos en materiales y métodos) y cuyas frecuencias alélicas se pueden observar en la Tabla 8.

Tabla 8. Frecuencias alélicas de la Inserción *Alu-ACE* a nivel mundial

Grupo	Población	N	I	D	Fuente
Africanos	Nguni	86	0,400	0,600	Base de datos ALFRED
	San	30	0,423	0,577	
	Sotho-Tswana	96	0,380	0,620	
	Hausa	78	0,436	0,564	
	Yoruba	152	0,349	0,651	
	Nigeria	22	0,270	0,730	
Europeos	Vascos	206	0,369	0,631	
	Canarias	264	0,348	0,652	
	Francia	1716	0,433	0,567	
	Galicia	104	0,346	0,654	
	Italia	222	0,342	0,658	
	Portugal	60	0,367	0,633	
Mestizas Latinoamericanas	Cerdeña	204	0,279	0,721	
	Hispano- Brasil-PortoAlegre	144	0,530	0,470	
	Montevideo	150	0,447	0,553	
Indígenas		100	0,44	0,56	Zorrilla et al. 2006
	Pima-México	106	0,538	0,462	
	Maya-Yucatan	104	0,721	0,279	
	Aché	152	1,000	0,000	
	Bari	35	0,500	0,500	
	Guaraní	70	0,829	0,171	
	Guihiba	30	0,882	0,118	
	Caingang	92	0,543	0,457	
	Karitiana	110	0,945	0,055	
	Quechua	222	0,730	0,270	
Este estudio	Xavante	60	0,683	0,317	
	Yanomami	54	0,750	0,250	
Este estudio	<b>HTA_Tcmbo</b>	102	0,431	0,568	Este estudio
	<b>PobGen_Tcmbo</b>	109	0,325	0,674	

La distancia entre el grupo de pacientes con HTA y la población general de Tacuarembó fue significativamente diferente entre ellas. La población general de Tacuarembó presentó distancias significativas con los Mayas, Aché, Guaraní, Karitiana, Quechua, Yanomami e Hispanoamericanos, pero no con las poblaciones europeas, africanas, Montevideo y Brasil-Porto Alegre. El grupo de HTA a su vez también presentó distancias significativas con los grupos indígenas Mayas, Aché, Guaraní, Karitiana, Quechua y Yanomami; con los africanos Sotho-Tswana, Yoruba, Nigeria, y los europeos Vascos, Canarias, Galicia, Italia y Cerdeña. No presentó distancias significativas con Montevideo, Hispanoamericanos, Brasil-Porto Alegre, Francia, Portugal, Hausa, San (Anexo 6).

En la Figura 12 se pueden observar los agrupamientos en función de las distancias genéticas obtenidas. Se presentan 4 grandes grupos, uno de ellos conformado por poblaciones indígenas (Caingang, Xavante, Yanomami, Quechua, Guaraní, Guihíba, Katiana, Aché, Maya) donde se alcanzan las mayores frecuencias de la inserción *ACE* en comparación con otras poblaciones a nivel mundial. Un segundo grupo está conformado por el grupo indígena Pima, Hispanoamericanos, Brasil-Porto Alegre, Montevideo y los pacientes con HTA de Tacuarembó, en este caso las frecuencias del alelo I se presenta con una proporción alta (entre 43-53%), en comparación con poblaciones europeas y africanas. Un tercer grupo está conformado por poblaciones europeas, africanas con frecuencias del alelo I que van entre 37% y 43%. El último grupo lo conforman las poblaciones que presentaron las menores frecuencias del alelo I en comparación con las otras a nivel mundial, y dentro de este grupo se encuentra la población general de Tacuarembó, cuya frecuencia fue de 32%, y se asemeja a las frecuencias reportadas para poblaciones africanas (Yoruba, Nigeria) y europeas (Italia, Galicia, Cerdeña).

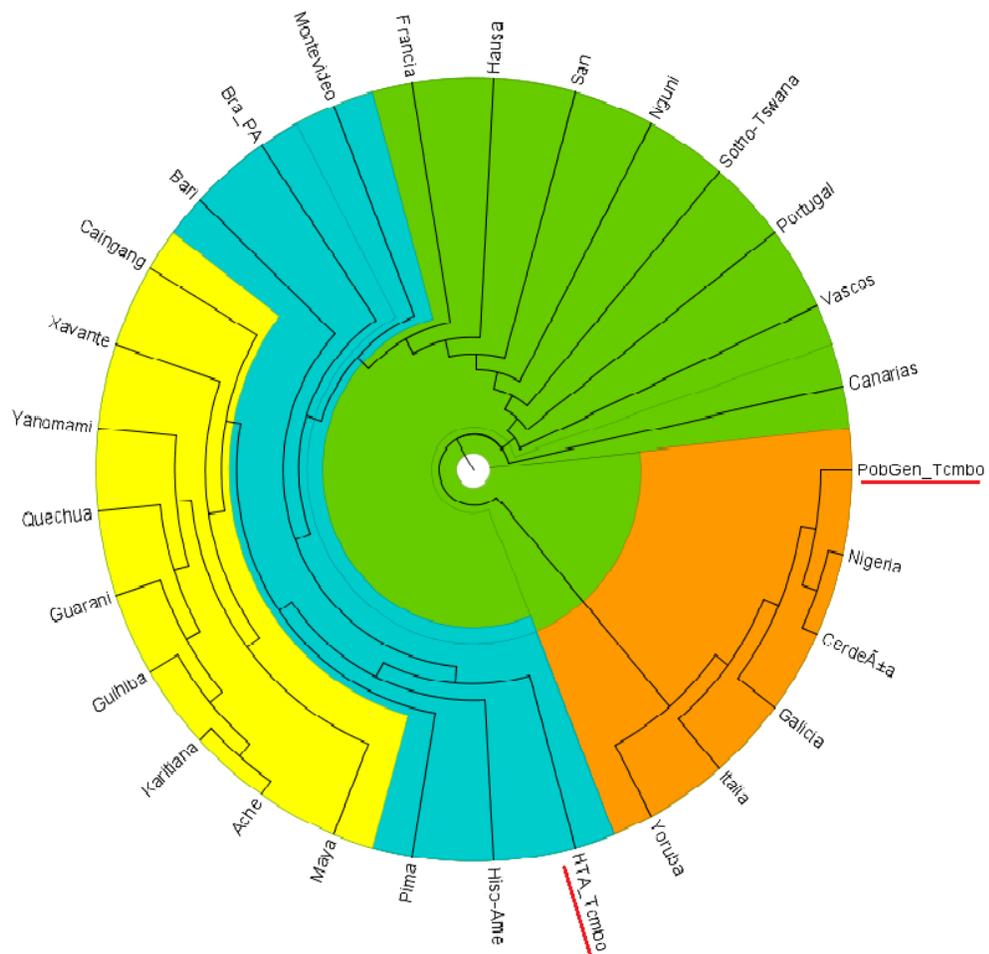


Figura 12. Dendrograma de la Inserción ALU-ACE a partir del cálculo de distancias genéticas por FST en las poblaciones de estudio y otras a nivel mundial

#### 4.2.1.2.- Comparación intergrupala o entre grupos.

Se realizó una prueba de AMOVA entre las poblaciones de pacientes con HTA, población general y otras a nivel mundial. Un total de 28 poblaciones que fueron descritas en materiales y métodos, previamente clasificadas en 4 grupos de acuerdo a su ubicación geográfica (Europa, Africa, Indígenas y Mestizos de América). La variabilidad intrapoblacional encontrada es de 84,04%. El nivel de varianza dentro de los grupos (5,43%) y entre grupos (10,53%) no es muy alto, indicando que se trata de poblaciones relativamente homogéneas dentro de los grupos que se

seleccionaron. La diferenciación genética entre poblaciones fue significativo con un valor de  $F_{st}$  de 0,1596 (Anexo 9).

#### 4.2.2.- Frecuencias genotípicas y alélicas del *CYP3A4\*1B*

En la Figura 13 se muestra un cromatograma con los genotipos observados para este polimorfismo.

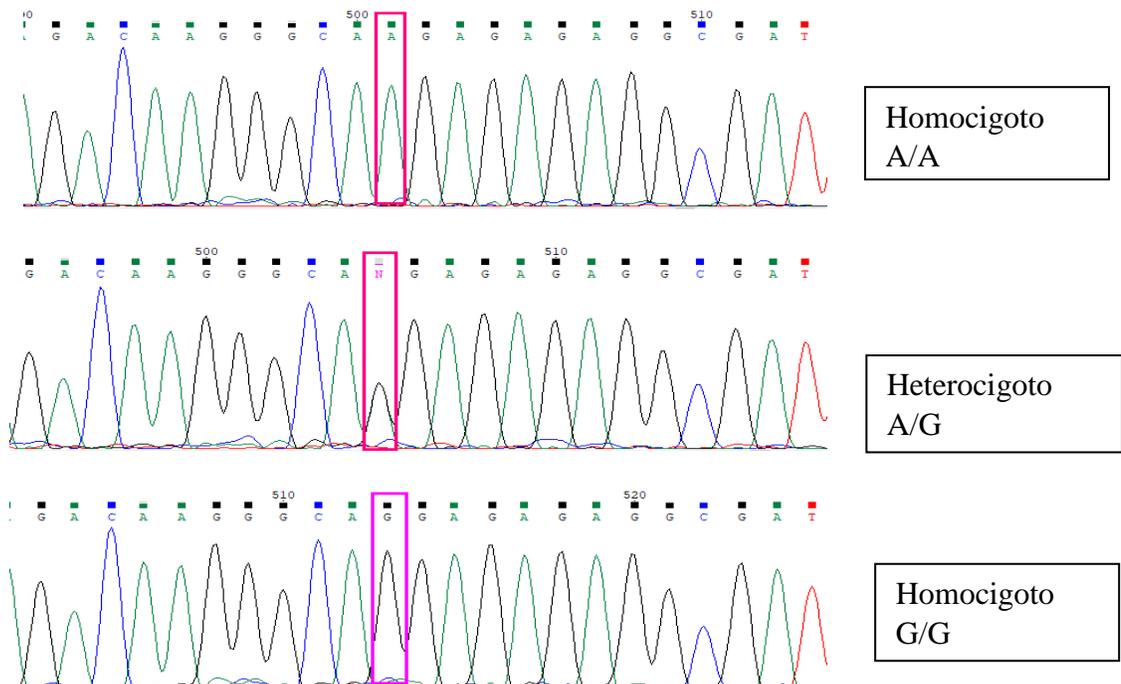


Figura 13. Cromatograma de los genotipos para el gen *CYP3A4\*1B*

En la Tabla 9 se presentan las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo rs2742574 en la población de hipertensos y otras poblaciones tomadas del Proyecto 1000 genomas y literatura. No se pudo estudiar este polimorfismo en la población general de Tacuarembó debido a que las condiciones del ADN no permitieron obtener las secuencias necesarias, haciéndose imposible una recolección de nuevas muestras por razones monetarias y de tiempo.

Tabla 9. Valores observados y frecuencias genotípicas y alélicas del gen *CYP3A4\*1B* entre HTA y otras poblaciones a nivel mundial

Grupo	Población	A	G	
Asia	Mujeres Irán	1	0	Badavi et al. 2015
	Dai-China	1	0	
	Han-China	1	0	
Africa	Esan-Nigeria	0,232	0,767	1000 Genomas
	Gambia	0,208	0,792	
	Sierra Leona	0,164	0,836	
	Yoruba	0,236	0,764	
Europa	Mujeres HTA embarazas España	0,98	0,02	Coto et al., 2010
	Ibéricos-España	0,972	0,028	
	Toscana-Italia	0,972	0,028	
Latino América	Medellin-Colombia	0,899	0,101	1000 Genomas
	Lima-Peru	0,964	0,036	
	Puerto Rico	0,812	0,187	
	Mexicanos-USA	0,93	0,07	
	<b>HTA (N=102)</b>	<b>0,878</b>	<b>0,22</b>	

En la tabla 10 se observan los resultados obtenidos en el análisis de las frecuencias genotípicas indican que el grupo de pacientes con HTA está en equilibrio ( $\chi^2$  0,239, 1g.l,  $p=0,624$ ). La frecuencia del alelo variante (G) para los HTA es del 12%, más alto que el reportado en las poblaciones europeas y algunas latinoamericanas con alto porcentaje de aporte indígena como México, Colombia y Perú.

Tabla 10. Valores observados y frecuencias genóticas y alélicas del CYP3A4\*1B entre pacientes con HTA y entre hipertensos respondedores y no-respondedores al fármaco

Población	Genotipos			p	Alelos	
	A/A	A/G	G/G		A	G
HTA (N=102)	78 (0,764)	23 (0,225)	1 (0,009)	0,64	0,878	0,12
Respondedores (N=87)	66 (0,75)	20 (0,23)	1 (0,01)	0,7	0,873	0,127
No-respondedores (N=15)	12 (0,8)	3 (0,2)	0	0,66	0,9	0,1

Al comparar la distribución de genotipos entre sexos no dio significativo ( $p=0,069$ ), sin embargo se observa una tendencia en los individuos masculinos de mayor frecuencia de homocigotos A/A (85% vs 73%) y menor frecuencia de heterocigotos A/G en comparación con las mujeres (11% vs 26%) (Anexo 8)

La distribución de genotipos en los respondedores está en equilibrio de Hardy-Weinberg ( $\chi^2$  0,143, 1g.l,  $p=0,70$ ), al igual que en los no-respondedores ( $\chi^2$  0,185, 1g.l,  $p=0,66$ ). Al comparar la distribución de genotipos entre ambos grupos no se observan diferencias ( $p=0,99$ ), y la distribución de genotipos entre sexos tampoco fue significativa ( $p=0,082$ ); sin embargo, se observa una tendencia en el grupo de respondedores masculinos de mayor frecuencia A/A (84,6% vs 72%).

#### 4.2.2.1.- Distancias genéticas calculadas a partir del análisis de las frecuencias alélicas del CYP3A4\*1B entre el grupo de pacientes con HTA y otras de diferentes continentes

Para cuantificar el grado de diferencias entre las poblaciones estudiadas con relación a sus frecuencias alélicas, utilizamos una medida de distancia genética (Fst), para esto se utilizó la información obtenida de las frecuencias alélicas del gen CYP3A4\*1B en sus dos variantes (A y G), en hipertensos de Tacuarembó, conjuntamente con otros datos alélicos reportados para

distintas poblaciones mundiales, descritos en materiales y métodos. Las frecuencias alélicas de la muestra y esas poblaciones se pueden observar en la Tabla 9.

El grupo de pacientes con HTA presentó distancias significativas ( $p \leq 0,05$ ) con casi todas las poblaciones, con el grupo de embarazadas hipertensas de España, con la población de mujeres de Irán, y con las poblaciones generales Dai China, Han China, Esan Nigeria, Gambia, Sierra Leona, Yoruba, Ibéricos.España, Toscana-Italia y Lima-Perú (Anexo 7). No presentó distancias significativas con Puerto Rico, México y Colombia.

En la Figura 14, se pueden observar los agrupamientos obtenidos con los valores de distancias genéticas. Es importante destacar que las mayores frecuencias para el alelo G se reportan en poblaciones africanas y está ausente en poblaciones asiáticas. Se presentan cuatro grupos, uno de ellos conformado por poblaciones africanas (Gambia, Sierra Leona, Nigeria, Yoruba) donde las frecuencias del alelo G son las más altas (76-83%). Un segundo grupo está conformado por poblaciones mestizas latinoamericanas y donde está el grupo de pacientes con HTA, en este caso la frecuencia del alelo G se presenta entre el 7% y 18%. El tercer grupo está conformado por poblaciones europeas y Perú donde reportan las menores frecuencias de la variante (7-3%). El último grupo se encuentran las poblaciones asiáticas donde está ausente el alelo G. Es importante tomar en cuenta que se están comparando con datos de población general y no con otros pacientes hipertensos. No hay reportes en indígenas americanos.

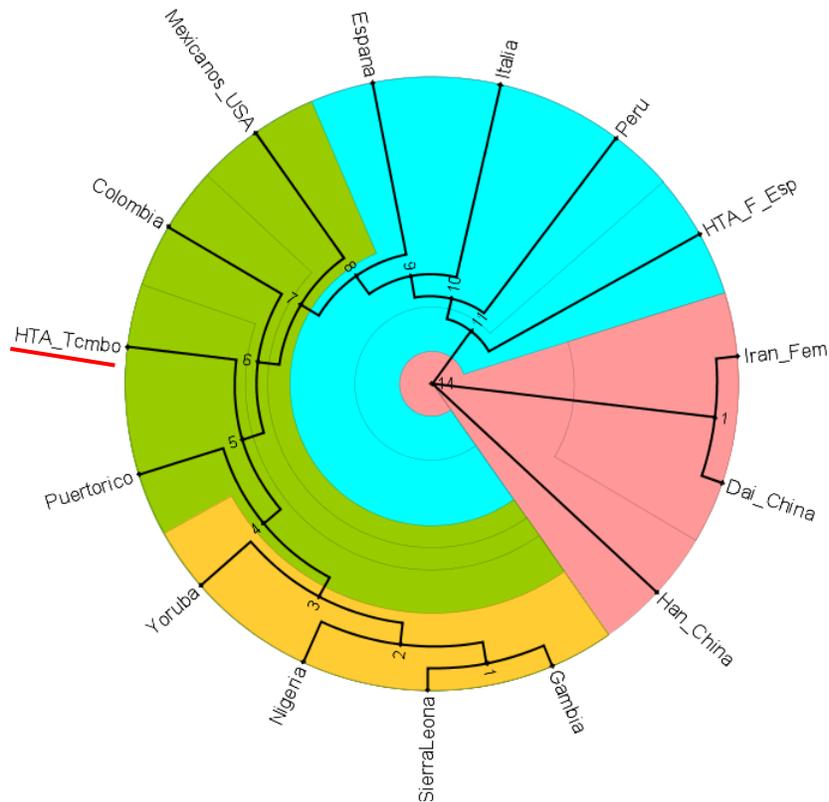


Figura 14. Dendrograma del gen *CYP3A4\*1B* a partir del cálculo de distancias genéticas por FST en las poblaciones de HTA de Tacuarembó y otras a nivel mundial

#### 4.2.2.2.- Comparación intergrupal o entre grupos.

El AMOVA se realizó entre la muestra de pacientes con HTA y un total de 15 poblaciones que fueron descritas en materiales y métodos, las cuales se agruparon en 4 grupos de acuerdo a su ubicación geográfica (Europa, Africa, Asia y Latinoamerica). La variabilidad intrapoblacional es muy baja (33,38%). El nivel de varianza dentro de los grupos fue de 1,20%, por lo tanto dichos grupos estan conformado por poblaciones homogéneas que no varían entre ellas. La varianza entre grupos fue de 64,41% indicando que si hay variación en cuanto a la distribución y frecuencia de este polimorfismo a nivel mundial. La diferenciación genética entre poblaciones dio significativo con un valor de Fst de 0,6661 (Anexo 9).

#### 4.2.2.3.- Análisis de la secuencia de la región promotora del *CYP3A4*

Se secuenciaron 882pb correspondientes a la región promotora del *CYP3A4* en busca del polimorfismo de interés, el rs2740574. Al analizar en detalle las 102 secuencias del grupo de pacientes con HTA de Tacuarembó, se encontró otra variante en 10 individuos, que es correspondiente al polimorfismo *CYP3A4\*1F* (-747G>C), rs11773597. En la Figura 15 se observa el cambio en la secuencia que permitió identificar los genotipos de este polimorfismo.

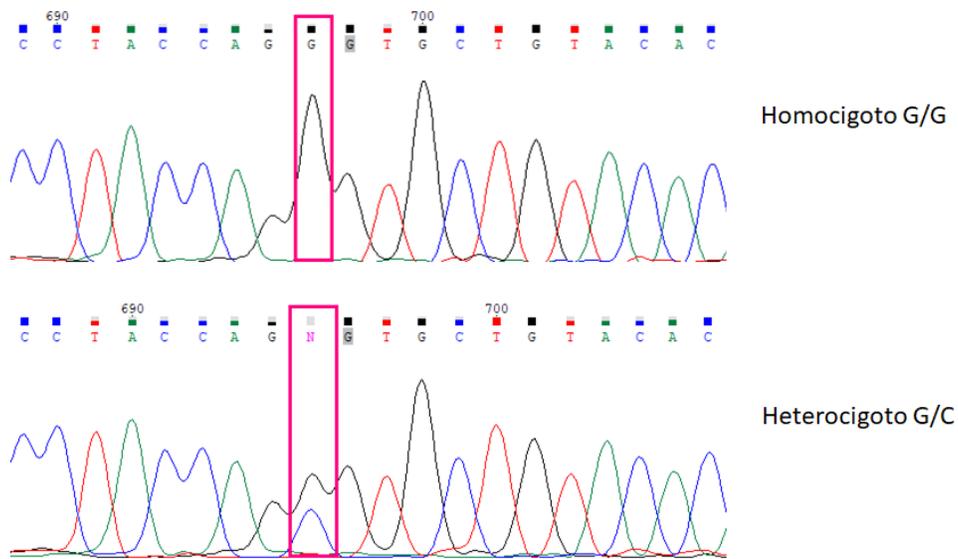


Figura 15. Determinación por el cromatograma de los genotipos del *CYP3A4\*1F*

No se observaron homocigotos C/C. En nuestra muestra de HTA los portadores del alelo C para este polimorfismo se encuentra sólo en el grupo de respondedores y siempre son homocigotos A/A para el *CYP3A4\*1B*.

En la muestra de pacientes con HTA la frecuencia del alelo C fue de 0,049, asemejándose a la frecuencia reportada para poblaciones latinas como Puerto Rico y Mexicanos-USA tomadas del Proyecto 1000 genomas (Tabla 11). Es importante tomar en cuenta que se están comparando con datos de población general y no con otros pacientes hipertensos.

Tabla 11. Frecuencias alélicas del polimorfismo CYP3A4\*1F

Población	Alelos		Fuente
	G	C	
Esan-Nigeria	1	0	
Gambia	0,978	0,02	
Sierra Leona	1	0	
Yoruba	1	0	
Dai-China	1	0	
Han-China	1	0	1000
Ibéricos-España	0,935	0,065	Genomas <sup>1</sup>
Toscana-Italia	0,939	0,061	
Medellin-Colombia	0,936	0,064	
Lima-Peru	0,994	0,006	
Puerto Rico	0,952	0,048	
Mexicanos-USA	0,953	0,047	
<b>HTA (N=102)</b>	<b>0,951</b>	<b>0,049</b>	Presente estudio

<sup>1</sup><https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/?gts=rs11773597>

A gran escala, esta variante (el alelo C) está ausente en las poblaciones al este de Asia, y en África tiene una frecuencia en torno al 1%. Las mayores frecuencias se reportan en Europa con una frecuencia alrededor del 7% y en poblaciones mestizas de América en torno al 4% ([http://grch37.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?r=7:99381951-99382951;v=rs11773597;vdb=variation;vf=38737294](http://grch37.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?r=7:99381951-99382951;v=rs11773597;vdb=variation;vf=38737294)).

### 4.3.- Caracterización sobre ancestralidad.

#### 4.3.1.- Estimación de ancestralidad a través del ADN mitocondrial

Los resultados para estimar la ancestralidad en el ADN mitocondrial del grupo de hipertensos de Tacuarembó, arrojó que un 62,6% tiene origen indígena, seguido de un 29,3% europeo y un 8,1% africano (Tabla 12). Dentro de los haplogrupos americanos, el que se presenta con mayor frecuencia es el C1 (29%), seguido del B y el D, ambos con frecuencias de 24% y el haplogrupo A con 21%.

Tabla 12. Valores observados y frecuencia de los haplogrupos de ADNmt de la población de HTA Tacuarembó

	N	Haplogrupo	N
Indígena	61 (0,626)	A2	13 (0,21)
		B2	15 (0,241)
		C1	18 (0,29)
		D1	15 (0,241)
Europeo	31 (0,293)	G1	1 (0,032)
		H	15 (0,483)
		J	2 (0,064)
		K	1 (0,032)
		N	1 (0,032)
		R	1 (0,032)
		T	3 (0,096)
		U	9 (0,29)
Africano	8 (0,081)	L0	1 (0,125)
		L1	2 (0,25)
		L2	2 (0,25)
		L3	3 (0,375)

En relación a la población general utilizada para comparar, se consideraron datos de un trabajo anterior. Bonilla et al. (2004) analizaron el ADN mitocondrial en una muestra de 100 individuos de la población de Tacuarembó cuyas muestras se recolectaron en 1991. Reportaron

que 62% del linaje materno correspondía con haplogrupos indígenas, el 20,8% de haplogrupos europeos y 16,7% africanos. Cuando calcularon la proporción de cada haplogrupo indígena con respecto al número total de haplogrupos de este origen, obtuvieron 33,3% B, 32,2% C, 21% A y 12,9% D.

Comparando los datos publicados por Bonilla et al. (2004) y los de este trabajo, en base a los haplogrupos para origen continental (euro-afro-indígena), las diferencias están cercanas a la significancia considerando el 5% ( $\chi^2=5,62$ ;  $gl=2$ ;  $p=0,051$ ). En nuestro estudio es menor la frecuencia de haplogrupos africanos (8% vs 16,7%) y se observó mayor cantidad de haplogrupos europeos (30% vs 21%). Las frecuencias de haplogrupos indígenas observadas en este estudio no difieren de lo observado casi una generación atrás ( $\chi^2=2,34$ ;  $gl=3$ ;  $p>0,5$ ) por Bonilla et al. (2004).

Al clasificar a los pacientes en respondedores y no respondedores (Tabla 13), no se encontraron diferencias significativas en la distribución de los haplogrupos mitocondriales indígenas, europeos y africanos ( $p=0,9$ ). No obstante, se observa mayor frecuencia de haplogrupos indígenas en los no-respondedores 66,6% vs 58,6% de los respondedores, aunque esta diferencia no es significativa ( $p=0,106$ ).

Tabla 13. Valores observados y frecuencia de los haplogrupos de ADNmt entre el grupo de respondedores y no-respondedores

		Respondedores			No-Respondedores		
		N	Haplogrupos	N	N	Haplogrupos	N
Indígena	51 (0,587)		A2	12 (0,24)	10 (0,67)	A2	1 (0,1)
			B2	13 (0,25)		B2	2 (0,2)
			C1	14 (0,27)		C1	4 (0,4)
			D1	12 (0,24)		D1	3 (0,3)
Europeo	29 (0,333)		G	1 (0,03)	4 (0,27)	H	1 (0,25)
			H	14 (0,49)			
			J	2 (0,06)			
			K	1 (0,03)		T	2 (0,5)
			N	1 (0,03)			
			R	1 (0,03)			
			T	1 (0,03)			
	U	8 (0,28)	U	1 (0,25)			
Africano	7 (0,08)		L0	1 (0,15)	1 (0,06)	L2	1
			L1	2 (0,28)			
			L2	1 (0,15)			
			L3	3 (0,42)			

#### 4.3.2.- Estimación de mestizaje a través de marcadores informativos de ancestralidad (AIMs).

Para estimar la proporción de mestizaje en la sub-muestra de pacientes con HTA (N=38) y una sub-muestra de la población general (N=70) se utilizó el programa STRUCTURE, usando como datos los genotipos de 79 AIMs, en 13 poblaciones, descritas en Materiales y Métodos. Se realizaron 8 simulaciones con diferentes K, y los resultados de estas se corrieron en el programa Structure Harvester (<http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>). Los resultados indicaron que para nuestros datos el K=3 es el que mejor se adecúa, ya que tiene un alto valor del Delta K y la menor desviación estándar (Figura 16).

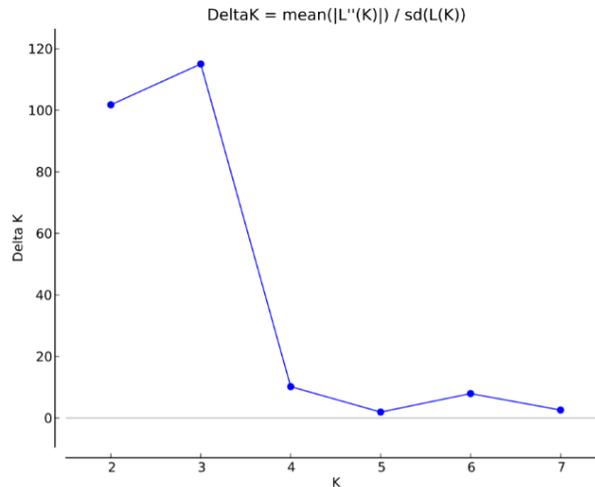


Figura 16. Valores DeltaK Structure

En las muestras de estudio, con un K=3 (Figura 17), el promedio de la contribución europea es la más alta en ambos grupos (73% en HTA y 78% en la población general).

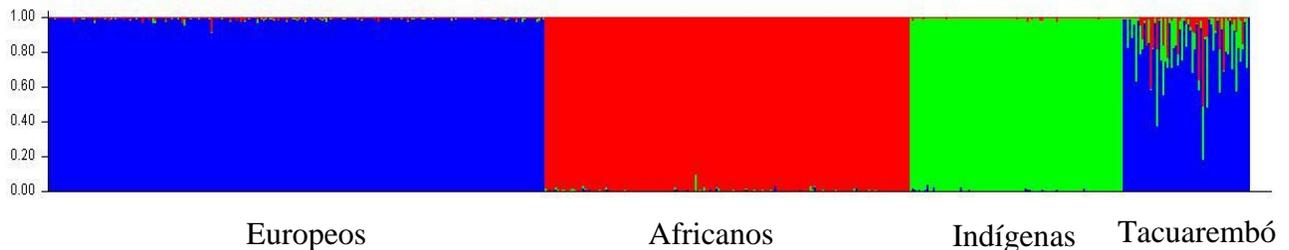


Figura 17. Estimación de mestizaje por el Structure K=3

Se encontraron diferencias significativas al aplicar la prueba de Wilcoxon entre los grupos de pacientes con HTA y la población general para este aporte ( $w=494,5$ ;  $p=0,04$ ). Por otra parte, el aporte indígena fue mayor en los HTA, de 22,6%, con respecto a la población general donde es de 13,6%, y esta diferencia es significativa aplicando la misma prueba ( $w=897,5$ ;  $p=0,02$ ). En ambos grupos el aporte africano fue el más bajo (7% y 8%), no encontrándose diferencias entre ambos grupos con respecto a este aporte (Tabla 14 y Figura 18).

Tabla 14. Estimación de ancestralidad por AIMs usando STRUCTURE k=3 en HTA y Población General

Componente Ancestral	HTA (N=38)	Población General (N=70)	p
Europeo	0,7321	0,786	<b>0,04</b>
Indígena	0,2268	0,136	<b>0,021</b>
Africano	0,08	0,07	0,73

En negrita valores significativos para  $p \leq 0,05$

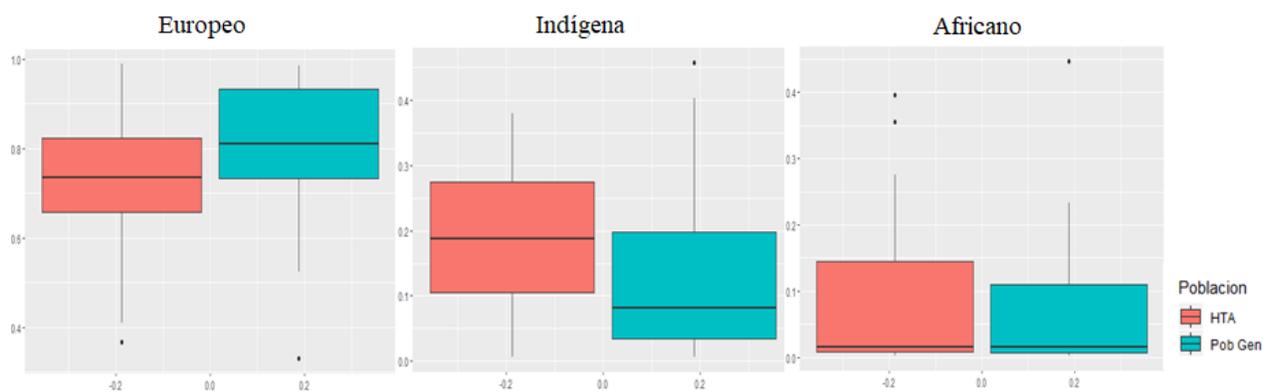


Figura 18. Boxplot de los componentes ancestrales en la muestra de HTA y Población general de Tacuarembó (Pob Gen)

En el caso de los grupos hipertensos respondedores y no-respondedores, el promedio de la contribución europea es la más alta en ambos grupos (74% en respondedores y 72% en no-respondedores), no se encontraron diferencias significativas al aplicar la prueba de Wilcoxon entre estos dos grupos para este aporte ( $w=185,5$ ;  $p=0,6$ ). Tampoco se observaron diferencias significativas en el aporte indígena ( $w=158$ ;  $p=0,77$ ) ni en el aporte africano ( $w=179$ ;  $p=0,75$ ). En ambos grupos el aporte africano fue el más bajo (7% y 8%) (Tabla 15 y Figura 19).

Tabla 15. Estimación de ancestralidad por AIMs usando STRUCTURE k=3 en Respondedores y No-respondedores

Componente Ancestral	Respondedores (N=23)	No-respondedores (N=15)	p
Europeo	0,738	0,72	0,6
Indígena	0,184	0,193	0,77
Africano	0,07	0,08	0,75

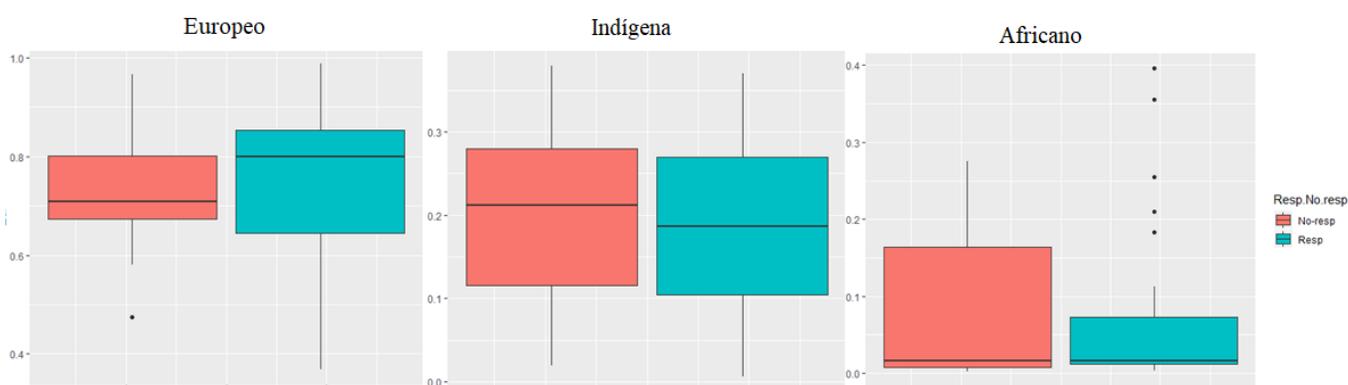


Figura 19. Boxplot de los componentes ancestrales en los hipertensos respondedores y no-respondedores

#### 4.4.- Asociación entre ancestralidad y los polimorfismos estudiados.

##### 4.4.1.- Inserción/Delección *Alu-ACE*.

Para estimar la asociación entre cada uno de los componentes ancestrales (europeo, indígena y africano) con los alelos del gen *ACE*, (presencia (I) y ausencia (D) para la inserción) de manera independiente, se aplicó la prueba de Wilcoxon de suma de rangos en el grupo de pacientes con HTA y la población general. Se utilizaron las estimaciones individuales de ancestralidad obtenidas con los AIMs en el programa STRUCTURE. La Figura 20 muestra los resultados obtenidos. No se encontró ninguna diferencia significativa entre la distribución de los alelos del gen *ACE* y alguno de los componentes en ninguno de los dos grupos. Sin embargo, en la población

general se observó mayor aporte europeo y ausencia para la inserción (D) del *ACE* comparando con el grupo de pacientes con HTA ( $w=12$ ;  $p=1$ ) (señalado en rojo en la Figura 20A); no se observó la misma tendencia entre la presencia de la inserción (I) y el componente europeo comparando ambas muestras ( $w=71$ ,  $p=0,978$ ). Por otra parte, se observa menor varianza en el grupo de pacientes con HTA con respecto al aporte indígena (señalado en azul en la Figura 20B) no hay diferencia en las medias del alelo I entre los HTA y la población general ( $w=73$ ;  $p=0,97$ ) en el caso de la ausencia (D) y el componente indígena no se encontró asociación ( $w=20$ ,  $p=0,197$ ). No hay ninguna asociación entre el componente africano y la presencia de la inserción (I) ( $w=80$ ;  $p=0,68$ ), ni entre la ausencia (D) ( $w=7$ ,  $p=0,439$ ) entre HTA y población general (Figura 20C).

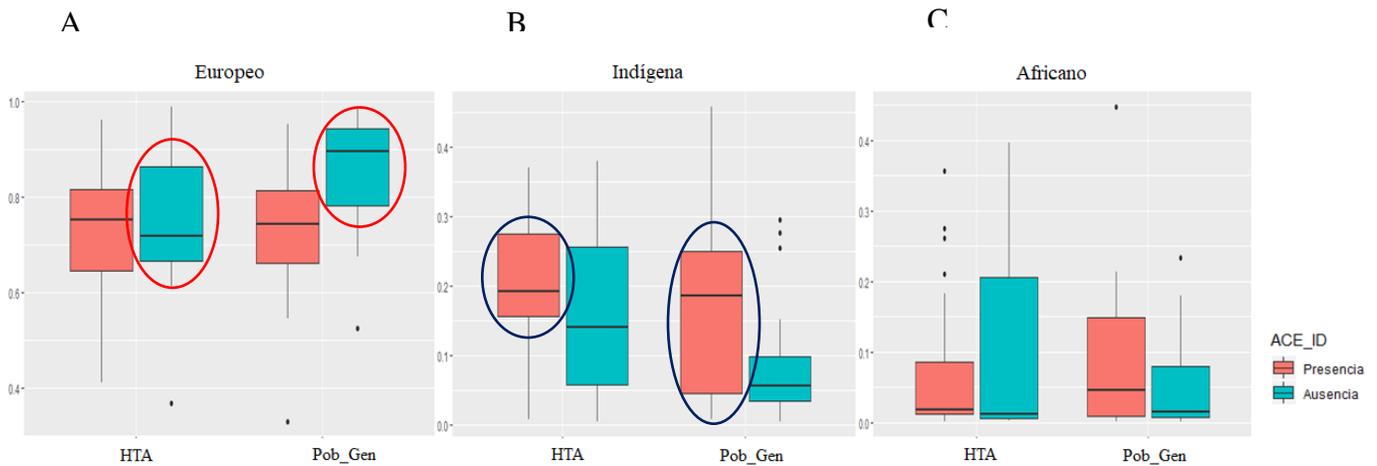


Figura 20. Boxplot de la asociación entre la presencia de la Inserción (I) y ausencia (D) del *Alu-ACE* y los componentes ancestrales en el grupo de HTA y población general

Cuando analizamos la presencia (I) y la ausencia (D) de la inserción del *ALU-ACE* con los componentes ancestrales entre respondedores y no-respondedores, no se observaron diferencias significativas. No hay asociación entre el aporte europeo y la presencia del I ( $w=58$ ;  $p=0,924$ ), ni con la ausencia (D) ( $w=12$ ,  $p=0,58$ ), en estos dos grupos (Figura 21A). En el caso del componente indígena, la presencia de la inserción entre respondedores y no-respondedores no fue significativa ( $w=61$ ;  $p=0,974$ ), aunque pareciera haber un mayor número de individuos con aporte indígena y presencia de la inserción (I) en los no-respondedores (señalado en azul en la Figura 21B). Dentro

del grupo no-respondedores en el aporte indígena se observa una aparente diferencia entre la presencia de la inserción (I) y la ausencia (D) aunque no es significativa ( $w=11$ ,  $p=0,53$ ) (señalado en rosado Figura 21B). En el componente africano no se observaron diferencias ni con la presencia (I) ( $w=60$ ;  $p=1$ ), ni con la ausencia ( $w=3$ ,  $p=0,218$ ).

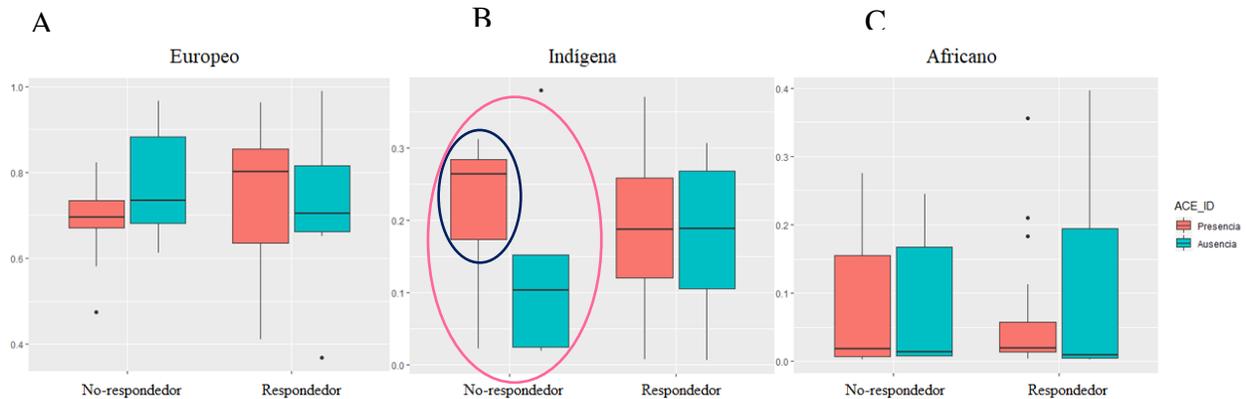


Figura 21. Boxplot de la asociación entre la presencia de la Inserción (I) y ausencia (D) del *Alu-ACE* y los componentes ancestrales en el grupo de respondedores y no-respondedores

#### 4.4.2.- Polimorfismo *CYP3A4\*1B*.

En la Figura 22 se observa la asociación entre el componente ancestral y los alelos A y G del *CYP3A4\*1B*. El aporte europeo entre respondedores y no-respondedores no mostró asociación con el alelo A ( $w=538$ ,  $p=0,79$ ) ni con el alelo G ( $w=203$ ,  $p=0,7$ ) (Figura 22A). El aporte indígena tampoco presentó asociación entre ambos grupos con el alelo A ( $w=555$ ,  $p=0,76$ ) ni con el G ( $w=186$ ,  $p=0,76$ ); sin embargo, dentro del grupo de los no-respondedores se observan más individuos con mayor aporte indígena y mayor presencia del alelo A ( $w=91$ ,  $p=0,18$ ) aunque no es significativo (señalado en rojo en la Figura 22B). En el aporte africano no se observó asociación con el alelo A ( $w=536,5$ ,  $p=0,75$ ), ni con el alelo G ( $w=204,5$ ,  $p=0,75$ ). No obstante, en el grupo de no-respondedores se observan más individuos con mayor aporte africano y mayor frecuencia

del alelo G, pero esta asociación no es significativa ( $w=27$ ,  $p=0,48$ ) (señalado en azul en la Figura 22C).

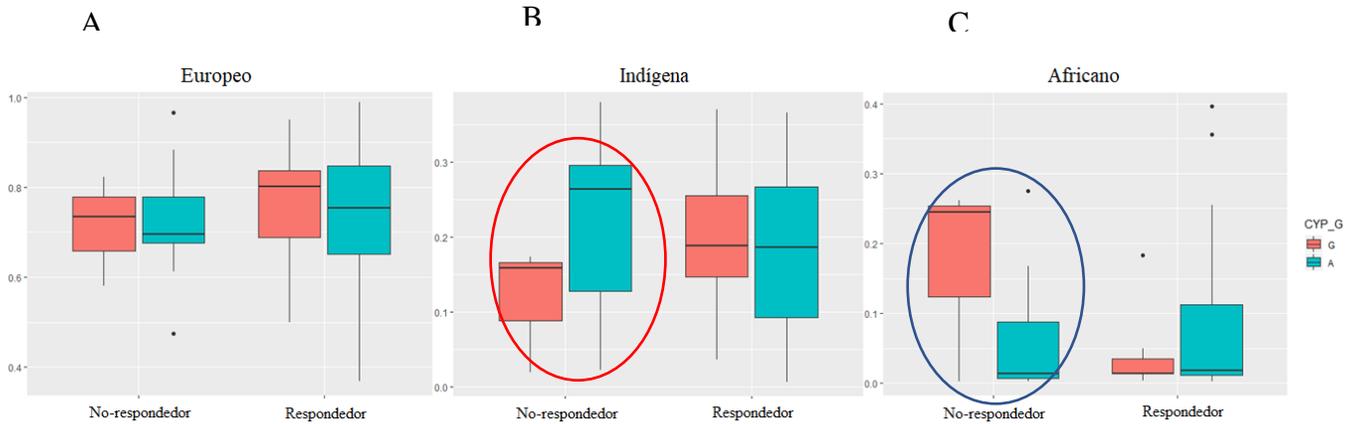


Figura 22. Boxplot de la asociación entre los alelos A y G del *CYP3A4\*1B* y los componentes ancestrales en el grupo de respondedores y no-respondedores

#### 4.5.- Asociación de todas las variables consideradas.

Para intentar establecer el comportamiento simultáneo de todas las variables estudiadas, se realizó un análisis de correspondencia múltiple (ACM) entre el grupo de pacientes con HTA respondedores y no-respondedores, considerando sexo, IMC (normal, sobrepeso/obesidad), genotipos del *ACE* (D/D, D/I, I/I), genotipos del *CYP3A4\*1B* (A/A, A/G, G/G) y ancestralidad por vía materna (ADNmt) indígena, europeo y africano. En la Figura 23 se observa que ambos ejes explican solo el 32,5% de las asociaciones observadas, por lo que se hace difícil destacar alguna asociación; sin embargo, se aprecia que los respondedores tienden a tener las siguientes características: sexo masculino y origen mitocondrial no indígena. Los no-respondedores se asocian en mayor proporción con el genotipo I/I del gen *ACE*, sexo femenino y origen mitocondrial indígena. El IMC no se diferencia entre ambos grupos.

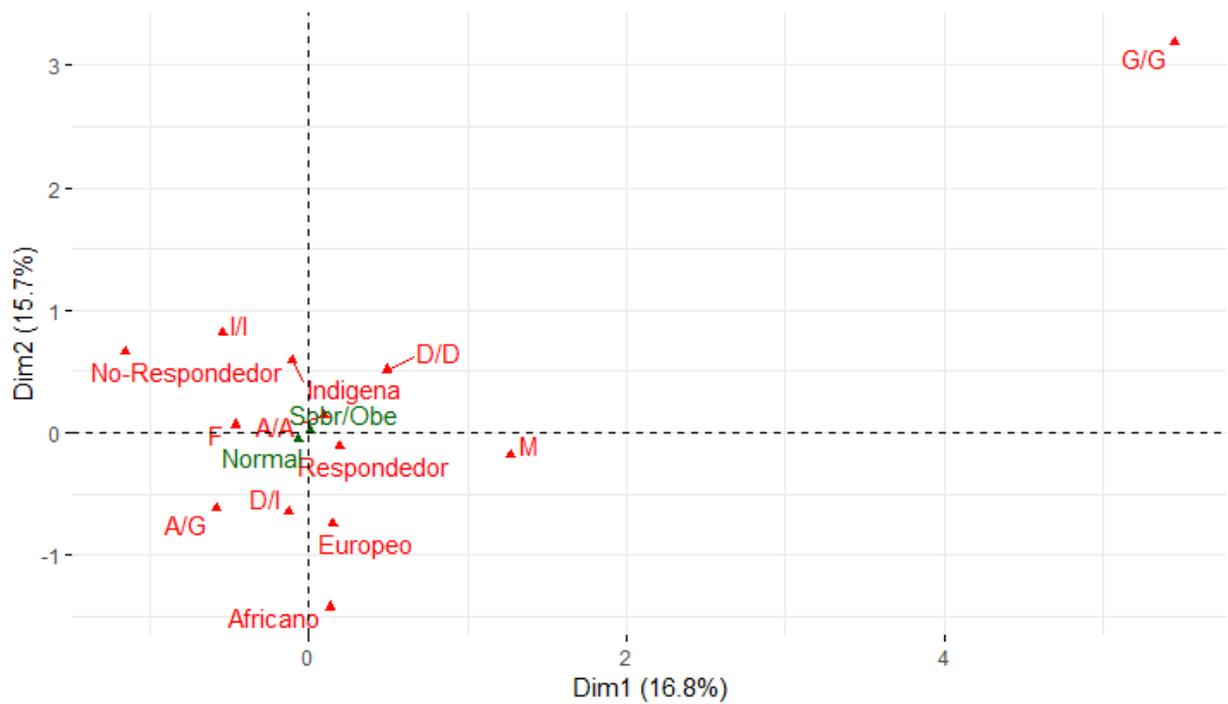


Figura 23. Análisis de correspondencia múltiple entre respondedores, no-respondedores, sexo, variables antropométricas, variables genéticas y ADNmt

Se decidió entonces comparar la homogeneidad de ambos grupos en relación al comportamiento de las variables sexo, genotipos para ambos genes y la ancestralidad mitocondrial; la comparación se hizo a través de un análisis de similitud entre grupos ANOSIM (Figura 24).

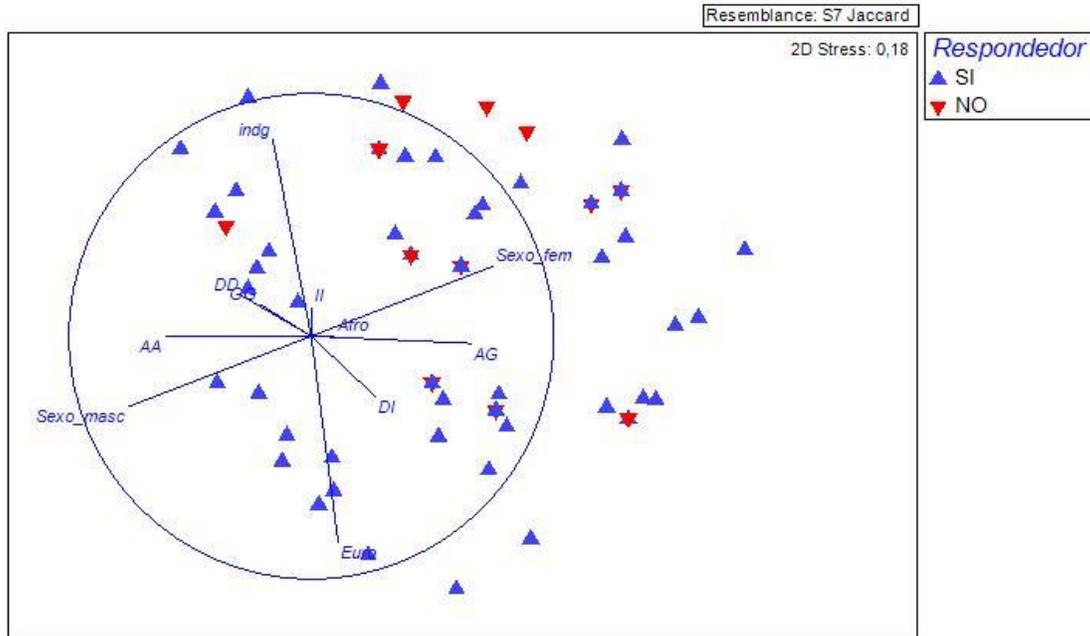


Figura 24. ANOSIM entre respondedores y no-respondedores en relación a sexo, genotipos y ADNmt

Aunque se observa una gran dispersión de los individuos en el gráfico, se puede apreciar que los no-respondedores conforman un grupo menos heterogéneo que el grupo de respondedores en relación a las características consideradas. La Figura 24 corrobora que en el grupo de no-respondedores los individuos están asociados al sexo femenino, mayor proporción de homocigotos *II* del *Alu-ACE* y presencia del aporte indígena por vía materna.

Según sugieren los ACM mostrados en las Figuras 23 y 24, el sexo tiene un peso importante en la diferenciación de ambos grupos. En la Figura 25 se observa un ACM entre las variables genotipos y sexo, en este caso se excluyó la variable ADNmt. Las dos dimensiones explican 52,7% de las asociaciones observadas. Se aprecia que los respondedores tienden a ser: masculinos y al menos un alelo D del gen *ACE*; mientras que los no-respondedores son homocigotos *II* del *ACE* y en mayor proporción sexo femenino y portadores del alelo G para el *CYP3A4\*1B*.



Figura 25. Análisis de correspondencia múltiple entre respondedores, no-respondedores, sexo y variables genéticas

Se procedió a comparar la homogeneidad de ambos grupos para estas variables a través de un análisis ANOSIM (Figura 26).

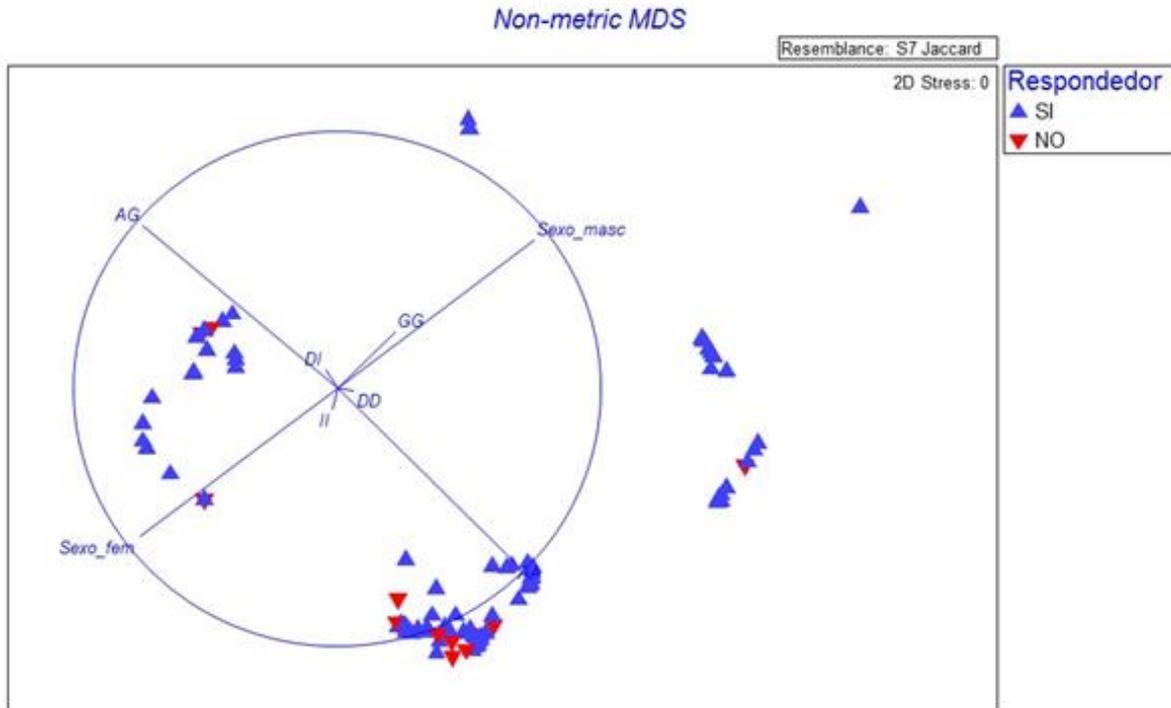


Figura 26. ANOSIM entre respondedores y no-respondedores para sexo y genotipos

Se corrobora mayor homogeneidad del grupo de no-respondedores en relación al sexo femenino, ser homocigotos A/A para el *CYP3A4\*1B* y ser homocigotos I/I del gen *Alu-ACE*. La diferencia de dispersión entre ambos grupos es estadísticamente significativa ( $p=0,0035$ ). Los respondedores son un grupo más heterogéneo.

## Discusión

### 5.1.- Variables biológicas e hipertensión arterial.

A partir de diferentes estudios se ha establecido una relación positiva entre la hipertensión y los factores genéticos, ambientales y estilo de vida, identificándose como factores de riesgo para esta enfermedad: edad, sexo, variaciones genéticas, obesidad (Lifton, 1996; Levi et al., 2004; Tanira et al., 2005; Ramírez-Bello et al, 2011; Zubeldia et al, 2016). En ese sentido fue recolectada información con relación a algunos factores de riesgo para la hipertensión, con el fin de describir las características de los grupos de pacientes con HTA y población general, y de hipertensos respondedores y no-respondedores al tratamiento con Enalapril.

Respecto a las características sexo y edad, al comparar estas variables entre pacientes con HTA y población general, no se observaron diferencias significativas en cuanto a la distribución de sexo entre ambos grupos ( $p=0,64$ ) (Tabla 3); en ambos se observa una mayor proporción de mujeres, aproximadamente 70%; esto no es concordante con la información disponible.

Según datos de las estadísticas de la Organización Mundial de la Salud, para el 2015 la prevalencia de hipertensión arterial en mayores de 18 años, en todo el continente americano, era mayor en hombres 20,8% que en mujeres 15,6% (<http://files.sld.cu/bmn/files/2017/04/factografico-de-salud-abril-20171.pdf>). En Perú para el año 2004, se reportó una prevalencia de HTA en hombres de 27,1% y en mujeres de 20,4% (Pacheco-Romero, 2010); en Argentina la predisposición de HTA en hombres es de 41,7% y en mujeres es de 25,7% (Zilberman y del Sueldo, 2016). En México se observó un predominio de hipertensión en mujeres posmenopáusicas (Huertas Robles, 2001), lo cual podría relacionarse no solo con sexo sino con edad. Otro estudio en mexicanos americanos de Texas, encontró que hay una relación entre la edad y el aumento en la frecuencia de la hipertensión, y que es diferente en hombres y mujeres, presentándose en las mujeres un aumento dramático en la frecuencia de hipertensión después de los 45 años, lo cual puede reflejar una interacción hormonal (Hanis, 1996).

Existen factores de riesgo exclusivos del sexo femenino, que tienen impacto sobre la salud cardiovascular, como lo son el parto prematuro, los trastornos de la enfermedad hipertensiva durante el embarazo, la diabetes gestacional y la menopausia (García, 2018). La incidencia de

enfermedades cardiovasculares en mujeres premenopáusicas es menor en comparación con hombres de edad similar. Se ha reportado que el aumento de las enfermedades cardiovasculares asociado a la menopausia es debido a que las hormonas ováricas subyacen un efecto protector en el sistema cardiovascular para las mujeres (Vaccarino, et al., 2010). Tal como lo reportado en México por Huertas Robles en 2001, las mujeres posmenopáusicas (>55 años aproximadamente) presentan un aumento en la prevalencia de hipertensión en comparación con los hombres de esa edad y ese comportamiento se observa en toda la región según la OMS (2015).

En Uruguay se reporta para el año 2013 mayor prevalencia de hipertensión arterial en hombres (40,4%) que en mujeres (33,1%), en adultos mayores de 18 años (Ministerio de Salud Uruguay, 2017), comportándose de manera similar a lo publicado en la región, aunque con cifras más altas a lo reportado en la OMS. En nuestra muestra de hipertensos de Tacuarembó, es mayor la prevalencia en las mujeres (73,5%) que en los hombres (26,5%); sin embargo, hay que tomar en cuenta las condiciones de la toma de la muestra, ya que por razones laborales es más difícil para los hombres asistir a las consultas médicas, de manera que puede no estar representando la prevalencia real de esta enfermedad en el Departamento. No es posible, sin embargo, separar el sexo de la edad.

En relación a la capacidad de respuesta al Enalapril, la comparación entre hipertensos respondedores y no-respondedores, no arrojó diferencias significativas en la distribución de acuerdo al sexo ( $p=0,10$ ); sin embargo, llama la atención que, dentro del sexo masculino de 27 individuos, 26 (96,3%) respondieron al tratamiento, mientras que en las mujeres la proporción fue menor, 61 de 75 (81,33%) fueron respondedoras. En vista de esta observación se calculó una prueba exacta de Fisher y se encontró una diferencia significativa ( $p=0,04$ ), sugiriendo que hay diferencias en cuanto al sexo y la capacidad de respuesta.

Es de interés mencionar las diferencias en relación al sexo y los conocimientos farmacogenéticos, ya que anteriormente no se tomaban en cuenta posibles diferencias en las respuestas a los medicamentos y en general se omitían mujeres en los ensayos clínicos o de estudios relevantes sobre la salud y enfermedad, asumiendo que los resultados obtenidos al estudiar los hombres podían ser extrapolados a las mujeres (Borrell y Artacoz, 2008). La FDA (Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos) realizó un análisis de 163 fármacos utilizados en patología cardiovascular y detectó que 11 de ellos mostraban una diferencia mayor

al 40% en las propiedades farmacocinéticas entre hombres y mujeres. Las mujeres mostraron un riesgo de 1,5 a 1,7 más alto de presentar reacciones adversas a las drogas, en relación con los hombres (Zilberman y del Sueldo, 2016). En nuestro estudio se observó una gran proporción de mujeres no respondedoras al tratamiento con Enalapril.

La edad avanzada es considerada un factor de riesgo para el aumento de la PA, particularmente de la presión sistólica y con aumento de la incidencia de hipertensión (Ministerio de Salud Uruguay, 2017). Estudios en la población española han demostrado una tendencia positiva con relación a la asociación entre el aumento de edad y la presión arterial, siendo en el adulto mayor la hipertensión, la enfermedad crónica más frecuente de este grupo etario. La probabilidad de tener HTA de las personas de 45 a 64 años es cuatro veces mayor y para los sujetos de más de 64 años es quince veces mayor (Zubeldía et al., 2016). En Estados Unidos el 67% de los mayores de 60 años tiene hipertensión arterial y en Perú la prevalencia es de 46,3% entre los 60 y 69 años y un 53,2% entre los 70 y 79 años (Pacheco-Romero, 2010). En nuestro estudio la edad media de los pacientes con HTA fue de 53 años, lo cual corrobora los reportes de que la hipertensión es una enfermedad que por lo general se manifiesta después de los 45 años aproximadamente (Zubeldía et al., 2016).

Nuestra muestra de HTA se subdividió por rangos de edad, en base a la literatura (<44 años, entre 45 y 64 años,  $\geq 65$  años); también se dividió por sexo para evitar posibles sesgos. En todos los rangos se encontró diferencias significativas entre la muestra de HTA y población general, y es porque presentan una distribución etaria distinta, el 72,5% de individuos hipertensos se ubica en la categoría 45-64 años. Es mayor el número de mujeres hipertensas entre los 45-64 años (75,6%); lo mismo sucede en los hombres en este rango de edad, el 70% es hipertensos. La categoría >65 años se observa mayor cantidad de individuos masculinos hipertensos que de mujeres (Tabla 3). En el estudio de Zubeldía et al. (2016), en Valencia, España, el 77,6% de los hipertensos se ubicaban en la categoría >65 años sin discriminar por sexo. Sandoya et al. (2012) publican que en la población de Montevideo entre los años 2008 y 2011, la prevalencia de HTA en individuos entre los 40 y 49 años era de 26,4%, entre 50 y 59 años era de 46,5% y entre 60 y 69 años un 63,3%. Es importante tomar en consideración que estamos analizando la edad al momento de hacer la entrevista y no cuando diagnostican por primera vez a los pacientes, ni cuando iniciaron la terapia con Enalapril, sin embargo, la faja etaria del grupo de hipertensos de

Tacuarembó es menor a lo reportado en España, lo que sugiere un desarrollo de esta enfermedad a edades más tempranas.

En el caso de los hipertensos respondedores y no-respondedores, no se observaron diferencias significativas entre los grupos etarios; hay una tendencia de mayor proporción de mujeres respondedoras (77%) y no-respondedoras (69%) entre los 45-64 años y el único hombre no-respondedor está en la categoría >65 años (Tabla 4). Se conoce por estudios previos que la edad es un factor que contribuye a la variabilidad en la respuesta a medicamentos. Un estudio de 145 pacientes colombianos que tomaban Warfarina, encontraron una correlación inversa entre la edad y la respuesta a la Warfarina, y se explica porque los fármacos que deben ser biotransformados en el hígado se depuran con mayor dificultad a medida que avanza la edad, debido a la declinación de la actividad enzimática (Isaza et al., 2010). Con el envejecimiento se ve afectada la farmacocinética de los medicamentos. El metabolismo y la excreción disminuye, puede desarrollarse toxicidad. El metabolismo hepático general de muchos fármacos a través del sistema enzimático del citocromo P-450 disminuye con la edad; los fármacos que se metabolizan por vía hepática muestran una disminución característica de la depuración entre 30% y 40%. Ejemplos importantes de fármacos con un alto riesgo de efectos tóxicos incluyen nitratos, propranolol, fenobarbital y nifedipina (Ruscín y Linnebur, 2014).

La obesidad y el sobrepeso son problemas crecientes en muchos países; específicamente la adiposidad abdominal se ha considerado uno de los mejores predictores de enfermedades cardiovasculares. Por tanto, los parámetros antropométricos, como índice de masa corporal (IMC) y cintura/talla (IC/T), se han utilizado ampliamente en estudios epidemiológicos relacionados con estas enfermedades (Martínez Álvarez et al., 2016). Dichos parámetros proporcionan información importante sobre el grado de obesidad del individuo, lo cual proporciona riesgo para hipertensión arterial. El sobrepeso y la diabetes mellitus duplican la probabilidad de HTA y la obesidad la quintuplicaba. Zubeldia et al. (2016) encontraron asociación positiva ( $p < 0,05$ ) entre sobrepeso, obesidad, obesidad abdominal con HTA y reportaron en un grupo de pacientes adultos hipertensos de Valencia, España que el 65% era obeso. En Estados Unidos entre el 65% y 78% de los casos de HTA son directamente atribuidos al sobrepeso o la obesidad (Pagano et al., 2009). En un estudio en Bucaramanga, Colombia los autores encontraron en pacientes adultos hipertensos un mayor efecto de IMC sobre la presión arterial sistólica (por cada aumento de un  $\text{kg}/\text{m}^2$  en el IMC hubo

un aumento de 0,76 mmHg en la PAS), y este aumento es mayor en los hombres que en las mujeres, tal como se ha observado en otros estudios de la región (Bautista et al., 2002). En nuestra muestra el 85% de los pacientes están en sobrepeso y obesidad, y el 57% tiene un IMC>30 (Tabla 4), valores mayores a los reportados anteriormente. Si bien no hay información disponible acerca de la obesidad o sobrepeso en la población del departamento de Tacuarembó, nuestros datos no difieren a los publicado por Pisabarro et al. (2009), para la población de todo Uruguay referente a la obesidad e HTA. Según los Indicadores Básicos 2017 de la Organización Mundial para la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS), en Uruguay los índices de sobrepeso y obesidad en adultos con datos tomados en el 2014, era para hombres 62,9% y para mujeres 60,6% ([http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/34330/IndBrasicos2017\\_spa.pdf](http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/34330/IndBrasicos2017_spa.pdf)). Cifras que superan el promedio regional, ya que la tasa de sobrepeso en adultos para América Latina es de 58%.

En Uruguay según los datos de la Segunda Encuesta Nacional de Sobrepeso y Obesidad (ENSO 2) del año 2009, se indica que el 54% de la población adulta uruguaya presenta un IMC >25 y un 20% >30, lo cual revela una epidemia de obesidad en Uruguay, uno de cada dos uruguayos padece sobrepeso u obesidad y uno de cada cinco uruguayos es obeso, lo cual representa un riesgo importante a padecer HTA y condiciones relacionadas (Pisabarro et al., 2009). Nuestro estudio representa un primer aporte al conocimiento de la obesidad en hipertensos en el departamento de Tacuarembó. En ese estudio, al igual que lo observado en esta muestra, no observaron diferencias significativas en relación a la proporción de sobrepeso y obesidad por sexo.

El estudio previamente mencionado, reporta que un diámetro de cintura mayor o igual a 80cm en mujeres y mayor o igual a 94cm en hombres es considerada de riesgo y aumenta 4.8 el riesgo para HTA en ambos sexos (Pisabarro et al., 2009). Un incremento en la circunferencia de la cintura de 4,5cm para hombres y 2,5cm para mujeres corresponde a un incremento de la PA en 1 (Pagano et al., 2009).

Con respecto al IC/T el 95% de la muestra de hipertensos en este trabajo, están en la categoría de alto riesgo (>0,5), no presentando diferencia entre sexos (Tabla 4). Los datos presentados en nuestro estudio son los primeros reportados para la población adulta hipertensa de Tacuarembó y de Uruguay. Tampoco hay información disponible con respecto a este índice en población adulta de Uruguay. Son pocos los estudios en la región en el que toman en cuenta la

variable IC/T; un estudio de los empleados públicos hospitalarios de Posadas, Argentina (n=259), reportó una media de IC/T de 0,52, lo cual los ubica en alto riesgo, siendo mayor este índice en hombres que en mujeres (Sánchez et al., 2014). Otro estudio, en 170 trabajadores del estado de Chihuahua, México, mostró que el 74% de los sujetos examinados presentaron valores de IC/T >0,5, y que esto ocurrió en una mayor proporción en los hombres (Muñoz et al., 2016). En Chile se estudió esta variable en 998 individuos de la población general y encontraron que más del 50% de la muestra presentaron valores medios de IC/T de 0,52 y con mayor proporción en las mujeres (Valenzuela y Bustos, 2012). Nuestros resultados en los pacientes hipertensos muestran una media de 0,65, sin diferencia entre sexo y mayor a lo reportado en la región, sin embargo, es importante considerar que no se está comparando con otros pacientes hipertensos.

Ya se conoce por estudios previos que el exceso de peso corporal influye en la farmacocinética y farmacodinámica de algunos medicamentos de uso frecuente, pudiendo llegar a afectar la eficacia y/o seguridad (Barras y Legg, 2017). En el ENSO 2 se destaca la alta prevalencia de HTA conocida en la franja de obesidad, alcanzando el 50%, lo cual jerarquiza el tratamiento de la obesidad en el manejo de la HTA (Pisabarro et al., 2009). En este trabajo, el grupo de hipertensos respondedores y no-respondedores no mostraron diferencias significativas entre IMC y el IC/T, sin embargo, la tendencia de ambos grupos es presentar mayor cantidad de individuos con IMC  $\geq 30$  (56% en respondedores y 60% en no-respondedores), y con un IC/T >0,5 de alto riesgo (97% en respondedores y 86% en no-respondedores).

En resumen, en relación a las variables consideradas en nuestro estudio, los pacientes hipertensos se caracterizan por presentar mayor proporción de mujeres que de hombres, la mayoría se ubica en un rango etario de 45-64 años, con predominio de individuos con sobrepeso/obesidad y casi todos con un índice de cintura/talla de alto riesgo. La capacidad de respuesta de los pacientes al Enalapril, muestra que el 96,3% de los hombres que participaron en el estudio son respondedores, mientras que las mujeres respondedoras la mayor cantidad se ubica en la categoría de edad de 45-64 años, el 86,1% tienen sobrepeso/obesidad y el 97% con un índice de cintura/talla de alto riesgo. El grupo de no-respondedores está conformado en su mayoría por mujeres, las cuales se ubican en la categoría de 45-64 años, el 80% con sobrepeso/obesidad y casi todos con un índice de cintura/talla de alto riesgo. Lo cual sugiere la importancia de considerar el sexo en este tipo de estudios.

## 5.2.- Análisis genético

La naturaleza poligénica de la hipertensión indica que los *loci* únicos no pueden considerarse un objetivo clínico relevante para todos los individuos. Estos hallazgos resaltan la importancia de evaluar las interacciones entre múltiples loci al estudiar rasgos complejos, incluyendo fenotipos de respuesta a los medicamentos (Luizon et al., 2018). Los estudios de genotipificación y/o fenotipificación poblacional, al igual que los estudios de biotransformación de los fármacos, son hoy en día de extrema importancia y necesidad, ya que existen numerosos tratamientos con medicamentos de uso frecuente, conocidos y empleados a nivel mundial que, al ser usados en individuos deficientes en el metabolismo de ese medicamento en particular, puede generar efectos adversos a los esperados (Lupoli et al., 2015). Existen estudios previos en el campo de la Farmacogenómica en Uruguay, Esperón et al. (2008) estudiaron los polimorfismos en los genes *CYP2C9* y *VKORC1* involucrados en el uso de Warfarina. El uso de marcadores genéticos relacionados con el tratamiento de Metotrexato (Giletti et al., 2017; Giletti y Esperón, 2018), el rol de los genes *CYP2C9*, *CYP2C19* y *EPHX* en la farmacocinética de la Fenitoina (Guevara et al., 2017), la variabilidad interétnica en los genes *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* (Naranjo et al., 2018).

Gran parte de la heredabilidad genética de los fenotipos de respuesta al fármaco parece estar oculta en rasgos complejos multigénicos y multifactoriales (Luizon et al., 2018). Son muchas las enzimas que intervienen en la metabolización de un fármaco, como las transferasas, hidrolasas, proteasas. Sigue siendo incierto cuántos genes y variantes genéticas contribuyen a los rasgos farmacológicos, cómo las variantes de genes comunes y raras afectan la respuesta de los medicamentos y qué papel juegan las interacciones gen-gen y gen-ambiente (Padmanabhan y Joe, 2017)

En nuestro estudio analizamos dos de los polimorfismos más estudiados en la terapia antihipertensiva con Enalapril, la I/D *Alu* del gen *ACE* y el *CYP3A4\*1B*. Este es el primer abordaje farmacogenético poblacional que se hace para el gen *ACE* y el primero en reportar datos sobre el *CYP3A4\*1B* en Uruguay.

### **5.3.- I/D Alu del gen ACE y el CYP3A4\*1B**

La I/D Alu del gen ACE, fue estudiada anteriormente en Uruguay bajo dos enfoques, uno en el aspecto epidemiológico (Zorrilla et al., 2006) y otros para estimación de ancestralidad y caracterización poblacional (Hidalgo et al., 2014; Vega et al., 2019). Esta es la primera vez que se estudia en una muestra de pacientes hipertensos del departamento de Tacuarembó.

En este estudio se observaron diferencias entre los grupos de pacientes con HTA y la población general con respecto a este polimorfismo que tiene una implicancia en el desarrollo de hipertensión y enfermedades cardiovasculares, así como en el aspecto farmacogenético (Poch et al., 2002); además es de suma utilidad desde el punto de vista poblacional, ya que se usa como AIMs para ancestralidad indígena (Hidalgo et al., 2014). En nuestras muestras de estudio el alelo I se presentó con una frecuencia de 43%, en los pacientes con HTA, mayor en relación a la población general (33%), diferencias que resultan significativas en la frecuencia alélica entre ambos grupos ( $p=0,02$ ). Esto concuerda con los reportes que asocian al alelo I con una mayor probabilidad de desarrollar una enfermedad cardiovascular como la hipertensión (Zorrilla et al., 2006). Zorrilla et al. (2006), estudiaron este polimorfismo en la población general de Montevideo y reportaron una frecuencia del alelo Inserción (I) de 44%, similar al grupo de pacientes con HTA aquí estudiado y otros mestizos latinoamericanos (Tabla 8). Hidalgo et al. (2014) usaron este inserto Alu en conjunto con otros para estimar ancestralidad en 3 poblaciones de Uruguay: Montevideo, descendientes de vascos de Montevideo y descendientes de vasco de Trinidad, reportando una frecuencia del alelo I de 34%, 28% y 38% respectivamente. Vega et al., (2019) usaron el mismo set de Alu para estimar la ancestralidad en genes autosómicos en una muestra de 120 individuos de la población general de Tacuarembó, y reportaron una frecuencia del alelo I de 32%. Con relación a nuestras muestras de estudio, la población general presenta la misma frecuencia del alelo I (32,5%) que la reportada por Vega et al. (2019) y similar a las de descendientes de europeos reportadas por Hidalgo et al. (2014). Ambas muestras son de la población general de Tacuarembó y comparten parte de los individuos; ambas mostraron una desviación significativa del equilibrio de Hardy-Wainberg que podría estar causada por apareamiento no aleatorio, migraciones recientes o subestructuras (subpoblaciones) generadas debido a la mezcla reciente (Schaid et al., 2006).

Son pocos los trabajos en la literatura donde se reporta este polimorfismo en pacientes hipertensos. Un estudio en España con 1204 hipertensos y 647 controles, reportó una frecuencia del alelo I de 40% en los hombres hipertensos y 35% en las mujeres hipertensas, y en los controles una frecuencia de 38% en los hombres y 36% en las mujeres, diferencias que no fueron significativas entre estos dos grupos (Poch et al., 2002). En la población de Santa Isabel de Rio Negro, estado Amazonas en el nor-oeste de Brasil, se reportó una frecuencia del alelo I de 73% en 82 hipertensos (Sampaio Freitas et al., 2007). El grupo de hipertensos de Tacuarembó presenta frecuencia del alelo I un poco más elevada a la reportada en la población de hipertensos españoles, pero menor a la de Amazonia. Por otra parte, las distancias Fst revelaron que los HTA también presentaron diferencias significativas con poblaciones africanas y europeas donde el alelo I alcanza las menores frecuencias. Hay que recordar que en este caso estamos comparando un grupo de hipertensos con poblaciones generales. Los datos de las frecuencias sugieren que nuestro grupo de hipertensos se comportan como poblaciones mestizas latinoamericanas que presentan mayor aporte indígena, lo cual puede implicar una asociación entre este componente y la susceptibilidad a padecer hipertensión.

La población general de Tacuarembó se agrupa con europeos y africanos. Las dos muestras de Tacuarembó se diferencian entre sí y de las poblaciones indígenas americanas las cuales presentan las mayores frecuencias del alelo I a nivel mundial que llega a estar fijo en los Aché, grupo indígena de Paraguay. Las distancias genéticas formadas a partir de las frecuencias alélicas de la I/D del gen *ACE* no discrimina las poblaciones que tomamos como referencia salvo las indígenas y las mestizas que tienen mayor aporte indígena (Figura 12). En estudios poblacionales se muestran diferencias continentales en la distribución de frecuencias de este polimorfismo (Tabla 8). Vale destacar que en todas las poblaciones a nivel mundial está presente el alelo de la inserción *ALU-ACE* (I) pero con diferencias importantes ya que las mayores frecuencias se encuentran en poblaciones indígenas, pudiéndose usar como AIMs.

La comparación entre grupos al realizarse un AMOVA indica un nivel de varianza intrapoblacional de 84%, se discriminan los grupos de forma razonable y las poblaciones dentro de los grupos son bastante homogéneas. Gómez-Pérez et al. (2007) realizaron un AMOVA con este marcador en 47 poblaciones de África, Europa, Medio Oriente, Asia y Nativos Americanos, encontraron una varianza intrapoblacional de 88,6% e intergrupala de 8,75%.

Con relación al polimorfismo *Alu-ACE*, no se encuentra en la literatura diferencias entre sexos, sin embargo, en nuestro estudio se observa una tendencia en las mujeres de portar mayor frecuencia del alelo de la inserción (I) en comparación con los hombres (Tabla 6).

Con respecto al *CYP3A4\*1B*, es la primera vez que se determina la frecuencia de este polimorfismo en una población de Uruguay; son muy pocos los estudios en Latinoamérica y no existe información en poblaciones indígenas americanas. Datos del proyecto *1000 Genomes* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/?gts=rs2740574>) reportan que, el alelo A está fijado en poblaciones asiáticas y las mayores frecuencias del alelo G (76% a 83%) se encuentran en las africanas. En poblaciones europeas la frecuencia del alelo G es muy baja, aproximadamente 3%, y en las poblaciones latinoamericanas alcanza sus mayores valores en aquellas que tienen un aporte africano alto como Puerto Rico (18%) y Colombia (10%); donde el aporte africano es muy bajo como México y Perú la frecuencia del alelo G varía entre 3% y 7% (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/?gts=rs2740574>) (Tabla 9). En nuestro grupo de HTA la frecuencia del G fue 12% similar a lo reportado para Colombia, lo cual puede estar reflejando que la presencia de este alelo se debe a la influencia de poblaciones africanas; sin embargo, hay que tomar en cuenta que se trata de un grupo de pacientes y se está comparando con datos de población general; de la literatura solo pudimos rescatar un estudio en España en mujeres embarazadas hipertensas que reportan una frecuencia de 2% para este alelo, mucho más bajo que lo que encontramos en los hipertensos de Tacuarembó.

Al comparar nuestra muestra de HTA con poblaciones a nivel mundial, ésta presenta diferencias significativas con poblaciones africanas, asiáticas y europeas, comportándose como mestizas americanas (Figura 14). La variación intrapoblacional es muy baja (33,38%), debido a que este polimorfismo es monomórfico en el continente asiático y presenta muy bajas frecuencias en poblaciones europeas y en mestizas latinoamericanas que tienen un alto componente indígena. Una dificultad para la comparación poblacional en este caso es la falta de datos en poblaciones indígenas americanas. Este polimorfismo se puede considerar un AIMs para discriminar poblaciones africanas de no-africanas, ya que las mayores frecuencias están en ese continente.

La forma en cómo se combinan los alelos en la población, los genotipos, es lo que incide de manera directa en la susceptibilidad a la hipertensión y la respuesta a medicamentos antihipertensivos.

Eadon y Chapman (2016) han demostrado que el alelo de la inserción (I) del ACE está relacionado con niveles séricos bajos de ACE, por lo cual se plantea que los tratamientos con IECA son particularmente eficaces en pacientes hipertensos con el genotipo D/D, ya que este genotipo se asocia con una mayor actividad del gen y con aumento de los niveles de la enzima ACE en sangre, lo que conduce a un mayor potencial de inhibición. Niveles intermedios de la enzima se observan en los individuos heterocigotos D/I. Se ha determinado que el efecto genético representa el 47% de la varianza total de ACE; la presencia de cada alelo tiene un efecto aditivo sobre los niveles séricos de ACE, y dos alelos tienen el doble del efecto de uno, son codominantes. En este estudio se muestra que es mayor la frecuencia de individuos heterocigotos D/I con HTA que en la población general (49% vs 28%), por lo tanto, se puede inferir que es mayor el número de individuos hipertensos que tienen una actividad media de la enzima ACE y pueden ser categorizados como metabolizadores intermedios para el tratamiento con Enalapril. El mayor porcentaje de individuos homocigotos D/D y que teóricamente tienen mayores niveles de ACE y mayor capacidad de respuesta, se observó en la población general (53% vs 32% en pacientes con HTA); a estos individuos se les puede categorizar como metabolizadores extensivos para el Enalapril. En ambos grupos la frecuencia de individuos homocigotos I/I fue de 18%, los cuales serían metabolizadores pobres. No obstante, entre el grupo de hipertensos respondedores y no-respondedores, no se observaron diferencias en sus frecuencias alélicas ni genotípicas. Aproximadamente la mitad de los individuos en ambos grupos (46% y 49%) son metabolizadores intermedios, y entre el 18% y el 20% son metabolizadores pobres, siendo mayor este valor en los no-respondedores (Tabla 16). Desde el punto de vista de salud pública, estos valores son de gran importancia ya que teóricamente se espera que entre el 18% y el 20% de los pacientes no respondan al Enalapril a causa de este gen, como se observa en el grupo de pacientes hipertensos no-respondedores.

Tabla 16. Frecuencia fenotípica del I/D *Alu Ace* y el *CYP3A4\*1B* entre todas las muestras de estudio.

Población	Fenotipos N (%)		
	Metabolizador Extensivo	Metabolizador Intermedio	Metabolizador Pobre
<i>I/D Alu ACE</i>			
Población General N=109	58 (53,2)	31 (28,4)	20 (18,3)
HTA N=102	33 (32,3)	50 (49)	19 (18,6)
Respondedores N=87	28 (32,1)	43 (49,4)	16 (18,3)
No-respondedores N=15	5 (33,3)	7 (46,6)	3 (20)
<i>CYP3A4*1B</i>			
HTA N=102	78 (76,4)	23 (22,5)	1 (0,9)
Respondedores N=87	66 (75)	20 (23)	1 (1)
No-respondedores N=15	12 (80)	3 (20)	0

Dentro del grupo de los IECA, y específicamente el Enalapril, el polimorfismo *CYP3A4\*1B* (A>G) es el que más se ha estudiado con relación a la respuesta de este medicamento, y es por esta razón que fue seleccionado para este estudio. Los individuos portadores del alelo G de este polimorfismo tienen una enzima menos activa; fenotípicamente podemos clasificar a los individuos como metabolizadores pobres si portan el genotipo G/G, metabolizadores intermedios A/G y los metabolizadores extensivos los individuos homocigotos A/A. El 22,5% de los hipertensos fueron heterocigotos A/G y solo un individuo de la muestra total resultó homocigoto para el alelo G. El fenotipo de metabolizadores extensivos para el grupo de hipertensos de Tacuarembó fue un 76,4%, para los metabolizadores intermedios de un 22,5% de y de 0,9% para los metabolizadores pobres, esta clasificación es teórica, en base a los genotipos de los individuos.

Cuando fueron clasificados en función de la respuesta al Enalapril, el grupo de respondedores y los no-respondedores no mostraron mayores diferencias en la frecuencia de sus alelos ni en la distribución de genotipos; el único individuo G/G es respondedor para el tratamiento con Enalapril (Tabla 16) contrario a lo esperado teóricamente.

Son pocos los estudios acerca de las diferencias en la farmacodinámica y farmacogenética entre sexos y más escasos aún los estudios aplicados a tratamientos antihipertensivos (Zilberman y del Sueldo, 2016). Se ha demostrado que las mujeres parecen más propensas a desarrollar efectos secundarios y podrían metabolizar los medicamentos antihipertensivos de manera diferente (Thoenes et al., 2010). Muchas de las drogas cardiovasculares metabolizadas por las enzimas del Citocromo P450 (CYP), demuestran diferencias entre los sexos; se han encontrado diferencias con el CYP3A4, teniendo mayor actividad en las mujeres, lo que es relevante ya que tiene una actividad en la mujer de 20% a 40% más rápido que en el hombre (Zilberman y del Sueldo, 2016). En nuestra muestra de pacientes con HTA, se encontró una asociación entre el genotipo A/A y el sexo femenino (Figura 26).

La determinación de secuencias de la región promotora del *CYP3A4* permitió buscar otras variantes en la región; permitiéndonos identificar la presencia del polimorfismo *CYP3A4\*1F* (-747G>C) rs11773597, del cual se dispone escasa información. Esta variante no está cerca de ningún elemento transcripcional conocido y por lo tanto podría tener poco o ningún efecto sobre la expresión génica (Hamzey et al., 2002). En la literatura no se encuentra información acerca de este polimorfismo e hipertensión ni medicamentos antihipertensivos.

En nuestra muestra de pacientes con HTA la frecuencia del alelo C fue de 4,9%, similar a lo reportando en otras poblaciones latinoamericanas como Colombia, México y Puerto Rico. Este polimorfismo está ausente en poblaciones asiáticas y casi ausente en poblaciones africanas (0 y 2%); en poblaciones europeas alcanza valores en torno al 6% de acuerdo con datos del proyecto 1000 Genomes (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/?gts=rs11773597>) (Tabla 11). Lo cual sugiere que su presencia en la muestra de HTA tenga relación con el componente europeo.

Un estudio en Coruña, España acerca de la asociación de los polimorfismos del *CYP3A4* y la reducción de la frecuencia cardíaca con el uso de Ivabradina, reportó que la variante rs11773597 conduce a una nueva isla CpG que puede ser metilada. Esta posición de metilación podría ser

significativa para la función de la Ivabradina, que es un fármaco que reduce la frecuencia cardíaca, actuando mediante la inhibición selectiva y específica de la corriente If (Corriente funny) que controla la despolarización diastólica espontánea en el nodo sinusal y regula la frecuencia cardíaca. (Núñez et al., 2016).

Estudios han buscado la asociación del polimorfismo rs11773597 con el riesgo de cáncer colorrectal (Bethke et al., 2007) y con la respuesta al tratamiento de fármacos anticancerígenos (Dai et al., 2008), no encontrando asociación en ninguno de los casos.

En nuestra muestra de HTA los individuos portadores del alelo C del *CYP3A4\*1F* son respondedores al tratamiento con Enalapril lo cual sugiere que no interfiere negativamente en el metabolismo del mismo. Además, al relacionar los dos polimorfismos estudiados (*CYP3A4\*1B* y *CYP3A4\*1F*), estos individuos son homocigotos A/A para el *CYP3A4\*1B*, lo cual sugiere que segrega con el alelo A del *CYP3A4\*1B*, y es probable un haplotipo en los respondedores *CYP3A4\*1B-alelo A / CYP3A4\*1F-alelo C*. No hay información para población general que permita relacionar con frecuencia poblacional.

Recordemos que son muchos los genes quienes intervienen en la metabolización de un medicamento y este resultado refuerza que la información que resulte del estudio de un solo gen no es definitiva para categorizar a un individuo en relación a su capacidad de respuesta.

Al respecto son varios los genes implicados; entre los genes y polimorfismos más estudiados en la metabolización del Enalapril encontramos también: mutaciones en el gen *AGT*, el cual codifica la angiotensina, y ha sido evaluado como uno de los principales genes candidatos en estudios farmacogenéticos en respuesta a los IECA; el polimorfismo rs699 ubicado dentro de este gen está asociado con mejor respuesta en la PA con el tratamiento del Enalapril (Cooper-DeHoff y Johnson, 2016). El polimorfismo rs16960228 del gen *PRKCA* está asociado a la respuesta de la PA en pacientes hipertensos de San Pablo, Brasil, en tratamiento con el Enalapril. (Oliveira-Paula, et al., 2017). También, polimorfismos en los genes *BDKRB2* y *NOS3* han sido asociados con la respuesta al Enalapril (Silva et al., 2013). La interacción entre estos tres genes (*PRKCA*, *BDKRB2* y *NOS3*) han mostrado que afecta la respuesta a este medicamento (Oliveira-Paula, et al., 2017). En un estudio en la población Han-China se encontró que la homocigosis AA para el SNP rs5522 del gen *NR3C2* muestra una mayor reducción de la PA diastólica después del tratamiento con Enalapril (Fontana et al., 2015). El rs699947 (A>C) del gen *VEGFA*, el genotipo AA está

relacionado con un aumento en la respuesta al Enalapril en individuos de Brasil y el rs5522 (C>T) del gen *NR3C2* está relacionado con el mismo aumento, pero en la población asiática (Eadon y Chapman, 2016).

Por otra parte, con relación a la familia de enzimas del Citocromo P450, éstas se encargan del metabolismo de la fase I y II de los fármacos antihipertensivos, lo cual a menudo conduce a la activación o desactivación del efecto de éstos (Eadon y Chapman, 2016). Los fármacos pueden tener efecto inductor sobre el citocromo provocando el aumento en la actividad de algunas enzimas o bien pueden actuar como inhibidores disminuyendo la actividad de enzimas metabolizadoras (Rodríguez-Arcas et al., 2011). El 70% de las enzimas responsables de la metabolización de los fármacos antihipertensivos prescritos a nivel mundial son las pertenecientes a las familias 3A4, 2D6, 2C9 y 2C19 (Eadon y Chapman, 2016). Estas enzimas han sido analizadas en estudios de genes candidatos para explorar las interacciones genotipo-medicamento. Los genes que codifican estas enzimas (*CYP2D6*, *CYP2C9*, *CYP2C19* y *CYP3A4*) presentan distintas variantes alélicas que se encuentran en diferente proporción dependiendo de qué grupos étnicos se trate, un polimorfismo que condiciona la respuesta al tratamiento antihipertensivo será más relevante cuanto más frecuente sea el alelo minoritario en la población en la que se hace el estudio, por ejemplo en España el *CYP2D6\*1* y *\*2*, *CYP2C9\*2* y *CYP2C19\*2* son los más predominantes (Rodríguez-Arcas et al., 2011).

Dentro de la metabolización de los IECA, la inserción/delección del gen *CYP2D6* es altamente estudiada (Rodríguez-Arcas et al., 2011). Los individuos portadores del genotipo *CYP2C9\*1/\*30* muestra una reducción a la PA en pacientes japoneses, y por lo tanto, metabolizan bien el medicamento (Fontana et al., 2015). El rs2246709 del gen *CYP3A4* está asociado con una pobre metabolización y con aumento de la PA en afroamericanos, (Eadon y Chapman, 2016).

En relación a la actividad simultánea de los genes de estudio, la I/D *Alu* del gen *ACE* y el *CYP3A4\*1B* en conjunto con otras variables, será desarrollada más adelante en el punto 5.5.

#### 5.4.- Ancestralidad

Conocer la diversidad genética de las diferentes poblaciones humanas puede constituir un importante aporte para los estudios de salud. Muchos de los SNPs descritos están asociados a enfermedades o diferencias en el metabolismo de drogas, por esa razón, debido a los complejos y variados procesos de mestizaje, los grupos poblacionales con distintos orígenes ancestrales no deberían ser considerados como iguales, ya sea en términos de riesgos de enfermedades o respuestas a las drogas. El origen ancestral es una información importante que puede cambiar la probabilidad que un individuo responda de la manera esperada a la terapia que le fue asignada (Risch et al., 2002).

Diversos estudios han abordado la constitución genética de la población de Tacuarembó, con el uso de marcadores clásicos (Sans et al., 1997), de herencia uniparental (Bonilla et al., 2004; Bertoni et al., 2005) y marcadores autosómicos moleculares (Vega et al., 2019), los cuales han arrojado resultados interesantes para demostrar y comprender la constitución genética trihíbrida de la región, formada por la mezcla de los indígenas, europeos y africanos.

El análisis de ADNmt en la muestra de HTA arrojó 62,6% de haplogrupos indígenas, 29,3% de haplogrupos europeos y un 8% de africanos (Tabla 13). Al comparar con los datos reportados por Bonilla et al. (2004), en ambos grupos el porcentaje de haplogrupos indígenas es igual (62%), pero varía la frecuencia de haplogrupos africanos: en nuestra muestra disminuyó de 16,7% a 8% mientras que aumentaron los haplogrupos europeos de 21% a 30%. Las frecuencias de haplogrupos americanos en la muestra de pacientes hipertensos de Tacuarembó se asemejan en general a lo observado en el componente indígena a nivel nacional, donde también predominan los haplogrupos B2 y C1. Al comparar la distribución de mitocondrias entre respondedores y no-respondedores, se observa una ligera tendencia a un mayor componente indígena en no-respondedores en relación a los respondedores (Tabla 13).

Las estimaciones con marcadores de herencia biparental arrojan información diferente sobre la ancestralidad. Para el año 1997, Sans y colaboradores estimaron que la constitución genética de la población de Tacuarembó era 65% europea, 20% indígena y 15% africana. Vega et al. (2019), con el uso de marcadores autosómicos (inserciones Alu) estimaron 63% de aporte europeo, 7% indígena y 30% africano. En nuestro estudio con el uso de AIMs se estimó 78,6% de

aporte europeo, 13,6% de indígena y 7% de africano para la población general de Tacuarembó (Tabla 14). Es interesante cómo cambian las proporciones de los aportes dependiendo de los marcadores genéticos que se utilicen, si bien también debe tomarse en cuenta que entre el estudio con marcadores clásicos y los recientes con marcadores moleculares, transcurrió una generación. Para los tres estudios el componente europeo es el de mayor aporte a la población de Tacuarembó (entre 63% y 78,6%). Contrariamente con lo observado en este trabajo y por Sans et al. (1997), en el estudio de Vega et al. (2019) el porcentaje africano excede al indígena, lo cual podría relacionarse con el porcentaje de los individuos que se autodefinen como afrodescendientes (9,9% de acuerdo a datos del INE, 2011).

Entre los pacientes con HTA y la población general se encontraron diferencias en el componente europeo y en el indígena, siendo mayor la proporción de componente europeo en la población general (78% vs 73%) y en los HTA es mayor el indígena (22,6% vs 13,6%) (Figura 18).

Se han publicado diversos estudios acerca de la alta prevalencia en la población indígena americana de enfermedades como la diabetes, obesidad, dislipidemias e hipertensión para las cuales se ha determinado que están relacionadas con la ascendencia genética indígena y el cambio en el estilo de vida (Gracey y King, 2009; Lagos et al., 2010; Acuña-Alonso, et al., 2010; Foulds y Warburton, 2014). Desde 1996 la *National Heart, Lung and Blood Institute* (NHLBI) del Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos, se ha preocupado por la epidemiología de la hipertensión en hispanoamericanos y nativos americanos que viven allí. Ese año realizaron un primer estudio en mexicanos americanos, puertorriqueños y cubanos americanos, encontraron una variabilidad considerable en los niveles de presión arterial y en la prevalencia de hipertensión dentro de estos grupos y sugieren que se debe sustancialmente al componente ambiental (Havas et al., 1996). Foulds y Warburton (2014) estudiaron 833.030 adultos indígenas de Norteamérica, y encontraron una prevalencia de hipertensión de 23,4%, sin encontrar diferencias entre hombres y mujeres. Los autores mencionados compararon con la población general y otros grupos étnicos y encontraron diferencias significativas en la prevalencia de la hipertensión, siendo en los indígenas norteamericanos menor. En el 2017 un estudio que contaba con la participación de 4.060.585 adultos de EEUU, reportó una prevalencia de hipertensión en el grupo de hispanoamericanos de 27,7% y concluyen que todas las minorías raciales/étnicas excepto los hispanos tienen un alto riesgo

en el diagnóstico de la hipertensión (Rohm Young et al., 2017). Sofer et al. (2017), en poblaciones hispanoamericanas de EEUU, encontraron regiones asociadas con la ascendencia indígena para rasgos de la presión arterial, y concluyen que es una primera aproximación en este tema y falta estudiar muchas más poblaciones indígenas y mestizas latinoamericana para llegar a una conclusión definitiva. En nuestro estudio los pacientes con HTA mostraron mayor aporte indígena, lo cual puede sugerir una relación entre la ancestralidad indígena y la hipertensión en la población de Tacuarembó, sin embargo, hay que tomar en cuenta que es una enfermedad multifactorial y poligénica. No se observaron diferencias en relación a la ancestralidad entre respondedores y no-respondedores.

### **5.5.- Ancestralidad, polimorfismos estudiados y otras variables**

En nuestro estudio no se encontraron asociaciones significativas entre la ancestralidad y los polimorfismos I/D del gen *Alu ACE* y el *CYP3A4\*1B*. Sin embargo, al analizar en conjunto todas las variables consideradas para este estudio algunas tendencias pudieron ser identificadas.

De acuerdo a las estimaciones realizadas con marcadores biparentales AIMs, se observa que tanto en los pacientes como en la población general predomina el aporte europeo. Sin embargo, la población general, tiene mayor componente europeo que los pacientes con HTA, y se comporta de manera similar a las poblaciones de ese origen con respecto a la I/D del gen *Alu ACE*, con mayor frecuencia del alelo D (67,4%). Por otra parte, los pacientes con HTA aunque tienen predominio del aporte europeo, presentan mayor componente indígena y mayor frecuencia del alelo I (43,1%) en relación a la muestra de la población general de Tacuarembó (Figura 20); este alelo presenta las mayores frecuencias e incluso llega a estar fijado en algunas poblaciones indígenas americanas. Cuando se clasifican los pacientes entre hipertensos respondedores y no-respondedores encontramos una tendencia de mayor aporte indígena y mayor frecuencia del alelo I en los no-respondedores (43%), lo cual sugiere que este alelo se asocia al componente indígena (Figura 21).

Con respecto al polimorfismo *CYP3A4\*1B*, las mayores frecuencias del alelo G han sido descritas en poblaciones africanas (Tabla 9). Cuando se comparan los grupos en función de su

respuesta al Enalapril en los hipertensos no-respondedores se observa una tendencia de mayor aporte no africano y el alelo A (87,8%), mientras que un mayor aporte africano se puede relacionar con la presencia del alelo G (10%) (Figura 22). Hay que tomar en cuenta que el aporte africano en esta muestra es bajo (8%). La entrada de esta variante a la población de Tacuarembó debe estar ligada a la llegada de africanos o de esclavos africanos que vinieron de Brasil o de migración reciente de individuos con mayor aporte africano puesto que las mayores frecuencias de este alelo se encuentran en las poblaciones de ese continente.

Para aproximarnos a una visión lo más completa posible a la respuesta al Enalapril, se consideraron todas las variables tomadas en este trabajo para analizarlas conjuntamente, ya que la respuesta farmacológica es una condición multifactorial; sin embargo, nos encontramos con muchas dificultades para trabajarlas en conjunto, por el tipo de datos que se maneja (cuantitativos y cualitativos) y las exigencias en los análisis estadísticos. De manera que se trabajaron conjuntamente los cualitativos considerando las variables sexo, IMC, genotipos del *Alu-ACE*, genotipos del *CYP3A4\*1B* y ADNmt, a través de análisis exploratorios como el ACM y luego un análisis de similitud entre grupos (ANOSIM). En las Figuras 24 y 26 se aprecia que en la comparación del grupo de hipertensos respondedores y no-respondedores, se destaca los no-respondedores por ser un grupo más homogéneo y asociarse con genotipo I/I del *Alu-ACE*, sexo femenino y aporte indígena. En los respondedores la asociación se observa principalmente con el sexo masculino y aporte no indígena, variables que a pesar de no estar significativamente asociadas cuando se les analizó de manera independiente, al considerarse conjuntamente muestran cierta tendencia a estar relacionadas.

El estudio de las diferencias de género en la asociación de polimorfismos a ciertas enfermedades y respuesta a medicamentos podría proporcionar un mayor conocimiento en relación a la interacción gen-ambiente y gen-hormonas en hombres y mujeres (Jiménez, 2012). En este trabajo se observó mayor tendencia en las mujeres a no responder al tratamiento con Enalapril, a diferencia de los hombres.

En el presente trabajo, se analizó la asociación de los polimorfismos I/D *Alu-ACE* y *CYP3A4\*1B* que influyen en la respuesta terapéutica del Enalapril con ancestralidad y otras variables asociadas a la hipertensión. Los resultados obtenidos son alentadores en relación a la posibilidad de tener marcadores de riesgo para no metabolizar eficazmente un medicamento de

alto consumo en la terapia antihipertensiva. El conocimiento de esto permitirá proponer a futuro medidas preventivas y terapéuticas que favorezcan a los individuos más susceptibles de la población. Es recomendable entonces corroborar estos resultados aumentando el tamaño de la muestra y/o realizando estudios similares en diferentes regiones del país.

Vale la pena resaltar que este estudio representa un aporte al conocimiento de la estructura genética del departamento de Tacuarembó y es el primer intento en tratar de buscar asociación entre dos de los polimorfismos relacionados a la respuesta de un medicamento antihipertensivo ampliamente utilizado como es el Enalapril, con la ancestralidad, así como con otras variables asociadas a la hipertensión. Este estudio es relevante, en vista de que esta patología tiene una alta prevalencia en el país, y los medicamentos antihipertensivos son los más consumidos al igual que en resto del mundo. Por ello se justifican todos los esfuerzos destinados a realizar investigaciones orientadas al análisis de genes con relevancia farmacogenética. Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) están entre los medicamentos más usados a nivel mundial para el tratamiento antihipertensivo, en especial el Enalapril, cuyo mecanismo de acción implica la reducción de la formación de angiotensina II (Luizon et al., 2018). Es necesario estudiar otros genes que también estén asociados al metabolismo del Enalapril.

El desarrollo y la continuidad del estudio de las enzimas metabolizadoras de medicamentos son de gran importancia para los sistemas de salud y la elaboración de programas de Salud Pública en Uruguay y a nivel mundial, ya que mejoraría la calidad de vida de los individuos. Lo ideal o el plan a futuro, es generar una base de datos poblacionales necesarios para definir estudios farmacológicos y de farmacovigilancia, relacionados a ensayos clínicos de algunos medicamentos y las respuestas terapéuticas según los genotipos de los pacientes pertenecientes a poblaciones con características específicas.

## Conclusión

1. Los pacientes con hipertensión arterial esencial analizados en este estudio se caracterizan por: presentar mayor proporción de mujeres que de hombres, la mayoría se ubica en un rango etario de 45-64 años, hay predominio de individuos con sobrepeso/obesidad y casi todos con un índice de cintura/talla de alto riesgo.
2. A diferencia de lo reportado, hay predominio de pacientes hipertensas del sexo femenino (73,5%) sobre hombres (26,5%), resultado que puede ser explicado por factores asociados a la toma de las muestras. Futuros estudios deben profundizar al respecto.
3. La mayor proporción de pacientes en el rango etario de 45-64 años, corrobora los reportes de que la hipertensión es una enfermedad asociada con la edad, que por lo general se manifiesta después de los 45 años.
4. El 85% de los pacientes estudiados entran en la categoría de sobrepeso y obesidad, mientras que el 96% tiene un IC/T de alto riesgo. Este resultado concuerda con la asociación planteada en la literatura entre hipertensión y estos parámetros antropométricos.
5. En relación a la asociación de las variables biológicas descritas con la capacidad de respuesta al Enalapril, sólo el sexo mostró diferencia entre respondedores y no-respondedores; los hombres (96,3%) tuvieron significativamente mayor capacidad de respuesta que las mujeres (81,33%). Factores hormonales asociados al sexo femenino pueden ayudar a explicar este resultado.
6. Se encontraron diferencias significativas en las frecuencias alélicas del polimorfismo I/D del gen *Alu-ACE* entre el grupo de pacientes con HTA y la población general. Es mayor la frecuencia del alelo I en los pacientes con HTA. El grupo de hipertensos se asemeja más a poblaciones con alto aporte indígena, mientras que la población general se asemeja más a poblaciones europeas.

7. No hay diferencias en las frecuencias alélicas entre respondedores y no-respondedores, para el gen ACE, sin embargo, se observa una ligera mayor tendencia de individuos homocigotos I/I (metabolizadores pobres) en los no-respondedores. Se sugiere que este polimorfismo, en esta muestra, está más asociado con el padecimiento de la enfermedad que con la metabolización del Enalapril.
8. El 20% de los individuos hipertensos no respondedores son metabolizadores pobres para el polimorfismo I/D ACE, mientras que en la población general esa proporción es de 18%. Desde el punto de vista de salud pública, estos valores son importantes ya que teóricamente se espera que entre el 18% y el 20% de los pacientes no respondan al Enalapril a causa de este gen, como se observó en este estudio.
9. La población de hipertensos presenta frecuencias alélicas de la variante G del polimorfismo *CYP3A4\*1B* similar a otras poblaciones latinoamericanas. No hay diferencias en la frecuencia alélica ni genotípicas entre respondedores y no-respondedores. El único individuo metabolizador pobre (homocigoto G/G) para este polimorfismo resultó ser respondedor, lo que sugiere que nuestra muestra no se comporta a lo teóricamente esperado.
10. Se encontró otra variante en la región promotora del *CYP3A4*, el polimorfismo *CYP3A4\*1F*, cuyas frecuencias alélicas son similares a las reportadas en poblaciones latinoamericanas. Esta variante se presentó solo en el grupo de respondedores lo cual sugiere que no interfiere negativamente en la metabolización del Enalapril. Al relacionar los dos polimorfismos, se sugiere un posible haplotipo *CYP3A4\*1B-alelo A / CYP3A4\*1F-alelo C* en los respondedores. Es interesante su estudio en la población general y mejorar su análisis en la capacidad de respuesta.
11. En el grupo de pacientes con HTA y en la población general de Tacuarembó, hay un predominio por ADNmt de aporte indígena; sin embargo, en los hipertensos hay significativamente mayor aporte mitocondrial europeo que en la población general.

12. La estimación de ancestralidad con el uso de los AIMs mostró que el aporte europeo es mayor tanto en el grupo de pacientes con HTA como en la población general, pero el aporte indígena es significativamente mayor en los hipertensos. En ambos grupos el aporte africano es bajo.
13. En relación a la ancestralidad y la capacidad de respuesta al Enalapril, se observó ligera tendencia de mayor aporte indígena mitocondrial en los no-respondedores en relación a los respondedores. Mientras que para los AIMs no se encontraron diferencias entre ambos grupos.
14. La presencia de la inserción del polimorfismo I/D *Alu-ACE* está más asociado con el componente indígena estimado a partir de AIMs. Esta tendencia se observa mucho más clara en el grupo de no-respondedores.
15. Entre respondedores y no respondedores es clara la asociación del alelo G del polimorfismo *CYP3A4\*1B* y el aporte africano en no-respondedores. La mayor proporción del alelo A está relacionado al aporte indígena y puede ser explicado a su elevada frecuencia en indígenas americanos, ya que este alelo está fijado en poblaciones asiáticas.
16. Al analizar en conjunto todas las variables consideradas para este estudio y su relación a la capacidad de respuesta al Enalapril, se pudo identificar que los no-respondedores son un grupo menos heterogéneo que los respondedores, con asociación entre el sexo femenino, el genotipo I/I del *Alu-ACE*, el genotipo A/A del *CYP3A4\*1B* y aporte indígena. Estas variables merecen estudios a mayor escala y profundidad, ya que podrían ser de importancia como señales de alerta ante la probabilidad de no responder al tratamiento hipertensivo comúnmente indicado.
17. Estos resultados reafirman la importancia de considerar la ancestralidad para explicar la prevalencia de ciertas enfermedades y la capacidad poblacional en la metabolización de fármacos, en poblaciones latinoamericanas con historias complejas de mestizaje como es el caso de Uruguay.

18. Este estudio representa un aporte al conocimiento de la estructura genética del departamento de Tacuarembó y es el primer intento en tratar de buscar asociación entre los polimorfismos asociados con la metabolización al medicamento antihipertensivo Enalapril y ancestralidad. Esto es de suma importancia, ya que este medicamento es de los más consumidos debido a que la hipertensión representa una de las enfermedades con mayor prevalencia en Uruguay. Por lo planteado, se justifican todos los esfuerzos destinados a realizar investigaciones de este tipo.

## Bibliografía

- Abad Santos, F., y Novalbos J. (2008). Impacto Estratégico de la Medicina Individualizada. Implicaciones en la Clínica de la Farmacogenética. *Revista de Administración Sanitaria*, 6(4):601-612.
- Andrews, R.M., Kubacka, I., Chinnery, P.F., Lightowlers, R.N., Turnbull, D.M., y Howell, N. (1999). Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Natural Genetics*, 23:147.
- Ashley, F.W., y Kannel, W.B. (1974). Relation of weight change to changes in atherogenic traits: the Framingham Study. *Journal Chronic Diseases*, 27:103-114.
- Badavi, E., Safavi, B., Jalal, A., Shahriary G.M., Mohammadi-Asl, J., y Babaei, J. (2015). Association of CYP3A4 and CYP3A5 polymorphisms with Iranian breast cancer patient. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 16:219-225.
- Barras, M., y Legg, A. (2017). Drug dosing in obese adults. *Australian Prescriber*, 40:189-193. doi:10.18773/autoprescr.2017.053.
- Bautista, L., Vera-Cala, L.M., Villamil, L., Silva, S., Peña, I., Luna, L. (2002). Factores de riesgo asociados con la prevalencia de hipertensión arterial en adultos de Bucaramanga, Colombia. *Salud Pública de México*, 44(5):399-405.
- Bertoni, B., Jin, L., Chakraborty, R., y Sans M. (2005). Directional mating and a rapid male population expansion in a hybrid Uruguayan population. *American Journal of Human Biology*, 17:801-808.
- Bethke, L., Webb, E., Sellick, G., Rudd, M., Penegar, S., Withey, L., Qureshi, M., y Houlston, R. (2007). Polymorphisms in the cytochrome P450 genes CYP1A2, CYP1B1, CYP3A4, CYP3A5, CYP11A1, CYP17A1, CYP19A1 and colorectal cancer risk. *BMC Cancer*, 7:123.

- Bonilla, C., Bertoni, B., Gonzalez, S., Cardoso, H., Brum-Zorrilla, N., y Sans, M. (2004). Substantial Native American female contribution to the population of Tacuarembó, Uruguay, reveals past episodes of sex-biased gene flow. *American Journal of Human Biology*, 16:289-297.
- Bonilla, C., Bertoni, B., Hidalgo, P.C., Artagaveyta, N., Ackermann, E., Barreto, I., Cancela, P., Cappetta, M., Egana, A., Figueiro, G., Heinzen, S., Hooker, S., Roman, E., Sans, M., y Kittles, R. (2015). Breast cancer risk and genetic ancestry: a case-control study in Uruguay. *BMC Women's Health*, 15:11. doi: 10.1186/s12905-015-0171-8.
- Borrell, C., y Artazcoz, L. (2008). Las desigualdades de género en salud: restos para el futuro. *Revista Española Salud Pública*, 82:245-249.
- Burroughs, V., Randall, MD., Maxey, W., Levy, R. (2002). Racial and Ethnic Differences in Response to Medicine: Towards Individualized Pharmaceutical Treatment. *Journal of the National Medical Association*, 94(10): 1-26.
- Cabrera, C.P., Liang, F., Warren, H.R., Barnes, M.R., Munroe, P.B., y Caulfield M. (2015). Exploring hypertension genome-wide association studies findings and impact on pathophysiology, pathways, and pharmacogenetics. *WIREs Systems Biology Medicine*. doi:10.1002/wsbm.1290.
- Carretero, O.A., y Oparil, S. (2000). Essential hypertension. Part I: definition and etiology. *Circulation*, 101:329-335.
- Catt, K.J., Mendelsohn, F.A.C., Millán, M.A., y Aguilera, G. (1984). The role of Angiotensin II receptors in vascular regulation. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 6:575-586.
- Cavalli-Sforza, L. y Bodmer, W.F. (1981). Genética de las Poblaciones Humanas. *Ediciones Omega*. Barcelona, España.
- Castro de Guerra, D., Figuera, C., Izaguirre, M.H., Rodríguez-Larralde, A., Guerra, E., Martínez, D., y Pujol, F. (2009). Diversidad mitocondrial en el noroccidente de Venezuela. Implicaciones para probables rutas migratorias prehispánicas. *Acta biológica de Colombia*, 1:173-184.

- Céspedes-Garro, C., Naranjo, M.E., Ramírez, R., Serrano, V., Fariñas, H., Barrantes, R., y Llerena, A. (2015). Pharmacogenetics in Central American healthy volunteers: interethnic variability. *Drug Metabolisms Persons Therapy*, 30(1):19-31. doi: 10.1515/dmdi-2014-0025.
- Cooper-Dehoff, R., y Johnson, J. (2016). Hypertension pharmacogenomics: in search of personalized treatment approaches. *Nature Reviews Nephrology*. doi: 10.1038/nrneph.2015.176.
- Coto, E., Tavira, B., Marín, R., Ortega, F., López-Larrea, C., Ruíz-Ortega, M., Ortiz, A, et al. (2010). Functional polymorphisms in the CYP3A4, CYP3A5 and CYP21A2 gene in the risk for hypertension in pregnancy. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 397:576-579.
- Dai, Z., Papp, A.C., Wang, D., Hampel, H., y Sadee, W. (2008). Genotyping panel for assessing response to cancer chemotherapy. *BMC Medical Genomics*, 1:24.
- Danilov, S., Tovsky, S., Schwartz, D., y Dull, R. (2017). ACE phenotyping as a guide toward personalized therapy with ACE inhibitors. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 22(4):374-386. doi: 10.1177/1074248416686188.
- Danser, A.H., Deinum, J., Osterop, A.P., Admiraal, P.J., Schalekamp, M.A. (1999). Angiotensin I to angiotensin II conversion in the human forearm and leg. Effect of the angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism. *Journal Hypertension*, 17:1867-1872.
- Duque, C., Parra, M.V., Valencia, A.V., Bedoya, G., y Ruiz-Linares, A. (2012). Comparación de cuatro programas utilizados en la determinación de la composición genética ancestral de la población antioqueña. *Revista Colombiana de Antropología*, 48(1):233-257.
- Eadon, M., y Chapman, A. (2016). A physiologic approach to the pharmacogenomics of hypertension. *Advances in Chronic Kidney Disease*, 23(2):91-105. doi: 10.1053/j.ackd.2016.02.003.

- Esperón, P., Raggio, V., Goyeneche, L., Lorenzo, M., Taub, I., y Stoll, M. (2008). Genotipo de los genes VKORCI y CYP2C9 en la respuesta individual a la Warfarina. *Revista Médica Uruguay*, 24:267-277.
- Excoffier, L., y Lischer, H. (2015). Arlequin ver 3.5.2. Recuperado de: <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin35>.
- Falush, D., Stephens, M., y Pritchard, J.K. (2003). Inference of populations structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164:1567-1587. doi: 10.3410/f.1015548.197423.
- Felix, C., Walker, A., Lange, B., Williams, T., Winick, N., Cheung, N., Lovett, B., Nowell, P., Blair, I., y Rebbeck, T. (1998). Association of CYP3A4 genotype with treatment-related leukemia. *Proceedings National Academy Science USA*, 95:13176-13181.
- Figueiro, G. (2013). Estudio de las características y la continuidad de la población prehistórica de Arroyo Seco, Argentina, a través del ADN mitocondrial (tesis de maestría). Universidad de la República, Uruguay.
- Figueiro, G. (2013). Estudio de la variación temporal y espacial en el ADN mitocondrial de las poblaciones prehistóricas de la región pampeana (tesis de doctorado). Universidad de la República, Uruguay.
- Flaten, H., y Monte, A.A. (2017). The pharmacogenomic and metabolomic predictors of ACE inhibitors and angiotensin II receptor blocker effectiveness and safety. *Cardiovascular Drug Therapy*, 31(4):471-482. doi: 10.1007/s10557-017-6733-2.
- Fontana, V., Luizon, M.R., y Sandrim, V.C. (2014). An update on the pharmacogenetics of treating hypertension. *Journal of Human Hypertension*, 1-9. doi: 10.1038/jhh.2014.76.
- Foulds, H., y Warburton, D. (2014). The blood pressure and hypertension experience among North American Indigenous populations. *Journal Hypertension*, 32(4):724-734.
- Galanter, J.M., Fernandez-Lopez, J.C., Gignoux, C., Barnholtz-Sloan, J., Fernandez-Rozadilla, C., Via, M., Hidalgo-Miranda, A., Contreras, A., Uribe L, et al. (2012). Development of a panel

- of genome-wide ancestry informative markers to study admixture throughout the Americas. *PLoS Genetics*, 8(3):e1002554. doi: 10.1371/journal.pgen.1002554.
- García-Obregón, S., Alfonso-Sánchez, M., Pérez, A.M., et al. (2006). Genetic position of Valencia (Spain) in the Mediterranean basin according to Alu insertions. *American Journal Human Biology*, 18:187-195.
- García, M. (2018). Factores de riesgo cardiovascular desde la perspectiva de sexo y género. *Revista Colombiana de Cardiología*, 25(1):8-12.
- Georgitsi, M., Zukic, B., Pavlovic, S., y Patrinos, G. (2011). Transcriptional regulation and pharmacogenomics. *Pharmacogenomics*, 12(5):655-673.
- Giletti, A., Vital, M., Lorenzo, M., Cardozo, P., Borelli, G., Gabus, R., Martínez, L., Díaz, L., Assar, R., Rodríguez, M.N., y Esperón, P. (2017). Methotrexate pharmacogenetics in Uruguayan adults with hematológicas malignant diseases. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 109(15): 480-485.
- Giletti, A., y Esperón, P. (2018). Genetic markers in methotrexate treatments. *The Pharmacogenomics Journal*. doi: 10.1038/s41397-018-0047-z
- Gómez-Pérez, L., Alfonso-Sánchez, M., Pérez-Miranda, A., Pancorbo, M., Peña, J.A. (2007). Utilidad de las inserciones *Alu* en los estudios de mestizaje. *Antropology*, 14:29-36.
- González Chávez, A., Ureña Lagunes J., Del Pilar, D.M., Saramago, L., Amancio Chassin, O., Elizondo, S., Hernández, H., y Hernández J. (2011). Comparación de índices antropométricos como predictores de riesgo cardiovascular y metabólico en población aparentemente sana. *Revista Mexicana de Cardiología*, 22:59-67.
- Gracey, M., y King, M. (2009). Indigenous health part 1: determinants and disease patterns. *Lancet*, 374:65-75.
- Guevara, N., Maldonado, C., Uría, M., González, R., Ibarra, M., Alvariza, S., Carozzi, A., Azambuja, C., Fagiolino, P., y Vázquez, M. (2017). Role of CYP2C9, CYP2C19 and EPHX

- polymorphism in the pharmacokinetic of Phenytoin: a study on Uruguayan Caucasian subjects. *Pharmaceutical*, 10, 73. doi:10.3390/ph10030073.
- Haffner, S.M., Ferrannini, E., Hazuda, H.P., y Stern, M.P. (1992). Clustering of cardiovascular risk factors in confirmed prehypertensive individuals. *Hypertension*, 20:38-45.
- Hall, T. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium*, 41:95-98.
- Hamzeiy, H., Vahdati-Mashhadian, N., Edwards, H., y Goldfarb, P. (2002). Mutation analysis of the human CYP3A4 gene 5' regulatory region: population screening using non-radioactive SSCP. *Mutation Research*, 500:103-110.
- Hanis, C. (1996). Hypertension among Mexican Americans in Starr County, Texas. *Scientific Contributions*, 111(2):15-17.
- Havas, S., Fujimoto, W., Close, N., McCarter, R., Keller, J., y Sherwin, R. (1996). The NHLBI Workshop on hypertension in Hispanic Americans, Native American and Asian/Pacific islander Americans. *Scientific Contribution*, 11: 451-458.
- Helgeland, A., Strommen, R., Hagelund, C.H., y Tretli, S. (1986). Enalapril, atenolol and hydrochlorthiazide in mild to moderate essential hypertension. A comparative multicenter study in general practice in Norway. *Lancet*, i:872-875.
- Hernández Rodríguez, J., y Duchi Jimbo, P., (2015). Índice cintura/talla y su utilidad para detectar riesgo cardiovascular y metabólico. *Revista Cubana de Endocrinología*, 26(1):66-76.
- Hidalgo, P.C., Bengochea, M., Abilleira, D., Cabrera, A., y Alvarez, I. (2005). Genetic admixture estimate in the uruguayan population base on the loci LDLR, GYPA, HBG, GC and D7S8. *International Journal Human Genetics*, 5(3):217-222.
- Hidalgo, P.C., Mut, P., Ackermann, E., Figueiro, G., y Sans, M. (2014). Questioning the “Melting Pot”: analysis of Alu inserts in three populations samples from Uruguay. *Human Biology*, 86(2):83-92.

- Hong-Hao Z. (2002). Genetic Polymorphism of CYP2C19 in Chinese Ethnic Populations. *International Congress Series*, 1244: 51-61.
- Huertas Robles, B. (2001). Factores de riesgo para la hipertensión arterial. *Archivos de Cardiología de México*, 71(1):08-10.
- INE (Instituto Nacional de Estadística). 2014. El Uruguay en cifras. República Oriental del Uruguay. Recuperado de: <http://www.ine.gub.uy/uruguay-en-cifras>.
- Ingelman-Sundberg, M., Sim, S., Gomez, A., y Rodríguez-Antona, C. (2007). Influence of Cytochrome P450 Polymorphisms on Drugs Therapies: Pharmacogenetic, Pharmacoepigenetic and Clinical Aspects. *Pharmacology and Therapeutics*, 116:496-526.
- Iniesta, R., Guinó, E., y Moreno, V. (2005). Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gaceta Sanitaria*, 19 (4):333-341.
- Isaza, C., Beltrán, L., Henao, J., Porras, G., Pinzón, A., Vallejos, A., y Machado, J. (2010). Factores genéticos y ambientales asociados con la respuesta a warfarina en pacientes colombianos. *Biomédica*, 30:410-420.
- Jiménez, Y. (2012). Polimorfismos genéticos tipo SNP de la región cromosómica 9p21 y Val34Leu del Factor XVIII de la coagulación sanguínea en pacientes con trombosis arterial del Estado Anzoátegui (Tesis de maestría). Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Venezuela.
- Kemp, B.M., Malhi, R.S., McDonough, J., Bolnick, D.A., Eshleman, J.A., Rickards, O., Martinez-Labarga, C., Johnson, J.R., Lorenz, J.G., et al. (2007). Genetic analysis of early Holocene skeletal remains from Alaska and its implications for the settlement of the Americas. *American Journal Physical Anthropology*, 132:605-621.
- Koch, E., Romero, T., Manriquez, L., Taylor, A., Roman, C., Paredes, M., Diaz, C., Kirschbaum, A. (2008). Razón cintura-estatura: un mejor predictor antropométrico de riesgo cardiovascular y mortalidad en adultos chilenos. *Revista Chilena Cardiología*, 27:23-35.

- Lagos, J., Lemus, J., Sierra, F., Mella, R., Fuentes, F., Ocares, G., Rosales, A., Salazar, L., Duran, D., y Gúzman, N. (2010). Asociación de niveles de lípidos y haplogrupos amerindios de DNA mitocondrial en individuos chilenos hipercolesterolémicos tratados con Atorvastatina. *Revista Chilena Cardiología*, 29:208-213.
- Lares-Assef, I., y Trujillo-Jiménez, F. (2001). La Farmacogenética y su Importancia en la Clínica. *Gaceta Médica de México*, 137(3):227-236.
- Liu, L., Chang, Y., Du, S., Shi, X., Yang, H., Kang, L., Jin, T., Yuan, D., y He, Y. (2017). Genetic analysis of drug metabolizing phase-I enzymes CYP3A4 in Tibetan populations. *Journal of Genetics*, 96(2):219-225. doi: 10.1007/s1204-017-0757.
- Luizon, M., Pereira, D., y Sandrim, V. (2018). Pharmacogenomics of hypertension and preeclampsia: focus on gene-gene interactions. *Frontiers in Pharmacology*, 9:168.
- Lupoli, S., Salvi, E., Barcella, M., y Barlassina, C. (2015). Pharmacogenomics considerations in the control of hypertension. *Pharmacogenomics*, 16(17):1951-1964.
- Luque, J., y Herráez, A. (2000). *Biología Molecular e Ingeniería Genética*. Editorial Harcourt, España.
- Magro López, A., Sagastagoitia, J.D., Sáez Meabe, Y., Narváez, I., Sáez de Lafuente, J.P., Vacas Rius, M., Molinero, E., Escobar, A., y Iriarte Ezkurdia, J.A. (2004). Factores de riesgo cardiovascular asociados a hipertensión arterial en mujeres según la edad. *Hipertensión*, 22(2):48-53.
- Mangoush, M., Singh, N.K., Kumar, S., Basha, A., Gupta, B.S., Bolya, Y.K., y Gamati, A. (1990). Efficacy of enalapril in essential hypertension and its comparison with atenolol. *Postgrade Medical Journal*, 66:446-449.
- Marcheco-Teruel, B., Parra, E.J., Fuentes-Smith, E., Salas, A., Buttenschon, H., Demonstis, D., Torres-Españols, M., Marín-Padrón, L, et al. (2014). Cuba: exploring the history of admixture and the genetic basis of pigmentation using autosomal and uniparental markers. *PLOS Genetics*, 10(7):e1004488.

- Marrodán, M.D., Martínez-Álvarez, J.R., González, M., López-Ejeda, N., Cabañas, M.D., y Prado C. (2013). Precisión diagnóstica del índice cintura-talla para la identificación del sobrepeso y de la obesidad infantil. *Medicina Clínica*, 140(7):289-336. doi:10.1016/j.medcli.2012.01.032.
- Matínez Álvarez, J., Villarino Marín, A., García Alcón, R., López Ejeda, N., y Marródan, M.D. (2016). El índice cintura-talla es un eficaz indicador antropométrico de la hipertensión en escolares. *Nutrición Hospitalaria*, 33(2):506-507.
- Miller, S.A., Dykes, D., y Polesky H.F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Research*, 16:1,215.
- Mills, K.T., Bundy, J.D., Kelly, T.N., Reed, J.E., Kearney, P.M., y Reynolds, K. (2016). Global disparities of hypertension prevalence and control: a systematic analysis of population based studies from 90 countries. *Circulation*, 134:441-450.
- Ministerio de Salud Pública. (2017). Recomendaciones para el abordaje de la hipertensión arterial sistémica en el primer nivel de atención. Recuperado de: [http://www.msp.gub.uy/sites/default/files/archivos\\_adjuntos/Abordaje de la HA en el PNA-final.pdf](http://www.msp.gub.uy/sites/default/files/archivos_adjuntos/Abordaje de la HA en el PNA-final.pdf).
- Mourat, O. (1969). La inmigración y el crecimiento de la población en el Uruguay: 1830-1930. *Cinco Perspectivas Históricas del Uruguay Moderno*. Mourat, O., Mariani, A., Jacob, R., et al. Eds. Montevideo, Uruguay: Fondo de Cultura Universitaria, 1-84.
- Muñoz, M.G., Olivas Aguirre, F.J., de León Meldrano, D., y Ochoa, C. (2016). El índice cintura-talla como predictor del daño cardiovascular. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 26(2):239-251.
- Naranjo, M.E., Rodrigues-Soares, F., Peñas-Lledó, E., Tarazona-Santos, E., Fariñas, H., Rodeiro, I., Terán, E., Grazina, M., Moya, G, et al. (2018). Interethnic variability in CYP2D6, CYP2C9 and CYP2C19 genes and predicted drug metabolism phenotypes among 6060 ibero and native americans: RIBEF-CEIBA Consortium Report on Population

Pharmacogenomics. *OMICS: A Journal of Integrative Biology*, 22(9). doi: 10.1089/omi.2018.0114

Nuñez, L., Crespo-Leiro, M., Marrón-Liñarez, G., Suarez-Fuentetaja, N., Barge-Caballero, E., et al. (2016). Analysis of variants in the HCN4 gene and in three single nucleotide polymorphisms of the CYP3A4 gene for association with ivabradine reduction in heart rate: a preliminary report. *Cardiology Journal*. doi: 10.5603/Cj.a2016.0050

Oliveira-Paula, G.H., Luizon, M., Lacchini, R., Fontana, V., Silva, P., Biagi, C., et l. (2017). Gene-gene interactions among PRKCA, NOS3 y BDKRB2 polymorfisms affect the antihypertensive effects of enalapril. *Basic Clinical Pharmacology Toxicology*, 120:284-291. doi: 10.1111/bcpt.12682.

Oparil, S., Zaman, A., y Calhoun, D.A. (2003). Pathogenesis of Hypertension. *Annals Internal Medicine*, 139:761-776.

Ong, K.L., Tso, A.W.K., Lam, K.S.L., y Cheung, B.M.Y. (2008). Gender difference in blood pressure control and cardiovascular risk factors in Americans with diagnosed hypertension. *Hypertension*, 51:1142-1148.

Pacheco-Romero, J. (2010). Hipertensión arterial en diferentes edades de la mujer. *Anales Facultad Medicina*, 71(4):257-264.

Padmanabhan, S., y Joe, B. (2017). Towards precisión medicine of hypertension: a review of genomic, epigenomic, and microbiomic effects on blood pressure in experimental rat models and humans. *Physiology. Rev*, 97:1469-1528. doi: 10.1152/physrev.00035.2016

Pagano, S., Sans, M., Pimenoff, V., Cantera, A.M., Alvarez, J.C., Lorente, J.A, et al. (2005). Assessment of HVI and HV2 mtDNA variation for forensic purposes in and Uruguayan population sample. *Journal Forensic Science*, 50:1239-1242.

Pagano, J.P., Rossi, M., y Triunfo, P. (2009). Obesidad e hipertensión en los adultos mayores uruguayos. *Desarrollo y Sociedad*, 207-237.

- Pardo-Govea, T., Borjas, L., Zabala, W., Sanchez, M., Portillo, M., y Aranguren, A. (2007). Marcadores polimórficos del cromosoma Y en grupos indígenas del Estado Zulia, Venezuela. *Scientific Journal of the Experimental Faculty of Sciences, at the Universidad del Zulia*, 3:341-348.
- Pereira, T.V., Nunes, A.C., Rudnicki, M. (2008). Meta-analysis os association of 4 angiotensinogen polymorphisms with essential hypertension: a role beyond M235T? *Hypertension*, 51:778-783.
- Pereira Dos Santos, C. (2005). Estudio genético y biodemográfico del archipiélago de las Azores. (Tesis Doctoral). Universitat Auntonoma de Barcelona. Unitat d'Antropología Biológica. Barcelona.
- Pi Hugarte, R., y Vidart, D. (1969). El legado de los inmigrantes. *Nuestra Tierra*, Montevideo.
- Pisabarro, R., Gutiérrez, M., Bermúdez, C., Prendez, D., Recalde, A., Chaftare, Y., y Manfredi, A. (2009). Segunda Encuesta Nacional de Sobrepeso y Obesidad (ENSO 2) adultos (18-65 años o más). *Revista Médica Uruguay*, 25:14-26.
- Poch, E., de la Sierra, A., González-Núñez, D., Oriola, J., Redón, J., et al. (2001). Polimorfismos genéticos del sistema renina-angiotensina e hipertensión arterial esencial. *Medicina Clinica*, 118(15):575-579.
- Pritchard, J.K., Wen, X., Falush, D. (2010). Documentation for Structure software: Version 2.3. Recuperado de: <http://pritch.bsd.uchicago.edu/structure.html>.
- Ramírez-Bello, J., Pérez-Méndez, O., Ramírez-Fuentes, S., Carrillo-Sánchez, S., Vargas-Alarcon, G., y Fragoso, J.M. (2011). Genética y genómica de la hipertensión arterial: una actualización. *Archivos Cardiología México*, 81(3):240-250.
- Rish, N., Burchard, E., Ziv, E., Tang, H. (2002). Categorización de los Humanos en Investigaciones Biomédicas: genes, razas y enfermedades. *Genome Biology*, 3(7). USA.
- Rohm Young, D., Fischer, H., Arterburn, D., Bessesen, D., Cromwell, L., Daley, M., Desai, J., Ferrara, A., et al. (2017). Associations of overweight/obesity and socioeconomic status

- with hypertension prevalence across racial and ethnic groups. *Journal Clinical Hypertension*, 20:532-540.
- Rosenberg, N., Pritchard, J.K., Weber, J., Cann, H.M., Kidd, K., Zhivotovsky, A., Feldman, M. (2002). Genetic structure of human populations. *Science*, 298:2381-2385.
- Rodríguez Arcas, M.J., García-Jiménez, E., Martínez-Martínez, F., y Conesa-Zamora, P. (2010). Papel del citocromo P450 en la farmacocinética y en la farmacogenética de los fármacos antihipertensivos. *Farmacología Hospitalaria*, 35(2):84-92. doi: 10.1016/j.farma.2010.05.006.
- Rondón González, F., y Barreto, G. (2013). Estructura genética, ancestralidad y su relación con los estudios en salud humana. *Médica UIS*, 2b(1):37-43.
- Ruscin, M, y Linnebur, S. (2014). Farmacocinética en los ancianos. Tomado de: <https://www.msmanuals.com/es/professional/geriatr%C3%ADa/farmacoterapia-en-los-ancianos/farmacocin%C3%A9tica-en-los-ancianos>.
- Sampaio Freitas, S., Cabello, P.H., Soares Moura-Neto, R., Cresta, L., y Neves Bóia, M. (2007). Combined analysis of genetic and enviromental factor son essential hypertension in a brazilian rural population in the amazon region. *Arquivos Brasileiros Cardiología*, 88(4):393-397.
- Sampson, J.N., Kidd, K., Kidd, J.R., y Zhao, H. (2011). Selecting SNPs to identify ancestry. *Annals of Human Genetics*, 75:539-553.
- Sánchez, A., Muhn, M.A., Lovera, M., Ceballos, B., Bonneau, G., Pedrozo, W., Medina, G., Leiva, R., Humeres, C., y Castillo Rascón, M.S. (2014). Indices antropométricos predicen riesgo cardiometabólico. Estudio de cohorte prospectivo en una población de empleados de hospitales públicos. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo*, 51(4): 185-191.
- Sandoya, E., Puppo, T., Vázquez, H., Portos, A., Castro, M., y Fort, Z. (2012). Evolución de la hipertensión arterial en Uruguay: 1948-2011. *Revista Uruguaya Cardiología*, 27:377-386.

- Sans, M. (1994). Estudio genético e histórico de la población del departamento de Tacuarembó, Uruguay. PhD tesis, Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay.
- Sans, M., Salzano, F.M., y Chakraborty, R. (1997). Historical genetics in Uruguay: Estimates of Biological origins and their problem. *Human Biology*, 69(2):161-170.
- Sans, M., Figueiro, G., Ackermann, E., Barreto, I., Egana, A., Bertoni, B., Poittevin-Gilmet, E., Maytia, D., y Hidalgo, P.C. (2011). Mitochondrial DNA in Basque descendants from the city of Trinidad, Uruguay: Uruguayan or Basque like population?. *Human Biology*, 83(1):55-70.
- Sans, M., Figueiro G., y Hidalgo, P.C. (2012). A new mitochondrial C1 lineage from the prehistory of Uruguay: population genocide, ethnocide and continuity. *Human Biology*, 84(3):287-305.
- Sans, M., Mones, P., Figueiro, G., Barreto, I., Motti, J., Coble, M., Bravi, C., y Hidalgo, P.C. (2014). The mitochondrial DNA history of a former native american village in northern Uruguay. *American Journal of Human Biology*. doi: 10.1002/ajhb.22667.
- Santiago, C., Bandres, F., y Gómez-Gallego, F. (2002). Polimorfismos de citocromo P450: papel como marcador biológico. *Medicina del Trabajo*, 11(3):130-140.
- Scordo M., Caputi A., D'Arrigo C., Fava G., Spina E. (2004). Allele and Genotype Frequencies of CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in a Italian Population. *Pharmacological Research*, 50:195-200.
- Schanfield, M. (2006). Applications of molecular genetics to forensic sciences. *Anthropological Genetics: Theory, Methods and Applications*, 0:235-276.
- Shriver, L. (2003). Population in Literature. *Population and Development Review*, 29(2):153-162. doi: 10.1111/j.1728-4457.2003.00153.x.
- Silva, P.S., Fontana, V., Luizon, M., Lacchini, R., Silva, W., Biagi, C., et al. (2013). eNOS and BKRB2 genotypes affect the antihypertensive responses to enalapril. *European Journal Clinical Pharmacology*, 69:167-177. doi: 10.1007/s00228-012-1-326-2.

- Sofer, T., Baier, L., Browning, S., Thornton, T., Talavera, G., Wassertheil-Smoller, S., Daviglus, M., et al. (2017). Admixture mapping in the Hispanic community health study/study of latinos reveals regions of genetic associations with blood pressure traits. *PLoS ONE*, 12(11):e0188400.
- Sookoian, S. y Pirola, C. (2004). Farmacogenética/Farmacogenómica en la Práctica Clínica. *Medicinal*, 64:563-567.
- Tanira, M.O.M., y Al Balushi, K.A. (2005). Genetic variations related to hypertension: a review. *Journal of Human Hypertension*, 19:7-19.
- Thoenes, M., Neuberger, H.R., Volpe, M., Khan, B.V., Kirch, W., y Bohm, M. (2010). Antihypertensive drug therapy and blood pressure control in men and women: an international perspective. *Journal of Human Hypertension*, 24:336-344.
- Torrades, S. (2002). Diversidad del genoma humano: los polimorfismos. *Genética*, 21(5):122-126.
- Torresani, M.E., Oliva, M.L., Rossi, M.L., Echevarria, C., y Maffei, L. (2014) Riesgo cardiovascular según el índice cintura/talla en mujeres adultas. *Actualización en Nutrición*, 15:3-9.
- Ueda, S., Elliott, H.L., Morton, J.J., Connell, J.M. (1995). Enhanced pressor response to angiotensin I in normotensive men with the deletion genotype (DD) for angiotensin-converting enzyme. *Hypertension*, 25:1266-1269.
- Vaccarino, V., Badimon, L., Corti, R., Wit, C., Dorobantu, M., Hall, A., Koller, A., Marzilli, M., Pries, A., et al. (2010). Ischaemic heart disease in women: are there sex differences in pathophysiology and risk factors? *Cardiovascular Research*, 90:9-17.
- Valenzuela, K., y Bustos, P. (2012). Índice cintura estatura como predictor de riesgo de hipertensión arterial en población adulta joven: ¿Es mejor indicador que la circunferencia cintura? *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 62(3).

- Vega-Requena, Y., Hidalgo, P.C., Ackermann, E., Flores-Gutiérrez, S., y Sans, M. (2019). Genetic admixture análisis in the population of Tacuarembó-Uruguay using Alu Insertions. *Human Biology* (en prensa).
- Weiner, J.S., y Lourie, J.A. (1969). *Human Biology. A guide to field methods*. International Biological Program. Handbook number 9. Blackwell Scientific Publications.
- Weissensteiner, H., Pacher, D., Kloss-Brandstatter, A., Forer, L., Specht, G., Bandelt, H., Kronenberg, F., Salas, A., y Schonherr, S. (2016). HaploGre 2: mitochondrial haplogroup classification in the era of high-throughout sequencing. *Nucleic Acids Research*, 44:58-63. Doi: 10.1093/nar/16/233.
- Zanger, U.M., y Schwab, M. (2013). Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities and impact of genetic variation. *Pharmacology and Therapeutics*, 138:103-141. Doi: 10.1016/j.pharmthera.2012.12.007.
- Zilberman, J., y Del Sueldo, M. (2016). Hipertensión arterial en la mujer ¿Sólo cuestión de género?. *Revista de la Federación Argentina de Cardiología*, 47(4)
- Zisaki, A., Miskovic, L., y Hatzimanikatis, V. (2015). Antihypertensive drugs metabolism: an update to pharmacokinetic profiles and computational approaches. *Current Pharmaceutical Design*, 21:806-822.
- Zorrilla, P., Mimbacas, A., Gascue, C., Javiel, G., y Cardoso, H. (2006). Prevalencia del polimorfismo I/D del gen de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) en la población de Montevideo. *Revista Médica Uruguay*, 22:17-21.
- Zubeldia Lauzurica, L., Quiles Izquierdo, J., Manes Vinuesa, J., y Redon, J. (2016). Prevalencia de hipertensión arterial y de sus factores asociados en población de 16 a 90 años de edad en la comunitat valenciana. *Revista Española Salud Publica*, 90.

## Anexo 1

PDU Diversidad Genética Humana, CUT-UdelaR.

No: \_\_\_\_\_ No. Laboratorio: \_\_\_\_\_

### DATOS PERSONALES DEL ENCUESTADO:

Nombre: \_\_\_\_\_

Apellido Paterno: \_\_\_\_\_

Apellido Materno: \_\_\_\_\_

Sexo: M \_\_\_ F \_\_\_

CI: \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_.

Dirección: \_\_\_\_\_ Ciudad: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_

Edad Cumplida. \_\_\_ Fecha Nac. dd \_\_\_ / \_\_\_ / año \_\_\_\_\_

Lugar Nac. \_\_\_\_\_ Rural: \_\_\_ Urbano: \_\_\_

Localidad: \_\_\_\_\_.

Dpto: \_\_\_\_\_.

Escolaridad (terminada): Primaria: \_\_\_\_. Secundaria: \_\_\_\_\_. Terciaria: \_\_\_\_\_.

No. Hermanos (Incluido el encuestado): \_\_\_\_\_ M: \_\_\_\_\_ F: \_\_\_\_\_.

No. Hijos: \_\_\_ M: \_\_\_ F: \_\_\_\_. Gemelos: \_\_\_ MZ: \_\_\_ DZ: \_\_\_\_. Abortos: Si: \_\_\_

No: \_\_\_ Espontáneos: \_\_\_\_\_. Inducidos: \_\_\_\_\_.

#### Antecedentes Personales:

HPT: \_\_\_\_\_. Antecedentes de HPT: Maternos: \_\_\_\_\_ o Paternos: \_\_\_\_\_.

Eclampsia: \_\_\_\_. Antecedentes de Eclampsia: Maternos: \_\_\_\_\_ o Paternos: \_\_\_\_\_.

Diabetes: \_\_\_\_\_. Antecedentes Diabetes: Maternos: \_\_\_ o Paternos: \_\_\_\_\_.

Obesidad: \_\_\_\_\_. Antecedentes de Obesidad: Maternos : \_\_\_ o Paternos: \_\_\_\_\_.

Cáncer: \_\_\_\_\_. Donde: \_\_\_\_\_. Antecedentes de Cáncer: Maternos: \_\_\_\_\_ o Paternos: \_\_\_\_\_.

FUMA: si \_\_\_ no \_\_\_\_\_. FUMÓ: si \_\_\_ no: \_\_\_\_\_.

Grupo Sanguíneo: ABO: \_\_\_\_\_ Rh: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ Su Padre y su Madre  
son Familiares: si no. Grado: \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_

MUESTRA: Sangre: \_\_. Saliva: \_\_. Frotis Bucal: \_\_ Pelo: \_\_\_\_\_

---

**MADRE DEL ENCUESTADO:**

RECONOCE ANCESTRÍA: Africana: si \_\_ no \_\_. Indígena: si \_\_\_\_ no \_\_\_\_\_.

Nombre: \_\_\_\_\_

Apellido Paterno: \_\_\_\_\_

Apellido Materno: \_\_\_\_\_

Lugar Nac. \_\_\_\_\_ Rural: \_\_\_\_ Urbano: \_\_\_\_\_

Localidad: \_\_\_\_\_ Dpto: \_\_\_\_\_.

Viva: \_\_\_\_ Fallecida: \_\_\_\_ . Edad: \_\_\_\_ . Causa: \_\_\_\_\_. No sabe: \_\_\_\_\_.

---

**PADRE DEL ENCUESTADO:**

RECONOCE ANCESTRÍA: Africana: si \_\_\_\_ no \_\_\_\_ Indígena: si \_\_\_\_ no \_\_\_\_\_.

Nombre: \_\_\_\_\_

Apellido Paterno: \_\_\_\_\_

Apellido Materno: \_\_\_\_\_

Lugar Nac. \_\_\_\_\_ Rural: \_\_\_\_ Urbano: \_\_\_\_\_

Localidad: \_\_\_\_\_ Dpto: \_\_\_\_\_.

Vivo: \_\_\_\_.

Fallecido: \_\_\_\_ . Edad: \_\_\_\_ Causa: \_\_\_\_\_.

No sabe: \_\_\_\_\_.

---

**ABUELOS MATERNOS:**

**Abuela Materna:**

RECONOCE ANCESTRÍA: Africana: si \_\_\_\_ no \_\_\_\_ Indígena: si \_\_\_\_ no \_\_\_\_\_.

Nombre: \_\_\_\_\_

Apellido Paterno: \_\_\_\_\_

Apellido Materno: \_\_\_\_\_

Lugar Nac. \_\_\_\_\_ Rural: \_\_\_\_\_ Urbano: \_\_\_\_\_

Localidad: \_\_\_\_\_

Dpto: \_\_\_\_\_.

VIVA: \_\_\_\_\_ FALLECIDA: \_\_\_\_\_ . Causa: \_\_\_\_\_.

No sabe: \_\_\_\_\_.

Su abuelo y su abuela son Familiares: No: \_\_\_\_\_ . Si: \_\_\_\_\_ . Grado. \_\_\_\_\_

-----  
**Abuelo Materno:**

RECONOCE ANCESTRÍA: Africana: si \_\_\_\_\_ no \_\_\_\_\_ Indígena: si \_\_\_\_\_ no \_\_\_\_\_.

Nombre: \_\_\_\_\_

Apellido Paterno: \_\_\_\_\_

Apellido Materno: \_\_\_\_\_

Lugar Nac. \_\_\_\_\_ Rural: \_\_\_\_\_ Urbano: \_\_\_\_\_

Ciudad o Localidad: \_\_\_\_\_

Dpto: \_\_\_\_\_.

Vivo: \_\_\_\_\_ Fallecido: \_\_\_\_\_ . Causa: \_\_\_\_\_.

EDAD: \_\_\_\_\_ No sabe: \_\_\_\_\_.

Su abuelo y su abuela son Familiares: No: \_\_\_\_\_ . Si: \_\_\_\_\_ . Grado. \_\_\_\_\_.

-----  
**ABUELOS PATERNOS:**

**Abuela Paterna:**

RECONOCE ANCESTRÍA: Africana: si \_\_\_\_\_ no \_\_\_\_\_ Indígena: si \_\_\_\_\_ no \_\_\_\_\_.

Nombre: \_\_\_\_\_

Apellido Paterno: \_\_\_\_\_

Apellido Materno: \_\_\_\_\_

Lugar Nac. \_\_\_\_\_ Rural: \_\_\_\_\_ Urbano: \_\_\_\_\_

Ciudad o Localidad: \_\_\_\_\_

Dpto: \_\_\_\_\_.

VIVA: \_\_\_\_ FALLECIDA: \_\_\_\_ . Causa: \_\_\_\_\_.

Edad \_\_\_\_\_ No sabe: \_\_\_\_\_.

**Abuelo Paterno:**

RECONOCE ANCESTRÍA: Africana: si \_\_\_\_ no \_\_\_\_ Indígena: si \_\_\_\_ no \_\_\_\_\_.

Nombre: \_\_\_\_\_

Apellido Paterno: \_\_\_\_\_

Apellido Materno: \_\_\_\_\_

Lugar Nac. \_\_\_\_\_ Rural: \_\_\_\_ Urbano: \_\_\_\_

Localidad: \_\_\_\_\_

Dpto: \_\_\_\_\_.

Vivo: \_\_\_\_ Fallecido: \_\_\_\_ . Causa: \_\_\_\_\_.

No sabe: \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Su abuelo y su abuela paternos son Familiares: No: \_\_\_\_ . Si: \_\_\_\_ .

Grado: \_\_\_\_\_.

**EN EL ÚLTIMO AÑO:**

1) ¿ Qué tan seguido tomó leche como bebida: Nunca: \_\_\_\_ . Pasar a la pregunta 2.

Diaria: \_\_\_\_ Semanal: \_\_\_\_ . Raramente \_\_\_\_ . 2-3 veces al mes: \_\_\_\_ . 3-4 veces a la semana \_\_\_\_\_.

2) Si **NO** tomó leche esto se debió a manifestaciones del estómago:  
si \_\_\_\_ no \_\_\_\_ .

Si es **NO** pasar a la pregunta 3. En caso de ser **SI** indicar cuales:

Dolor abdominal \_\_\_\_ . 2) Gases: \_\_\_\_ . 3) Flatos: \_\_\_\_ . 4) Diarrea: \_\_\_\_ .

5) Náuseas y/o vómitos: \_\_\_\_ . 6) Constipación: \_\_\_\_ . 7) Otros

(aclarar): \_\_\_\_\_ .

3) Qué tan frecuente comió queso? (untables y fetas). Postres lácteos (pudding) o bebió yogurt (Otras bebidas lácteas fermentadas)?

Diaria:\_\_\_\_\_. Semanal:\_\_\_\_\_. Raramente:\_\_\_\_\_. 2-3 veces al mes:\_\_\_\_\_.  
 Más de una vez al día: \_\_\_\_\_.

**OBSERVACIONES ( & Enfermedades Hermanos):**

**Hermano            Sexo            Enfermedades**

---



---



---



---



---



---

<b>Color Melanina PIEL</b>		<b>Número:</b>	
<b>MSD</b>			
	<b>E. M. MODE</b>		<b>RGB</b>
<b>E</b>		<b>R</b>	
<b>R</b>		<b>G</b>	
<b>MSI</b>		<b>B</b>	
	<b>E. M. MODE</b>		
<b>E</b>		<b>R</b>	
<b>M</b>		<b>G</b>	
		<b>D</b>	

Fecha: \_\_\_\_/\_\_\_\_/ \_\_\_\_.

Nombre Encuestador:\_\_\_\_\_.

2016/2

Anexo 2

Proyecto de hipertensión y farmacogenética en la población de Tacuarembó.

Código: \_\_\_\_\_

Peso: \_\_\_\_\_ Talla: \_\_\_\_\_ IMC: \_\_\_\_\_

Circunferencia cintura: \_\_\_\_\_ Presión Arterial: \_\_\_\_\_

Colesterol total: \_\_\_\_\_ HDL: \_\_\_\_\_ LDL: \_\_\_\_\_ VLDL: \_\_\_\_\_

Triglicéridos: \_\_\_\_\_ Creatinina: \_\_\_\_\_ Urea: \_\_\_\_\_ Glicemia: \_\_\_\_\_

Diagnóstico: \_\_\_\_\_

Tratamiento (medicamento, dosis): \_\_\_\_\_

Tiempo en tratamiento: \_\_\_\_\_

Ha cambiado de tratamiento: Si \_\_\_ No \_\_\_ Porque: \_\_\_\_\_

Anterior tratamiento: \_\_\_\_\_

Sufre de estrés: Si \_\_\_ No \_\_\_

Laboral \_\_\_ Familiar \_\_\_ Económico \_\_\_ Depresión \_\_\_ Otros: \_\_\_\_\_

Otras enfermedades: \_\_\_\_\_

Renales: Si \_\_\_ No \_\_\_

Antecedentes maternos: \_\_\_\_\_

Antecedentes paternos: \_\_\_\_\_

### Anexo 3

#### Protocolo de extracción de ADN con el kit de Vivo Science

A partir de 200ul de muestra de sangre.

1. Pipetear en un microtubo de 1,5ml, 20ul de proteinasa K. Luego agregar 200ul de sangre, por último, agregar 200ul de solución A.
2. Agitar en vórtex por 10 segundos e incubar durante 10 minutos a 55°C.
3. Adicionar 200ul de etanol (96-100%), agitar en vórtex por 10 segundos y centrifugar brevemente, evitando la formación de gotas en la pared del tubo.
4. Cargar todo el volumen de muestra en la columna de purificación, centrifugar a 8000 xg por minuto. Descartar el filtrado con su tubo recolector, colocar la columna en un nuevo tubo recolector (provisto).
5. Adicionar 500ul de solución B y centrifugar a 8000 xg durante 1 min. Descartar el filtrado con su tubo recolector, colocar la columna en un nuevo tubo recolector (provisto por el kit).
6. Adicionar 500ul de solución C y centrifugar a 12000 xg durante 1 min. Descartar el tubo recolector con el filtrado.
7. Colocar la columna en un nuevo microtubo de 1,5ml y centrifugar a 12000 xg durante 1 minuto para eliminar todo resto de solución C.
8. Colocar la columna en un nuevo microtubo de 1,5ml y adicionar 100ul de solución D. centrifugar a 8000 xg por 1 minuto.

## Anexo 4

### Protocolo de extracción de ADN de Saliva.

**Protocolo:** a partir de 500ul de saliva.

1. Centrifugar 500ul de saliva a 8000rpm durante 10 minutos.
2. Descartar sobrenadante.
3. Lavar el *pellet* con 1ml de STE (NaCl 100mM(0,1M), Tris HCL pH 8.0 10mM, EDTA 1mM). Mezclar con vortex, centrifugar por 5 minutos y descartar el sobrenadante.
4. Agregar 500ul de solución de lisis celular (Tris HCL pH 8.0 50 mM, EDTA pH 8.0 100 mM, SDS 0.5%) para glóbulos blancos + 15ul de Proteinasa K y resuspender el pellet (con pipeta).
5. Dejar en baño caliente *overnight* a 55°C.
6. Agregar 300ul de solución de precipitación de proteínas (Acetato de Amonio 7.5 M) y agitar en vortex por 20 segundos.
7. Precipitar proteínas centrifugando a máxima velocidad por 10 minutos. Se observa un pellet en el fondo que son las proteínas.
8. Transferir el sobrenadante a un vial con 700ul de isopropanol a -20°C y agitar por inversión. Se observa el ADN precipitado.
9. Centrifugar por 1 minuto a máxima velocidad y descartar el sobrenadante.
10. Lavar el pellet con 500ul de etanol 70% a 4°C (agregar el etanol, vortexear). Centrifugar por 1 minuto a máxima velocidad y descartar el sobrenadante.
11. Secar el pellet por inversión sobre un papel de filtro por 1 hora. Se puede acelerar el proceso en baño seco caliente con el vial destapado para evaporar el etanol (entre 37 y 50°C).

Suspender el pellet en 50ul de agua destilada o buffer TE 1x (Tris pH 8.0 10 mM, EDTA pH 8.0 1 mM). Dejarlo *overnight* a 37°C.

## Anexo 5

### Panel de 79 AIMs

SNP rsID	chr	posicion	A1	A2	NAM_AF	EUR_AF	AFR_AF	Pob.	LSBL (Fst)	Equil H-W
rs6684063	1	30471927	T	G	0.183	0.841	0.218	EUR	0.411	0.096
rs12021830	1	119363905	T	C	0.107	0.838	0.995	NAM	0.626	0.174
rs10779334	1	217173027	G	A	0.008	0.097	0.837	AFR	0.606	1.000
rs6711746	2	29292053	T	C	0.102	0.809	0.874	NAM	0.546	0.037
rs10175357	2	35015176	C	T	0.038	0.059	0.820	AFR	0.605	0.046
rs305163	2	36163166	G	A	0.172	0.712	0.063	EUR	0.356	0.062
rs7594727	2	96853597	A	C	0.008	0.136	0.869	AFR	0.615	0.361
rs1567803	2	100709450	T	C	0.019	0.642	0.029	EUR	0.429	0.690
rs1196705	2	149927468	G	A	0.015	0.638	0.117	EUR	0.344	1.000
rs298259	2	157033071	C	T	0.160	0.761	0.131	EUR	0.381	1.000
rs1809119	2	174234175	C	A	0.046	0.207	0.917	AFR	0.608	1.000
rs6710083	2	192480837	T	G	0.004	0.078	0.840	AFR	0.633	1.000
rs16851773	2	214897054	G	A	0.126	0.647	0.024	EUR	0.342	1.000
rs6768750	3	7215675	G	A	0.073	0.695	0.976	NAM	0.542	0.063
rs6803290	3	59667208	C	T	0.023	0.636	0.010	EUR	0.435	0.092
rs862500	3	64247689	A	T	0.134	0.821	0.117	EUR	0.485	0.816
rs13097560	3	85212019	A	G	0.046	0.658	0.068	EUR	0.392	0.821
rs7630522	3	108635778	C	T	0.058	0.787	0.262	EUR	0.372	1.000
rs2937673	3	118715077	G	A	0.019	0.553	0.044	EUR	0.327	1.000
rs7665516	4	11243690	G	A	0.023	0.637	0.888	NAM	0.546	0.062
rs10026397	4	41260644	A	G	0.046	0.194	0.932	AFR	0.643	0.105
rs924780	4	148905447	A	C	0.115	0.190	0.942	AFR	0.625	0.335
rs7664076	4	172625303	A	G	0.344	0.803	0.034	EUR	0.334	0.468
rs353373	5	40261722	G	A	0.191	0.863	1.000	NAM	0.530	0.005
rs349323	5	100804840	T	A	0.031	0.629	0.015	EUR	0.417	0.039
rs6866970	5	100978603	G	A	0.015	0.060	0.858	AFR	0.674	0.055
rs17157450	5	104384818	C	T	0.145	0.864	0.903	NAM	0.544	0.061
rs11960137	5	155270659	C	G	0.122	0.875	0.942	NAM	0.614	0.109
rs1107154	5	165319891	T	C	0.061	0.390	0.985	AFR	0.557	0.768
rs11743823	5	168097322	C	T	0.103	0.814	0.947	NAM	0.590	1.000
rs10946113	6	158504679	C	A	0.151	0.896	0.971	NAM	0.607	0.277
rs12701745	7	4558764	G	A	0.012	0.526	0.024	EUR	0.325	0.001
rs7808899	7	14779699	T	G	0.298	0.830	0.146	EUR	0.362	0.100
rs2384982	7	103493636	C	T	0.187	0.938	0.398	EUR	0.424	0.430
rs17150066	8	9347921	G	A	0.088	0.858	0.985	NAM	0.674	0.018
rs2736340	8	11381382	C	T	0.089	0.792	0.879	NAM	0.556	0.518
rs956969	8	62227592	T	C	0.034	0.623	0.049	EUR	0.381	0.617
rs16880715	8	111524781	T	G	0.019	0.091	0.859	AFR	0.641	0.777

rs13280988	8	112439692	A	G	0.031	0.581	0.058	EUR	0.333	1.000
rs2450219	8	119372638	T	C	0.057	0.641	0.058	EUR	0.374	1.000
rs12380601	9	73838451	A	G	0.031	0.583	0.029	EUR	0.360	0.000
rs10751867	10	2339064	T	C	0.351	0.916	0.175	EUR	0.429	1.000
rs2795918	10	55847021	T	C	0.046	0.692	0.850	NAM	0.533	0.025
rs9422913	10	127335597	C	T	0.771	0.118	0.718	EUR	0.399	0.075
rs874189	11	15838275	A	G	0.023	0.689	0.107	EUR	0.405	1.000
rs7927234	11	27392932	C	G	0.012	0.110	0.852	AFR	0.614	0.046
rs1396883	11	34714023	A	G	0.023	0.559	0.029	EUR	0.343	0.257
rs11034734	11	38427247	C	T	0.019	0.512	0.010	EUR	0.318	0.315
rs7124676	11	64069867	A	G	0.008	0.521	0.029	EUR	0.318	0.465
rs1790740	11	66886698	T	C	0.225	0.929	0.170	EUR	0.542	0.490
rs878874	11	94228113	A	G	0.107	0.843	0.985	NAM	0.628	0.581
rs485645	11	125938189	A	G	0.046	0.641	0.966	NAM	0.536	1.000
rs7103088	11	129514516	A	G	0.019	0.111	0.917	AFR	0.713	1.000
rs7961436	12	10134132	G	A	0.057	0.640	0.084	EUR	0.353	1.000
rs7958163	12	112759625	C	A	0.034	0.702	0.172	EUR	0.357	0.105
rs2585897	13	20296979	G	A	0.076	0.857	0.884	NAM	0.631	0.813
rs9576996	13	39813272	G	C	0.223	0.953	0.971	NAM	0.564	0.037
rs9533623	13	43278753	A	G	0.050	0.552	0.010	EUR	0.325	0.215
rs314580	13	88709705	A	G	0.366	0.953	0.403	EUR	0.365	0.472
rs1244379	14	33750102	C	T	0.088	0.635	0.063	EUR	0.341	1.000
rs2251244	14	61093017	C	A	0.717	0.181	0.985	EUR	0.407	0.035
rs10145908	14	62823082	C	T	0.011	0.086	0.830	AFR	0.608	0.335
rs6573746	14	66576406	A	C	0.512	0.056	0.743	EUR	0.344	1.000
rs7164838	15	32754866	G	A	0.080	0.702	0.976	NAM	0.536	1.000
rs8041147	15	35085650	T	C	0.092	0.902	0.223	EUR	0.546	0.072
rs2304580	15	38816959	T	C	0.136	0.842	0.927	NAM	0.555	0.093
rs1453858	15	46091402	T	A	0.206	0.911	0.228	EUR	0.489	0.152
rs4402506	15	91931362	C	T	0.050	0.588	0.015	EUR	0.357	0.201
rs7173885	15	93608135	G	C	0.008	0.249	0.917	AFR	0.581	0.778
rs4787040	16	7500981	T	A	0.080	0.714	0.039	EUR	0.448	0.819
rs9923547	16	12685472	A	C	0.011	0.258	0.942	AFR	0.612	0.234
rs7211426	17	51009547	A	G	0.092	0.212	0.951	AFR	0.637	1.000
rs4812381	20	37420974	A	G	0.046	0.694	0.845	NAM	0.532	0.366
rs6101991	20	38515722	G	A	0.038	0.104	0.853	AFR	0.608	0.690
rs4812831	20	42451674	G	A	0.168	0.904	0.961	NAM	0.586	0.722
rs2836181	21	38477680	T	C	0.016	0.049	0.801	AFR	0.604	1.000
rs2187239	21	42293624	A	C	0.023	0.684	0.819	NAM	0.550	0.057
rs132663	22	34892970	A	T	0.027	0.684	0.893	NAM	0.581	0.639

Modificado de Galanter et al. (2012).

## Anexo 6

Distancias genéticas Fst estadísticamente significativas con las poblaciones de HTA y población general de Tacuarembó.

	Poblaciones	Fst		Poblaciones	Fst
Pob_Gen Tcmbo	HTA	0,06923	Pacientes con HTA	PobGen_Tcmbo	0,06923
	Francia	0,01900		Sotho-Tswana	0,03306
	Hispano-Americanos	0,07322		Yoruba	0,05253
	Pima-México	0,008039		Nigeria	0,09158
	Maya	0,26579		Vascos	0,04007
	Ache	0,71292		Canarias	0,05473
	Guarani	0,39570		Galicia	0,05232
	Guihiba	0,41751		Italia	0,05870
	Caingang	0,08463		Cerdeña	0,11450
	Karitiana	0,58551		Maya	0,07042
	Quechua	0,28227		Ache	0,55693
	Xavante	0,21839		Guarani	0,17721
	Yanomami	0,28852		Guihiba	0,19805
					Karitiana
			Quechua	0,08371	
			Yanomami	0,08439	

## Anexo 7

Distancias Fst significativas entre los HTA y otras poblaciones con el *CYP3A4\*1B*

	Poblaciones	Fst
Pacientes con HTA	Iran_F	0,06923
	Dai China	0,03306
	Han China	0,05253
	Esan Nigeria	0,09158
	Gambia	0,04007
	Sierra Leona	0,05473
	Yoruba	0,05232
	HTA_Embarazadas España	0,05870
	Ibéricos_España	0,11450
	Toscana_Italia	0,07042
	Lima-Perú	0,55693

### Anexo 8

Distribución de los genotipos *CYP3A4\*1B* por sexo en el grupo de HTA

	Femenino (N=75)	p	Masculino (N=27)	p	Diferencia freq alelo	Diferencia Genotipo
A/A	55 (0,733)		23 (0,851)			
<i>CYP3A4*1B</i> A/G	20 (0,266)	p=0,182	3 (0,111)	p=0,07	$\chi^2=0,61$ , 1gl, p=0,433	p=0,069
G/G	0		1 (0,037)			

Distribución de genotipos I/D *Alu-ACE* por sexo en Hipertensos-  
RESPONDEDORES

Sexo	Genotipo ACE	N	HWE	p
F	D/D	18 (0,295)	$\chi^2= 0,005$ , 1gl, p=0,93	p=0,49
	D/I	30 (0,49)		
	I/I	13 (0,213)		
M	D/D	10 (0,384)	$\chi^2= 0,15$ , 1gl, p=0,69	
	D/I	13 (0,5)		
	I/I	3 (0,115)		

## Anexo 9

AMOVA de la Inserción *Alu ACE* entre las poblaciones de estudio y otras a nivel mundial

Componente de varianza	Porcentaje de varianza	Índices de fijación	p<0,05
Intergrupala	11,79	FCT 0,1179	0,000
Interpoblacional	5,10	FSC 0,057	0,000
Intrapoblacional	83,11	FST 0,1689	0,000

AMOVA del *CYP3A4\*1B* entre el grupo de HTA y otras a nivel mundial

Componente de varianza	Porcentaje de varianza	Índices de fijación	p<0,05
Intergrupala	65,41	FCT 0,6541	0,000
Interpoblacional	1,20	FSC 0,034	0,000
Intrapoblacional	33,38	FST 0,6661	0,000