



Universidad de la Sierra Sur

Análisis del Polimorfismo rs1345365 de *ELMO1* como
Marcador de Riesgo de Hipertensión Arterial Esencial

TESIS

Para obtener el título de:

Maestro en Salud Pública

Presenta:

L.N. Felipe de Jesús Parada Luna

Bajo la dirección del
Dr. Sergio Alberto Ramírez García

Miahuatlán de Porfirio Díaz, Oaxaca, Octubre de 2019

Tesis desarrollada por el Lic. Felipe de Jesús Parada Luna, egresado de la maestría en Salud Pública, bajo la dirección del Comité tutorial:

Director: Dr. Sergio Alberto Ramírez García

Asesor 1: Dra. Ruth Ana María González Villoria

Asesor 2: Dr. José Cutberto Hernández Ramírez

Tesis presentada en Examen Profesional el 07 de octubre de 2019, ante el siguiente Jurado:

Presidente: Dr. Hady Keita

Secretario: MSP. Pablo Cataneo Pérez

Vocal: Dr. Sergio Alberto Ramírez García

Suplente: Dr. Roberto Ariel Abeldaño Zúñiga

Suplente: Dra. Lilian Arzeta Pino

Dedicatoria y agradecimientos

Dedicatoria

El presente trabajo está dedicado principalmente a Dios quien es fuente de todo conocimiento, así también a mi familia por haber sido mi apoyo a lo largo de toda mi carrera universitaria, así como de la maestría y a lo largo de mi vida. Principalmente a mis padres quienes han sido parte fundamental para que yo llegara hasta donde estoy. A mi padre porque forjó los cimientos para que me desarrollara en este mundo del saber y a mi madre quien me ha impulsado a ser mejor cada día y a luchar por todo lo que se quiere y se sueña. También quiero dedicar esta tesis a la C. Alejandra quien me apoyo durante la maestría, de la misma forma a mis demás familiares, compañeros y amigos que recorrieron conmigo este camino académico en el que se han compartido grandes experiencias de vida y conocimientos.

Agradecimientos

Gracias a Dios por la vida, la sabiduría y el conocimiento dado, ya que eso fue clave para poder culminar de excelente manera mis estudios de maestría, además de las bendiciones otorgadas mismas que se presentaron de manera diferente día con día.

Quiero agradecer al CONACYT por el apoyo recibido durante la maestría, mismo que fue muy importante para poder lograr culminar de manera oportuna el proyecto de tesis planteado para obtener el grado de maestro en salud pública.

Así mismo mi agradecimiento a la Universidad de la Sierra Sur y personal académico y administrativo que la conforman ya que gracias al buen trabajo realizado ha permitido llevar a buenos términos la culminación de los estudios de maestría. A la división de estudios de posgrado por siempre estar en la mejor disposición para poder trabajar en conjunto y buscar la obtención de los resultados planteados al inicio de la maestría en salud pública para poder culminar de buena manera el proyecto de tesis.

A mis profesores por la paciencia, dedicación, confianza y apoyo brindado a lo largo de estos dos años en los cuales hubo esa transmisión y generación de conocimiento, mismo que se ve reflejado en este proyecto de tesis y en los productos realizados en coordinación con los mismos. Agradezco también al Dr. Sergio por el apoyo brindado

para la realización de este trabajo de tesis ya que su dirección permitió llegar hasta donde estamos ahorita, por lo cual agradezco su paciencia, su apoyo y sus sabios consejos, así como las jaladas de oreja que bien fueron necesarias para poder cumplir de manera ejemplar con este proceso de titulación de maestría, con la generación de una excelente tesis de posgrado en salud pública.

Así mismo gracias también a mi comité tutorial que me acompañó durante estos dos años de maestría, dentro de los cuales aportaron grandes ideas, observaciones y consejos para integrar de manera completa la tesis desarrollada, por lo cual muchas gracias a la Dra., Ana y al Dr. José por su dedicación y trabajo colaborativo con el propósito de que este trabajo saliera adelante de la mejor manera. De la misma manera gracias a los integrantes del jurado quienes aportaron ideas, recomendaciones y cuestionamientos a fin de mejorar aún más el proyecto de tesis.

Gracias a mi familia que creyó en mi para poder subir un escalafón más en mi preparación profesional, gracias a mi padre por sus consejos cuando era niño, y sé que desde el cielo estará muy orgulloso del objetivo logrado, gracias a mi madre quien ha sido parte fundamental para que diera este paso importante en mi vida profesional, en el que me ha transmitido ese espíritu de lucha, esfuerzo, trabajo y tenacidad para cumplir mis sueños, aspiraciones y metas con un sentido muy grande responsabilidad, así como el apoyo de mi tío Joab.

Agradezco también a Alejandra quien me ha acompañado desde el comienzo de mis estudios de posgrado, siendo una parte fundamental para poder realizar mis actividades y proyectos establecidos durante la maestría.

Gracias a mis amigos, compañeros de la universidad, y demás personas que me impulsaron a lograr este importante paso en mi vida, el cual fue posible gracias a que todos me apoyaron para poder llevar de mejor manera mi vida y terminar de buena manera la maestría en salud pública.

Resumen

La hipertensión arterial es una patología caracterizada por el aumento sostenido de la presión arterial sistólica, diastólica o ambas, se considera que es una de las alteraciones cardiovasculares que generan altos índices de morbilidad y mortalidad en el mundo. Los estudios epidemiológicos para la búsqueda de genes candidatos en hipertensión arterial en población mexicana son pocos. El objetivo de esta investigación fue estimar la asociación de la variación de un solo nucleótido (SNP) rs1345365 del gen *ELMO1* con hipertensión arterial esencial. Se incluyeron 906 probandos. El polimorfismo se identificó por PCR-PASA (Polymerase Chain Reaction-Amplification Allele Specific). La asociación se estableció por los modelos de epidemiología genética, análisis de varianza (ANOVA), con prueba post hoc T3 de Dunnett. En los resultados se encontró que el SNP rs1345365 está asociado con la hipertensión arterial (OR=1.093, IC95%=1.002-1.193, p=0.025), su genotipo homocigoto (G/G) se relaciona con mayores niveles de presión arterial sistólica y diastólica comparado con los genotipos homocigoto A/A y heterocigoto A/G mediante las pruebas t de muestras independiente y ANOVA con post-hoc T3 de Dunnett. El estudio reveló que el SNP rs1345365 está asociado con el desarrollo de hipertensión arterial, así mismo mostró mayor asociación con la tensión arterial diastólica, y no con la sistólica. Por lo cual este polimorfismo se encontró asociado como un marcador de riesgo para el desarrollo de hipertensión arterial esencial.

Palabras clave: *hipertensión arterial, asociación, polimorfismo.*

Abstract

Arterial hypertension is a pathology characterized by the sustained increase in systolic or diastolic blood pressure, or both. It is considered to be one of the cardiovascular alterations that generates the highest rates of morbidity and mortality in the world. There are few epidemiological studies that search for candidate genes for arterial hypertension in the Mexican population. The objective of this investigation was to estimate the association of the variation of the single- nucleotide polymorphism (SNP) rs1345365 of the *ELMO1* gene with essential arterial hypertension. 906 probands were included. Polymorphism was identified by PCR-PASA (Polymerase Chain Reaction-Amplification of Specific Alleles). The association was established by genetic epidemiology models and analysis of variance (ANOVA), with Dunnett's T3 post hoc test. In the results showed that the SNP rs1345365 is associated with arterial hypertension (OR = 1.093, 95% CI = 1.002-1.193, p = 0.025), its homozygous genotype (G/G) is related to higher levels of systolic and diastolic blood pressure compared to homozygous A/A and heterozygous A/G genotypes by independent t-test and ANOVA with Dunnett's T3 post hoc. The study revealed that the SNP rs1345365 is associated with the development of arterial hypertension and also showed greater association with diastolic blood pressure, and not with systolic blood pressure. Therefore, this polymorphism was found to be a risk marker for the development of essential arterial hypertension.

Keywords: arterial hypertension, association, polymorphism

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO 1. ANTECEDENTES.....	6
CAPITULO 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	11
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	13
HIPÓTESIS.....	13
CAPÍTULO 3. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL	14
1. Epidemiología de la hipertensión arterial en México y el mundo	14
2. Generalidades de la hipertensión arterial	18
3. Fisiopatología de la hipertensión arterial	19
4. Biomarcadores de la hipertensión arterial.....	25
5. Factores de riesgo	28
6. Genética de la hipertensión arterial.....	31
7. Genética de la hipertensión en México	37
8. <i>ELMO1</i> como gen candidato.....	40
CAPÍTULO 4. JUSTIFICACIÓN	42
OBJETIVOS.....	44
1. Objetivo General.....	44
2. Objetivos Específicos	44
CAPÍTULO 5. METODOLOGÍA	45
1. Tipo de estudio	45
2. Universo o población	45
3. Muestra	45
5. Criterios de inclusión	45
6. Criterios de Exclusión	45
7. Criterios de no Inclusión	46
8. Variables, definiciones de variables, dependiente, independiente.....	46
9. Estudio molecular	46
9.1 Cuantificación de ADN (Método espectrofotométrico).....	46

9.2 Procedimiento:	47
9.3 Diseño de iniciadores.....	48
9.4 Amplificación por PCR alelo-específica para <i>ELMO1</i>	49
10. Análisis estadístico	53
ASPECTOS ÉTICOS.....	54
CAPÍTULO 6. RESULTADOS.....	55
CAPÍTULO 7. DISCUSIÓN	74
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	82
REFERENCIAS	84
ANEXO. Constancia de autorización del uso de datos.	98

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Polimorfismos y genes candidatos asociados al desarrollo de hipertensión arterial esencial en los últimos 3 años.....	9
Tabla 2. Rangos de tensión arterial propuestos por la Secretaria de Salud.....	19
Tabla 3. Genes y Fenotipos relacionados con hipertensión arterial esencial.....	35
Tabla 4. Operacionalización de variables.....	46
Tabla 5. Criterios para el diseño general.....	48
Tabla 6. Consideraciones generales para el diseño.....	49
Tabla 7. Contraste de genotipos observados y esperados, en el análisis de asociación del polimorfismo rs1345365 del gen <i>ELMO1</i>	55
Tabla 8. Frecuencia de alelos y genotipos encontrados en el análisis del polimorfismo rs1345365 del gen <i>ELMO1</i>	56
Tabla 9. Individuos con HAS y sin HAS, por genotipo del polimorfismo rs1345365 del gen <i>ELMO1</i>	58
Tabla 10. Frecuencias de genotipos por tensión arterial diastólica y sistólica.....	59
Tabla 11. Comparación de medias genotipos por tensión arterial diastólica y tensión arterial sistólica. ANOVA con t3 de Dunnet	61

Tabla 12. Prueba Chi cuadrada para la asociación del polimorfismo rs1345365 del gen <i>ELMO1</i> como factor de riesgo para el desarrollo de hipertensión arterial esencial.....	63
Tabla 13. Asociación del polimorfismo rs1345365 con el desarrollo de hipertensión arterial esencial.....	64
Tabla 14. Asociación del polimorfismo rs1345365 del gen <i>ELMO1</i> con la presión arterial sistólica.....	65
Tabla 15. Asociación del polimorfismo rs1345365 del gen <i>ELMO1</i> con la presión arterial diastólica.....	67
Tabla 16. Niveles de glucosa de los individuos que participaron en el estudio por genotipo.....	68
Tabla 17. Niveles de colesterol total de los individuos por genotipo.....	69
Tabla 18. Niveles de triglicéridos de los individuos que participaron en el estudio por genotipo.....	69
Tabla 19. Niveles de colesterol LDL de los individuos por genotipo.....	70
Tabla 20. Niveles de colesterol HDL de los individuos por genotipo.....	71
Tabla 21. Porcentajes de hemoglobina glucosilada de los individuos por genotipo.....	71
Tabla 22. Asociación de los valores de parámetros bioquímicos de riesgo cardiovascular relacionados con la tensión arterial.....	72

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Frecuencia de genotipos hallados en el polimorfismo rs1345365 de <i>ELMO1</i>	57
Gráfico 2. Individuos con y sin hipertensión arterial por genotipo, México, 2018.....	58
Gráfico 3. Valores de la media de los niveles de tensión arterial sistólica por genotipo.....	60
Gráfico 4. Valores de la media de los niveles de tensión arterial sistólica por genotipo.....	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Acción del sistema renina angiotensina en órganos diana.....	23
Figura 2. Factores mecánicos y acciones vasculares del sistema renina, angiotensina, aldosterona.....	27
Figura 3. Amplificación del SNP en <i>ELMO1</i>	50
Figura 4. Termociclador 2720 thermal Cyclor, Applied biosystem.....	51
Figura 5. Electroforesis PAGE 7%, TBE 0.5X, del PCR-PASA para el SNP rs1345365 de <i>ELMO1</i>	52

Abreviaturas

A: Adenina

AI: Angiotensina I.

AI: Angiotensina II.

ADN: Ácido Desoxirribonucleico.

ADNg: Acido desoxirribonucleico genómico.

ARN: Ácido Ribonucleico.

ARNm: Ácido Ribonucleico mensajero.

ARNt: Ácido Ribonucleico de transferencia.

ARNr: Ácido Ribonucleico de transferencia ribosomal.

AHA: Asociación Americana del Corazón.

AT1, AT2, AT4: Receptores de Angiotensina.

ECA: Enzima Convertidora de Angiotensina.

EHW: Equilibrio Hardy Weinberg.

ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición.

EVC: Evento Vascular Cerebral.

G: Guanina.

GLUT 4: Proteína transportadora de glucosa.

HDL: Colesterol de Alta densidad.

HTA: Hipertensión Arterial.

LDL: Colesterol de baja densidad.

MTHFR: Metil Tetrahidrofolato Reductasa

Na: Sodio.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OPS: Organización Panamericana de la Salud.

PA: Presión Arterial.

RA: Renina Angiotensina.

rs: Polimorfismo de tipo estructural.

SNP: Polimorfismo de un solo nucleótido.

SRRA: Sistema Renina Angiotensina Aldosterona.

TAD: Tensión Arterial Diastólica.

TAS: Tensión Arterial Sistólica.

INTRODUCCIÓN

La epidemiología es una ciencia que describe los cambios que ocurren en la salud de los individuos de diferentes zonas geográficas, además de ayudar a identificar los componentes que los conforman y comprender las situaciones que los rigen, para establecer acciones relacionadas que permitan mantener, promover y recuperar la salud de la población, mediante el análisis de la distribución, frecuencia, y factores que están involucrados en la salud de la población, finalmente es competencia de ésta el estudio de las diversas formas y efectos de las respuestas sociales propuestas para atenderlas (1).

Una de las áreas que integran la epidemiología es la epidemiología genética, la cual comenzó a tomar relevancia en la década de 1980 debido a la necesidad de analizar a detalle la interacción de factores de índole genético con el medio ambiente que nos rodea, logrando así entender algunas enfermedades en poblaciones humanas (2). De acuerdo con Morton la epidemiología genética se define como una ciencia que aborda la etiología, distribución y el control de las patologías en familias y las fuentes hereditarias de donde surge enfermedad en las diversas poblaciones (3).

La aplicación de la epidemiología genética, permite la realización de pronósticos de salud en algunos grupos de individuos que comparten características genéticas similares, sobre todo al identificar las interacciones entre genes o del gen con el medio ambiente. En diversas ocasiones resulta difícil identificar este tipo de relaciones, dado que hay una amplia interacción de genes, resultando complicado establecer el papel que tiene cada alteración genética para el desarrollo de alguna enfermedad (4).

En los últimos años las enfermedades crónicas no transmisibles se han convertido en un importante problema de salud pública a nivel mundial, dentro de las que se encuentra la hipertensión arterial (5). En esta patología intervienen distintos factores tales como la alimentación, la nutrición, el estilo de vida, el sedentarismo, el sobrepeso, la obesidad, las comorbilidades y el factor genético (6). Siendo este último el que se analizó en esta investigación, dado que el avance tecnológico ha permitido la realización de estudios a este nivel, para poder establecer diagnósticos oportunos y

tomar medidas preventivas en la salud de la población, lo cual representa un importante avance en la investigación en salud (4).

Las mutaciones son cambios en la secuencia de los nucleótidos, estos cambios son los que provocan la variabilidad genética en la población, algunas enfermedades pueden estar relacionadas con dichas mutaciones una vez que se expresan clínicamente. El estudio de la variabilidad genética humana se realiza principalmente por el análisis de los polimorfismos que de acuerdo con Iniesta son variantes del genoma humano que surgen de mutaciones presentes en algunos individuos, mismos que se transfieren de una descendencia a otra y alcanzan cierta frecuencia en la población tras varias generaciones, por lo que la presencia de esos polimorfismos son el producto del proceso de evolución de las diferentes poblaciones en el mundo (7).

También existen enfermedades determinadas genéticamente por mutaciones o variantes del gen, denominadas de alta penetrancia las cuales están presentes en menor número en la población (menos del 1%). Por otro lado, las variaciones de mayor recurrencia son las que presentan un cambio en una sola base nitrogenada del gen, estos cambios únicos son llamados polimorfismos de un único nucleótido, SNP por sus siglas en inglés (7).

Evaluar la asociación de algunas variaciones genéticas relacionadas con alteraciones fisiológicas, a partir de los diversos estudios moleculares realizados, permiten identificar la presencia de uno o más polimorfismos en diferentes poblaciones estudiadas, lo que dará la oportunidad de ampliar más el conocimiento sobre la etiología de diversas enfermedades, generando así datos relevantes en materia de salud que den pie a mejorar la prevención y tratamiento de algunas patologías (8).

A partir de lo anterior se identifican seis formas del origen de una enfermedad, dentro de las que se encuentran: la causalidad del gen único, cromosomal, multifactorial con alta heredabilidad, multifactorial con baja heredabilidad, causas infecciosas y causas de tipo ambiental, siendo importante la realización de estudios a nivel molecular para valorar los efectos en la salud de la población (9). La hipertensión es una patología crónico degenerativa en la cual cerca del 95% de los casos, no dependen de una causa

única, sino que es de origen poligénico y multifactorial, interviniendo muchos otros elementos presentes en el entorno en el que el individuo se desenvuelve (10).

En el caso de la hipertensión arterial esencial recientemente se le ha considerado como un síndrome de anormalidades metabólicas y estructurales tanto genéticas como adquiridas, mismos que desencadenan alteraciones complejas que terminan en alteraciones cardiovasculares graves. Esta afección ha sido estudiada desde diversos aspectos y en menor grado desde el ámbito genético, lo que resulta oportuno para poder contribuir con el tratamiento y prevención de uno de los principales problemas de salud pública en la actualidad (11).

Recientemente las investigaciones a nivel molecular han permitido identificar diferentes polimorfismos relacionados con la hipertensión arterial, tal es el caso de los estudios realizados por Ríos-González, en los cuales analiza polimorfismos de patologías que se relacionan indirectamente con el desarrollo de hipertensión arterial como dislipidemias, alteraciones cardiovasculares y diabetes mellitus (12), por su parte otras investigaciones abarcan el estudio de diversos polimorfismos que intervienen en la fisiopatología de la hipertensión arterial y que tienen acción en distintas fases de este proceso (13).

En lo referente al polimorfismo rs1345365 del gen *ELMO1* se han realizado estudios previos para su identificación, así como para establecer si existe asociación entre este polimorfismo con diferentes afecciones. Los resultados arrojaron que si existe asociación entre esa variante genética y el descontrol metabólico en los niveles de glucosa, así también otros estudios moleculares en donde se determinó que tiene un papel importante en la fisiología del tejido vascular; al ser un regulador de la morfogénesis y daño vascular, por lo que indirectamente podría estar relacionado con alteraciones tipo cardiovascular como la hipertensión esencial (14,15).

En el presente estudio se determinó la relación de la hipertensión arterial esencial con la presencia del polimorfismo rs1345365 del gen *ELMO1*, teniendo como objetivo de la investigación establecer si el SNP puede ser un marcador de riesgo para hipertensión.

Los apartados que comprenden el presente trabajo enmarcan los componentes generales que forman parte de los elementos que se integraron para poder plantear el estudio sobre la asociación del polimorfismo rs1345365 del gen *ELMO1* con el desarrollo de hipertensión arterial esencial.

En el capítulo uno se presentan los antecedentes se muestran diversos estudios previos que se han realizado en diversas partes del mundo y que se relacionan con hipertensión arterial esencial, señalando algunos de los diversos procesos en los que algunos polimorfismos intervienen y que alteran la tensión arterial.

En lo concerniente al capítulo dos está el planteamiento del problema que se enmarca el alcance que tienen la hipertensión arterial en México y el mundo, además de las implicaciones que esta enfermedad tiene para con la salud de la población, formando parte de este apartado la pregunta de investigación y la hipótesis.

Por otro lado, en el capítulo tres donde se desarrolla el marco teórico conceptual se muestran aspectos generales sobre la hipertensión arterial tales como aspectos epidemiológicos, clínicos y papel que desempeñan diversos organismos en salud para esta enfermedad. Además, se muestran aspectos importantes de la fisiopatología, diagnóstico y factores de riesgo que intervienen para el desarrollo de la hipertensión arterial esencial.

Forma parte también del apartado antes mencionado, lo referente al factor genético, mismo que integra aspectos relevantes del ámbito molecular, estudios genéticos, las características de polimorfismos y el gen *ELMO1* en su relación con el incremento de la presión arterial.

El capítulo cuatro se refiere a la justificación para la realización del presente estudio, así mismo están integrados los diversos objetivos propuestos para el desarrollo de esta investigación. En el capítulo cinco se plantea la metodología donde se muestran los criterios de la muestra, el tipo de estudio, variables y el diseño de los lineamientos a seguir para el análisis de las muestras a partir de un estudio molecular.

En el capítulo seis aparecen los diversos resultados obtenidos a partir del análisis molecular realizado, a partir de la descripción de gráficos y tablas que muestran la relación del polimorfismo rs1345365 del gen *ELMO1* con el desarrollo de hipertensión arterial esencial. En lo que respecta al capítulo siete se presenta la discusión donde se contraponen y cuestionan los resultados encontrados en el presente estudios con otros realizados previamente.

En el penúltimo apartado del documento se encuentran las conclusiones y recomendaciones donde se enmarcan los diversos aspectos a los que se llegó con la realización del presente estudio, así mismo se plantearon diversas recomendaciones para poder ampliar más los resultados hallados en esta tesis.

Por último, se encuentra el apartado de las referencias, en las cuales se muestra toda la bibliografía revisada que sirvió como base para desarrollar el presente estudio.