



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

**VARIANTES *2 Y *3 DEL GEN CYP2C9 E HIPERTENSIÓN ARTERIAL
EN UNA MUESTRA DE CASOS Y CONTROLES PERUANOS**

**TESIS PARA OPTAR
EL TÍTULO DE MÉDICO CIRUJANO
PRESENTADA POR
AARON EDUARDO RODRIGUEZ CALIENES**

**ASESOR
DR. ALBERTO SALAZAR GRANARA**

**LIMA, PERÚ
2020**



Reconocimiento - No comercial - Compartir igual
CC BY-NC-SA

El autor permite entremezclar, ajustar y construir a partir de esta obra con fines no comerciales, siempre y cuando se reconozca la autoría y las nuevas creaciones estén bajo una licencia con los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

**VARIANTES *2 Y *3 DEL GEN CYP2C9 E HIPERTENSIÓN
ARTERIAL EN UNA MUESTRA DE CASOS Y CONTROLES
PERUANOS**

TESIS

**PARA OPTAR
EL TÍTULO DE MÉDICO CIRUJANO**

**PRESENTADA POR
AARON EDUARDO RODRIGUEZ CALIENES**

**ASESOR
DR. ALBERTO SALAZAR GRANARA**

**LIMA, PERÚ
2020**

JURADO

Presidente: Frank Lizaraso Soto, doctor en Medicina

Miembro: Joseph Sánchez Gavidia, magíster en Ciencias Básicas Médicas

Miembro: Oscar Flores Flores, magíster en Ciencias, Salud y Desarrollo Global

A mis padres Katia y Esteban,
quienes me enseñaron a luchar y perseverar;
a mis abuelos Lalo y Norma,
quienes me enseñaron a hacer las cosas
con dedicación; a mi hermano Mateo,
quien me enseñó a enseñar

AGRADECIMIENTOS

A los miembros del Centro de Investigación en Medicina Tradicional y Farmacología (CIMTFAR), por su apoyo.

ÍNDICE

	Págs.
Portada	
Jurado	i
Dedicatoria	ii
Agradecimientos	iii
Índice	iv
Resumen	v
Abstract	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. METODOLOGÍA	5
III. RESULTADOS	10
IV. DISCUSIÓN	13
CONCLUSIONES	16
RECOMENDACIONES	17
FUENTES DE INFORMACIÓN	18

RESUMEN

Objetivo: Determinar la asociación entre las variantes CYP2C9*2 y CYP2C9*3 y la hipertensión arterial esencial en una muestra peruana de pacientes hipertensos y controles normotensos residentes en Lima-Perú.

Metodología: Se trabajó con 90 casos hipertensos y 267 controles. La genotipificación se realizó utilizando el método de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real. Para analizar la asociación entre los polimorfismos y el riesgo de hipertensión arterial, se realizó un análisis de regresión logística multivariado ajustado para edad e índice de masa corporal.

Resultados: La frecuencia alélica del CYP2C9*2 fue de 3.1% y del CYP2C9*3 de 3.5%. La frecuencia del genotipo mutado del CYP2C9*2 (CT + TT) fue significativamente mayor en hipertensos comparados con normotensos (11.1% vs. 4.1%, $p=0.01$). La asociación de las variantes *2 y *3 con hipertensión fue no significativa tras ajustar con las covariables (OR=2.36, 95% IC=0.8–6.6, $p=0.10$ y OR=0.5, 95% IC=0.1–2.4, $p=0.41$, respectivamente).

Conclusión: Las variantes *2 y *3 del CYP2C9 no se asocian a hipertensión arterial en la población peruana estudiada. Se requieren estudios que confirmen estos resultados en otras poblaciones.

Palabras clave: Hipertensión arterial, Polimorfismo Genético, Sistema Enzimático del Citocromo P-450

ABSTRACT

Objective: To determine the association between CYP2C9*2 and CYP2C9*3 polymorphisms and essential hypertension in a peruvian sample of hypertensive patients and normotensive controls residing in Lima-Perú.

Methodology: The present study worked with 90 hypertensive patients and 267 controls. Genotyping was performed using the real-time polymerase chain reaction method. A multivariate logistic regression analysis adjusting for age and body mass index was performed to analyze the association between the polymorphisms and the risk of hypertension.

Results: The allelic frequency of CYP2C9*2 was 3.1% and of CYP2C9*3 was 3.5%. The frequency of mutant CYP2C9*2 genotype (CT + TT) was higher on hypertension patients compared with controls (11.1% vs. 4.1%, $p=0.01$). The association of *2 and *3 polymorphisms with hypertension was not significant after adjustment for age and body mass index (OR=2.36, 95% IC=0.8–6.6, $p=0.10$ and OR=0.5, 95% IC=0.1–2.4, $p=0.41$, respectively).

Conclusion: The *2 and *3 polymorphisms were not associated with hypertension in the studied peruvian population. Studies in other populations are required for the confirmation of these findings.

Key words: Hypertension, Polymorphism Genetic, Cytochrome P-450 Enzyme System

I. INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial (HTA) constituye un trastorno en el que el factor genético actúa concertadamente con la exposición ambiental y, gracias al avance en la genética molecular, hoy se han determinado más de 300 locus y polimorfismos genéticos vinculados al desarrollo de esta patología y se plantean nuevas vías para la regulación de la presión arterial que pueden ser útiles como blancos terapéuticos (1–3). La farmacogenética emplea estos marcadores (polimorfismos) para predecir los resultados y la eficacia del tratamiento farmacológico, definir los riesgos de padecer eventos adversos y dejar de lado la terapia empírica basada en la prueba y error (4).

Recientemente, se ha planteado la participación del sistema enzimático del citocromo P450 (CYP) y la producción de ácidos epoxieicosatrienoicos (EETs del inglés epoxyeicosa-trienoic acids) en la fisiopatología de la HTA (5,6). El ácido araquidónico (AA) es oxidado por el sistema CYP y produce EETs con actividad vascular y natriurética; ambas funciones están relacionadas con la homeostasis de la presión arterial (7). A nivel vascular, se sabe que los EETs actúan como factores hiperpolarizantes derivados del endotelio capaces de inducir la relajación de la pared del vaso generando vasodilatación. De igual manera, estas sustancias son importantes reguladores del filtrado glomerular al activar el intercambiador de Na⁺/H⁺ además de inhibir la reabsorción de Na en el túbulo colector por medio del bloqueo del canal epitelial de Na (ENaC del inglés epitelial Na channel) (8).

Las subfamilias CYP2J (CYP2J2) y CYP2C (CYP2C8, CYP2C9 y CYP2C19) del CYP son los principales responsables de la síntesis de EETs en el sistema cardiovascular (9). Más específicamente, las subfamilias CYP2C8 y CYP2C9 son ambos genes polimórficos y sus mutaciones puntuales 2C8*2, 2C8*3, 2C9*2 y 2C9*3 catalizan la epoxidación del AA en niveles inferiores a lo normal con la deficiente producción de EETs (10,11).

El gen del CYP2C9 consiste en nueve exones que codifican una proteína de 490 aminoácidos (12). A la fecha, existen 66 alelos identificados en el gen CYP2C9 (desde el *1A hasta el *60) (13). Estas variaciones alélicas causadas por el cambio

de un único nucleótido determinan la sustitución por un aminoácido no sinónimo. Algunas de las variantes pueden resultar en un estado funcional defectuoso de la enzima, como las variantes *2, 3, 4, 5, 8, 11, 12, 13 y 31 (13). Los polimorfismos más comunes, el *2 y *3 difieren de la forma silvestre de la enzima (CYP2C9*1) en una mutación puntual: la variante *2 es caracterizada por el intercambio de una citosina por una timina en la posición 430 del gen resultando en la sustitución del aminoácido arginina por cisteína en la posición 144, mientras que la variante *3 es caracterizada por la sustitución de una adenosina por una citosina en la posición 1075 del gen provocando una sustitución del aminoácido isoleucina por una leucina en la posición 359 en el sitio catalítico de la enzima, dando lugar a una actividad enzimática disminuida (14).

El complejo enzimático CYP2C9 representa el 20% del total de la proteína P450 hepática y ahí adquiere el rol de metabolizador de fase 1 para la oxidación de fármacos y compuestos endógenos (14). Esta enzima participa en el metabolismo de diversos fármacos como fenitoína, warfarina y algunos antihipertensivos, por lo que ciertos polimorfismos (CYP2C9*2, CYP2C9*3) alteran el rol metabólico del citocromo además de influenciar la respuesta clínica a determinados fármacos (15).

El losartán, por ejemplo, es oxidado a un metabolito activo, E-3174, con mayor potencia y mayor tiempo de vida media, siendo el responsable de sus efectos hipotensores (16). Es así que las variantes *2 y *3 están asociadas con una formación reducida del metabolito E-3174 (17,18) y nuevas variantes infrecuentes (*36–*56) de este alelo se han visto asociadas a un clearance reducido del fármaco (19). En el caso de candesartán e irbesartán, donde no se generan metabolitos activos, los polimorfismos del *CYP2C9* que disminuyen su actividad enzimática aumentan las concentraciones plasmáticas de estos fármacos y así ponen en riesgo de hipotensión al paciente (20).

En relación al gen *CYP2C9* y sus polimorfismos, estudios que lo relacionan con la HTA ya han sido desarrollados en poblaciones africanas (21), chinas (22) y rusas (23). Sin embargo, los resultados presentados han sido contradictorios e indican que estudios independientes, en distintas poblaciones, deben ser realizados.

Los polimorfismos del CYP2C9, entonces, podrían no solo tienen intervenir en la patogénesis de la HTA, sino también en la farmacocinética del tratamiento antihipertensivo. De esta forma, individuos con estos genotipos desarrollarían una mala respuesta al tratamiento con determinados fármacos cuyas vías metabólicas o farmacodinámicas pudieran verse alteradas; incluso, estas mutaciones resultarían en la manifestación de efectos adversos por alteraciones en el metabolismo de los fármacos en cuestión. Así, una deficiente respuesta a la tratamiento farmacológico puede asociarse a una baja adherencia, requerimiento de complejos regímenes antihipertensivos y, de hecho, la percepción individual del paciente de una mala respuesta al tratamiento (24).

El presente estudio se basa en un enfoque actualizado de conocimientos para el adecuado control de la HTA. Con el descubrimiento de biomarcadores genéticos, la respuesta al tratamiento con determinados fármacos podría ser predicha. El resultado final es brindar al paciente un tratamiento personalizado en función de los datos genéticos obtenidos. De hecho, el Consorcio de Implementación de Farmacogenética Clínica (CPCI del inglés Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium) comparte varias guías clínicas que presentan recomendaciones basadas en evidencia para el tratamiento farmacológico basado en datos genéticos; sin embargo, este proyecto carece de información respecto al uso de medicamentos antihipertensivos (25).

Por lo tanto, el objetivo general del presente estudio fue determinar si los polimorfismos *2 y *3 del CYP2C9 están asociados con la HTA en un grupo de pacientes hipertensos y controles normotensos residentes en Lima-Perú. De igual manera, los objetivos secundarios fueron comparar las características antropométricas y clínicas entre casos y controles; determinar y comparar las frecuencias alélicas y genotípicas entre casos y controles; determinar la existencia de diferencias en la adherencia a fármacos antihipertensivos, la frecuencia de reacciones adversas a medicamentos, el tipo de terapia antihipertensiva entre los pacientes hipertensos con los genotipos *2 o *3.

La presente tesis tiene como hipótesis que los polimorfismos *2 y *3 del CYP2C9 sí se encuentran asociados con la HTA en un grupo de pacientes hipertensos y controles normotensos residentes en Lima-Perú.

II. METODOLOGÍA

2.1 Tipos y diseño del estudio

Estudio observacional, analítico, tipo casos y controles, de corte transversal, retrospectivo, de fuente secundaria.

El estudio fue observacional porque no se manipularon ni controlaron las variables. Fue analítico tipo casos y controles porque este tipo de diseño permite demostrar asociación entre la variable de interés (polimorfismo) y el resultado (HTA). Fue de corte transversal porque no se hizo seguimiento a la población estudiada. Fue retrospectivo de fuente secundaria, porque el investigador extrajo los datos de interés de una base de datos obtenidos en el pasado.

2.2 Diseño muestral

Población de estudio

La población de estudio fueron todos los voluntarios reclutados en el Ensayo de Farmacogenética Clínica de la Hipertensión Arterial (EFCHA) residentes en Lima, Perú.

Muestra

El tipo de muestreo fue no probabilístico, por conveniencia. Se trabajó con 357 participantes, siguiendo la proporción de un caso por tres controles.

Criterios de selección

Criterios de inclusión del caso

Los criterios de inclusión para los casos fueron tener entre 30 y 70 años, diagnóstico previo de HTA esencial o nuevo diagnóstico confirmado por médicos investigadores según criterios de la Octava Reunión del Comité Nacional de la Asociación Médica Americana (Eighth Joint National Committee) y tener capacidad para proporcionar el consentimiento informado.

Criterios de exclusión del caso

Los criterios de exclusión para los casos fueron tener el diagnóstico de HTA secundaria o de cualquier otra enfermedad, excepto dislipidemia.

Criterios de inclusión del control

Los criterios considerados fueron presentar entre 30 y 70 años, ser normotenso y capacidad para proporcionar el consentimiento informado.

Criterios de exclusión del control

Los criterios de exclusión para los controles fueron el diagnóstico o sospecha de HTA esencial o secundaria y de cualquier otra enfermedad, excepto dislipidemia.

2.3 Técnicas y procedimientos de recolección de datos

Se realizó el análisis preliminar de la data obtenida del estudio en ejecución EFCHA que buscó explorar la relación entre los polimorfismos de genes del sistema renina angiotensina aldosterona y el citocromo P450, con los fenotipos clínicos de la HTA y la respuesta a fármacos hipertensivos en poblaciones peruanas y brasileñas. Se contó con una base de datos de 399 participantes voluntarios reclutados a través de publicidad local desde marzo del 2016 hasta junio del 2019. Dicho estudio se realizó en las siguientes sedes de reclutamiento: la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres (FMH-USMP), Compañía Británica de Bomberos Voluntarios Victoria 8, Compañía de Bomberos Voluntarios Olaya número 13 y en la Escuela de Supervivencia en el Mar de la Fuerza Aérea del Perú.

Los criterios de inclusión que se emplearon en el EFCHA fueron tener entre 20 y 70 años, ser residente de Lima, haber nacido en el Perú y se excluyeron a los participantes con el diagnóstico de HTA esencial que presentaron el diagnóstico de cualquier otra comorbilidad excepto dislipidemia.

El investigador del presente estudio se encargó de la extracción de variables antropométricas, clínicas, terapéuticas y los resultados de la genotipificación desde la base de datos del EFCHA. También contribuyó en el reclutamiento de participantes, mas no participó directamente en la consulta médica, la extracción del ADN ni del proceso de genotipificación.

Consulta médica

La consulta fue realizada por médicos investigadores designados por el Centro de Investigación en Medicina Tradicional y Farmacología de la FMH-USMP. Los participantes fueron citados en 2 visitas. La primera visita estuvo dividida en dos partes. La primera parte consistió en la explicación a los participantes sobre los objetivos del trabajo, las ventajas y/o beneficios, riesgos, daños o inconvenientes, resolución de dudas y dialogar diversos aspectos sobre la confidencialidad de la información antes de la firma del consentimiento informado. Posterior a la firma se inició la entrevista médica donde se obtuvieron datos de filiación, antecedentes, manejo actual de la HTA, terapia farmacológica, se realizó el test de adherencia de Morisky Green Levine, etc. e incluyó también el examen físico. La segunda parte consistió en la extracción de la muestra biológica.

La segunda visita tuvo como objetivo brindar el informe de los marcadores moleculares, informar al paciente sus resultados y resolver sus dudas, así como también la firma de la recepción de estos resultados.

Extracción del ADN

Se recolectaron muestras de 5 ml de sangre por punción venosa, las cuales fueron almacenadas en tubos con el anticoagulante EDTA, y se realizaron raspados bucales con hisopos microbiológicos. El ADN genómico fue extraído de leucocitos periféricos y células bucales. El procedimiento se realizó en el laboratorio del CIMTFAR.

Genotipificación

La Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (RT-PCR del inglés Real Time Polymerase Chain Reaction) se realizó para determinar los polimorfismos del gen CYP2C9, empleando sondas TaqMan. Antes de iniciar el procedimiento se verificó la concentración del ADN procesado usando el espectrofotómetro Thermo Scientific™ NanoDrop™ One.

Luego, para cada muestra se mezclaron en los contenedores de la placa del RT-PCR: 5.0µL de solución Master Mix 2x™ (ADN polimerasa, dinucleótidos trifosfato),

3.5µL de agua ultrapura Milli-Q®, 0.5µL del reactivo TaqMan™ (sonda con el fluoróforo y quencher) y finalmente se agregaron 1.0µL del ADN, teniendo un volumen total de 10µL. Se realizó, entonces, un PCR convencional agregando fluoróforos específicos. La mezcla se llevó al equipo LightCycler® 480 II de Roche, en el cual se programó un paso inicial que consistió en denaturación a 95°C por 5 minutos, seguido de 35 ciclos que comprendieron en una denaturación a 95°C por 30 segundos, un paso de hibridación a 55°C por 45 segundos y un paso de extensión a 72°C por 2 minutos.

Finalmente, se realizó una extensión a 72°C por 10 minutos. El equipo por fluorescencia presentó en simultáneo la variación genética en base a los fluoróforos utilizados. El RT-PCR se realizó en las instalaciones de la Facultad de Medicina de Ribeirão Preto de la Universidad de São Paulo.

2.4 Procesamiento y análisis de datos

El análisis fue realizado empleando el paquete estadístico STATA® versión 15. Para comparar las frecuencias genotípicas esperadas con las observadas, se evaluó el equilibrio de Hardy-Weinberg a través de la prueba chi-cuadrado.

Los datos cuantitativos fueron presentados como mediana junto con sus rangos intercuartílicos. La existencia de diferencias significativas de las variables clínicas (índice cintura cadera, IMC, frecuencia cardíaca, presión arterial sistólica, presión arterial diastólica y colesterol total) entre los grupos de hipertensos y normotensos fue evaluada empleando la prueba U de Mann Whitney en función a la distribución no normal de la data.

Se trabajó con la prueba F de Fisher para analizar la existencia de diferencias entre las variables adherencia al tratamiento antihipertensivo, reacciones adversas medicamentosas (RAMs) y tipo de terapia antihipertensiva en función de los genotipos agrupados en homocigotos + heterocigotos versus forma silvestre, siguiendo un modelo de herencia dominante.

Las frecuencias alélicas fueron halladas al dividir la cantidad de alelos mutados (alelo T para el CYP2C9*2 y alelo C para el CYP2C9*3) entre la suma de la cantidad

de alelos mutados y no mutados. Las frecuencias alélicas y genotípicas se compararon mediante la prueba Chi-cuadrado y la prueba F de Fisher, cuando correspondieron.

La fuerza de asociación entre los genotipos y el riesgo de HTA fue calculada a través de los odds ratio (OR) empleando un intervalo de confianza del 95% (95% CI). Se ajustaron las covariables edad e índice de masa corporal (IMC) en un modelo de regresión logística multivariado. Se aplicó un modelo genético dominante que comparó las formas homocigotas + heterocigotas versus las formas silvestres de los genes en cuestión.

Para todas las pruebas, un alfa < 0.05 se consideró como estadísticamente significativo.

2.5 Aspectos éticos

La presente investigación no utilizó consentimiento informado por trabajar con una fuente de datos secundaria. El protocolo fue aprobado por la Junta de Revisión Institucional y el Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) de la FMH-USMP con RCEI-18. De igual manera, para el EFCHA, el consentimiento informado y todos los demás documentos fueron aprobados por CIEI de la FMH-USMP antes de dar inicio a la recolección de datos. Tras la obtención del permiso por parte del investigador principal del EFCHA, se obtuvo el acceso a la base de datos. Dicha base de datos solo está disponible para los afiliados al CIMTFAR que sean investigadores del EFCHA y para el investigador del presente estudio. La información respecto a la identidad de los participantes se mantuvo en confidencialidad sin relevar datos que permitan identificarlos. Esto se logró ocultando los nombres y apellidos y trabajando solamente con siglas formadas por las iniciales de cada participante.

III. RESULTADOS

Se analizaron un total de 90 casos hipertensos y 267 controles normotensos. La distribución genotípica de ambos polimorfismos demostró que las variantes se encuentran en equilibrio de Hardy Weinberg ($p > 0.05$). En la Tabla 1 se presentan las características clínico-laboratoriales de los participantes. La edad, el índice cintura-cadera, el IMC, la presión arterial sistólica y diastólica fueron significativamente mayores en los hipertensos comparados con los normotensos.

Tabla 1. Características clínico-laboratoriales de los participantes

Característica	Hipertensos (n=90)	Normotensos (n=267)	P valor
Edad	60 [51–66]	42 [30–56]	<0.05
ICC			
Mujer	1.01 [0.94–1.07]	0.89 [0.83–0.94]	<0.05
Varón	1 [0.97–1.04]	0.97 [0.91–1.02]	<0.05
IMC (kg/m ²)	29 [26.4–33]	26.84 [24.34–30]	<0.05
FC (lat/min)	73 [64–80]	69 [62–76]	<0.05
PAS (mmHg)	138.5 [120–150]	112 [104–122]	<0.05
PAD (mmHg)	80 [70–95]	73.33 [69–80]	<0.05
CT (mg/dL)	184 [156–200]	177 [157.5–177]	0.449

Se expresan las medianas junto con los rangos intercuartílicos dentro de los corchetes.

ICC: Índice cintura cadera. IMC: Índice de masa corporal. FC: Frecuencia cardíaca. PAS: Presión arterial sistólica. PAD: Presión arterial diastólica. CT: Colesterol total.

Las diferencias entre la adherencia al tratamiento antihipertensivo, la presencia de reacciones adversas medicamentosas y el tipo de terapia en función de la presencia de las variantes se presentan en la Tabla 2. No existieron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos para ninguna de las variables analizadas; sin embargo, el 50% de los hipertensos con el genotipo CYP2C9*2 CT+TT reportaron RAMs, mientras que para el genotipo CC, solo 27% reportaron RAMs.

Tabla 2. Adherencia al tratamiento, reacciones adversas y tipo de terapia entre las variantes CYP2C9*2 y *3

	CYP2C9*2		p valor	CYP2C9*3		p valor
	CC	CT+TT		AA	AC+CC	
Adherencia^a						
sí	9 (14)	2 (20)	0.686	10 (14)	1 (50)	0.296
no	55 (86)	8 (80)		62 (86)	1(50)	
RAM						
sí	18 (27)	4 (50)	0.227	21 (29)	1 (100)	0.297
no	48 (72)	4 (50)		52 (71)	0 (0)	
Terapia						
Monoterapia	30 (41)	5 (50)	0.735	35 (43)	0 (0)	0.508
Combinada^b	44 (59)	5 (50)		47 (57)	2 (100)	

Los porcentajes se expresan dentro de los paréntesis. RAM: reacción adversa medicamentosa.

^a Basada en el test de Morisky Green Levine.

^b A partir de 2 o más medicamentos.

La Tabla 3 muestra la distribución de las frecuencias genotípicas y alélicas para los dos polimorfismos estudiados. La frecuencia del alelo mutado de la variante CYP2C9*2 (alelo T) en el total de participantes fue de 3.1%, mientras que del CYP2C9*3 (alelo C) fue de 3.5%. La frecuencia del alelo mutado del CYP2C9*2 fue mayor en el grupo de hipertensos comparado con el de normotensos (6.1% vs. 2%, $p=0.01$) y se observó asociación significativa con el riesgo de HTA (OR=2.9, 95% IC=1.3–6.9, $p=0.01$). Por otro lado, la frecuencia del alelo mutado del CYP2C9*3 fue mayor en los controles (2.2% vs. 3.9%, $p=0.35$) sin presentar asociación significativa con HTA (OR=0.7, 95% IC=0.3–1.6, $p=0.44$).

En el grupo de hipertensos se encontró una mayor frecuencia del genotipo mutado del CYP2C9*2 (genotipo CT+TT) en comparación con los controles (11.1% vs. 4.1%, $p=0.01$). En cuanto al CYP2C9*3 la frecuencia del genotipo mutado (genotipo AC+CC) fue mayor en normotensos sin alcanzar la significancia estadística (2.2% vs. 4.1%, $p=0.52$).

Inicialmente, se observó la asociación entre el genotipo mutado del CYP2C9*2 con el riesgo incrementado de HTA (OR=2.9, 95% IC=1.2–7, p=0.02); sin embargo, luego de ajustar las variables edad e IMC, esta asociación no alcanzó significancia estadística (OR=2.36, 95% IC=0.8–6.6, p=0.10). Por otro lado, la asociación entre el genotipo mutado del CYP2C9*3 con HTA no fue significativa (OR=0.5, 95% IC=0.1–2.4, p=0.41).

Tabla 3. Genotipos del CYP2C9*2 y *3 en casos hipertensos comparados con controles normotensos.

Gen	Genotipo/ Alelo	Hipertensos	Normotensos	OR (95% IC)	p valor	OR (95% IC) ajustado ^a	p valor
CYP2C9*2	CC	80	256				
	CT + TT	10	11	2.9 (1.2–7.1)	0.02	2.36 (0.8–6.6)	0.10
	C	169	523				
	T (*2)	11	11	2.9 (1.3–6.9)	0.01		
CYP2C9*3	AA	88	256				
	AC + CC	2	11	0.5 (0.1–2.4)	0.41	0.5 (0.1–2.7)	0.43
	A	176	513				
	C (*3)	4	21	0.7 (0.3–1.6)	0.44		

^a Ajustado para edad e índice de masa corporal.

IV. DISCUSIÓN

Este es el primer estudio realizado en una población peruana que investiga la asociación entre la variante *2 y *3 del gen CYP2C9 con la HTA esencial. También, se trata del segundo trabajo en determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de estos dos polimorfismos en el Perú (26), aunque la prevalencia de otros genes ya ha sido estudiada (27). El presente estudio no demostró asociación entre las variantes *2 y *3 del CYP2C9 con la HTA en la población incluida. No obstante, se observó que las frecuencias del genotipo y alelo mutado de la variante *2 fueron mayores en el grupo de hipertensos comparado con el de controles normotensos.

En relación a las características clínico-laboratoriales, no se encontraron diferencias significativas en los niveles del CT entre los casos y controles, a pesar de presentar mayores valores en los hipertensos. Como era de esperarse, los valores de la presión arterial sistólica y diastólica fueron mayores en el grupo de hipertensos, así como el IMC y el ICC. Las diferencias observadas evidencian la presencia de cierta heterogeneidad de estos factores cardiovasculares entre los casos y controles. Incluso, se observó un mayor rango etario en el grupo de casos comparado con los controles.

La presencia de los polimorfismos del citocromo P-450 puede influenciar tanto en la farmacocinética como en la farmacodinámica de la terapia antihipertensiva (18,28). Sin embargo, los resultados no demostraron diferencias significativas de la adherencia a la terapia antihipertensiva, la presencia de RAM y del uso de monoterapia o terapia combinada entre los participantes hipertensos que presentaban las variantes mutadas *2 y *3 comparados con los que no la presentaban.

La adherencia depende de diversos factores: demográficos, edad, educación, regímenes complejos farmacológicos, desempleo, etc. (24), los cuales no fueron controlados en el presente estudio por lo que el efecto aislado del polimorfismo no se pudo evaluar. También, se ha descrito que los polimorfismos del CYP2C9 afectan la farmacocinética de la familia de los antagonistas del receptor de angiotensina II (ARA II), sin tener evidencia de que afecte otras familias de

antihipertensivos (20). De esta forma, sería necesario evaluar la asociación de estos polimorfismos con los efectos adversos y el régimen farmacológico en cohortes de hipertensos bajo un mismo régimen farmacológico (ARA II u otras familias de antihipertensivos) controlando las variables externas que pudieran influenciar en la adherencia.

Las frecuencias alélicas del CYP2C9*2 y CYP2C9*3 fueron de 3.1% y de 3.5%, respectivamente. Al comparar estos resultados con el único trabajo realizado a nivel nacional, las frecuencias alélicas de la variante *2 y *3 fueron menores a las reportadas en dicho estudio (3.1% vs 4.6% y 3.5% vs 6.2%, respectivamente) (26). Esta diferencia puede deberse a la heterogeneidad de las frecuencias de las variantes del CYP2C9 que ya ha sido reportada en diversas poblaciones (29). De igual forma, la frecuencia de la variante *2 fue superada por resultados de poblaciones ecuatorianas (30), mexicanas (31), brasileñas (32), chilenas (33) y españolas (34). Por otro lado, la frecuencia de la variante *3 coincidió con las reportadas en poblaciones bolivianas (35), brasileñas (32), chilenas (33) y mexicanas (31).

Un hallazgo relevante fue que los pacientes peruanos con HTA presentaban mayor frecuencia del alelo y genotipo mutado del CYP2C9*2 en comparación con los controles. Para determinar la asociación se realizó un análisis de regresión logística multivariado ajustado para edad e IMC.

Los resultados de este análisis demostraron que no hubo asociación entre el genotipo mutado del CYP2C9*2 ni del CYP2C9*3 con la HTA. Estos hallazgos coinciden con lo observado en diferentes poblaciones. Dreisbach et al no encontró asociación significativa entre el alelo *2 (OR = 0.48, IC 95% = 0.14–1.67, p = 0.25), ni el alelo *3 (OR = 0.83, IC 95% = 0.19–3.63, p = 0.81) con HTA en una población africana-americana (21). Por otro lado, Kumar et al. demostró un incremento en el riesgo de HTA con las variantes *2 (OR = 3.2, IC 95% = 0.6-15.9, p = 0.1) y *3 (OR = 1.2, IC 95% = 0.5-2.7, p = 0.6) pero sin significancia estadística en una población de la India (36).

A pesar de que se conocen las funciones de los EETs en la homeostasis vascular y que los polimorfismos en el CYP2C9 conllevan a una deficiente producción de estos productos, motivo por el cual estas mutaciones podrían adquirir un rol en la fisiopatología de la HTA, se debe tener en cuenta que esta enfermedad es compleja y requiere de la interacción de factores genéticos y ambientales. Además, para el desarrollo de esta entidad participan diversas vías y productos endógenos que definen un fenotipo diferente de HTA en cada paciente en lo que respecta a la fisiopatología (37).

Otros polimorfismos que podrían tener un rol en la HTA tras alterar la producción de los EETs han sido estudiados. Se ha reportado asociación con la HTA para los polimorfismos del CYP2J2 (38), CYP2C19 (23,39,40) y CYP2C8 (23). Sin embargo, también existen otros trabajos con resultados contradictorios para estos mismos genes (21,36,41,42), lo cual resalta la heterogeneidad de los fenotipos de la HTA y cómo diferentes vías fisiológicas actúan en algunos pacientes en compensación de otras vías que se ven afectadas, todo esto conduciendo finalmente a la génesis de la HTA (37). Además, es necesario considerar las diferencias demográficas y étnicas de las poblaciones estudiadas en los trabajos con resultados contradictorios.

Esta investigación tuvo ciertas limitaciones. En primer lugar, al no haber hecho un muestreo probabilístico los resultados del análisis se circunscriben a la población estudiada. En segundo lugar, se estudiaron solo dos polimorfismos del CYP y por lo tanto no se controló la influencia de otros genes en los resultados. En tercer lugar, existió heterogeneidad respecto a datos clínicos y antropométricos entre los casos hipertensos y los controles. Finalmente, dado que la HTA es una entidad compleja multifactorial que requiere no solo factores genéticos para su génesis, diversas variables confusoras ambientales, clínicas y demográficas de los participantes no fueron controladas en el presente estudio por trabajar con una fuente secundaria. Por lo tanto, el efecto de dichas variables pudo influir en los resultados obtenidos.

CONCLUSIONES

No hubo asociación significativa entre los polimorfismos CYP2C9*2 y CYP29*3 con HTA en la población de Lima-Perú estudiada. Las frecuencias alélicas para la variante *2 y *3 fueron inferiores a las reportadas previamente en la población peruana. Se observó una frecuencia mayor del genotipo y alelo mutado del CYP2C9*2 en los hipertensos. No hubo diferencias en la adherencia al tratamiento, la presencia de reacciones adversas medicamentosas y el tipo de terapia antihipertensiva entre los hipertensos con los polimorfismos estudiados e hipertensos sin los polimorfismos.

RECOMENDACIONES

Considerando la heterogeneidad descrita para las variantes del CYP2C9 dentro de una misma población, sería razonable esperar resultados distintos a los obtenidos en otro trabajo realizado en la población peruana. Por lo tanto, los presentes hallazgos no excluyen la posibilidad de que estos polimorfismos se encuentren asociados a esta patología en diferentes poblaciones peruanas o en poblaciones extranjeras.

La HTA requiere de la interacción entre factores ambientales y genéticos para su desarrollo. Para determinar que la mutación de un gen aumente el riesgo de esta dolencia se requieren estudios que incluyan múltiples cohortes con tamaños más grandes, provenientes de diferentes grupos étnicos, en donde se controlen la mayor cantidad posible de variables ambientales, demográficas, de historia familiar y considerar la influencia de otros polimorfismos ya reportados en la literatura que puedan influir en la fisiopatología de esta entidad para, de esta forma, aproximarse lo máximo posible a analizar el efecto aislado del polimorfismo de un gen. Conociendo estos marcadores, la farmacogenética serviría para planificar el tratamiento antihipertensivo personalizado en el futuro.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Kasper D, Fauci A, Hauser S, et al. Harrison's principles of internal medicine. 19th ed. McGraw Hill Education Medical; 2015.
2. Azam A, Azizan E. Brief Overview of a Decade of Genome-Wide Association Studies on Primary Hypertension. *Int J Endocrinol*. 2018; 2018:1–14.
3. Padmanabhan S, Aman A, Dominiczak A. Genomics of hypertension. *Pharmacol Res*. 2017;121:219–29.
4. Cooper R, Johnson J. Hypertension pharmacogenomics: in search of personalized treatment approaches. *Nat Rev Nephrol*. 2016; 12(2):110–22.
5. Imig J. Epoxyeicosatrienoic Acids and 20-Hydroxyeicosatetraenoic Acid on Endothelial and Vascular Function. *Adv Pharmacol*. 2016; 77:105–41.
6. Bellien J, Joannides R, Richard V, et al. Modulation of cytochrome-derived epoxyeicosatrienoic acids pathway: A promising pharmacological approach to prevent endothelial dysfunction in cardiovascular diseases? *Pharmacol Ther*. 2011; 131(1):1–17.
7. Xu X, Zhang X, Wang D. The roles of CYP450 epoxygenases and metabolites, epoxyeicosatrienoic acids, in cardiovascular and malignant diseases. *Adv Drug Deliv Rev*. 2011; 63(8):597–609.
8. Capdevila J, Wang W. Role of cytochrome P450 epoxygenase in regulating renal membrane transport and hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2013; 22(2):163–9.
9. Imig J. Epoxides and Soluble Epoxide Hydrolase in Cardiovascular Physiology. *Physiol Rev*. 2012; 92(1):101–30.
10. Zordoky B, El-Kadi A. Effect of cytochrome P450 polymorphism on arachidonic acid metabolism and their impact on cardiovascular diseases. *Pharmacol Ther*. 2010; 125(3):446–63.
11. Bellien J, Joannides R. Epoxyeicosatrienoic Acid Pathway in Human Health and Diseases. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2013;61(3):188–96.
12. Goldstein J, Morais S. Biochemistry and molecular biology of the human CYP2C subfamily. *Pharmacogenetics*. 1994;4(6):285–99.
13. Pharmacogene Variation Consortium. CYP2C9 [Internet]. [citado 26 de julio del 2019]. Disponible en: <https://www.pharmvar.org/gene/CYP2C9>
14. Daly A, Rettie A, Fowler D, et al. Pharmacogenomics of CYP2C9: Functional

- and Clinical Considerations. *J Pers Med*. 2017; 8(1):1.
15. Taavitsainen P, Kiukaanniemi K, Pelkonen O. In vitro inhibition screening of human hepatic P450 enzymes by five angiotensin-II receptor antagonists. *Eur J Clin Pharmacol*. 2000; 56(2):135–40.
 16. Yasar U, Tybring G, Hidestrand M, et al. Role of CYP2C9 polymorphism in losartan oxidation. *Drug Metab Dispos*. 2001; 29(7):1051–6.
 17. Cabaleiro T, Román M, Ochoa D, et al. Evaluation of the relationship between sex, polymorphisms in CYP2C8 and CYP2C9, and pharmacokinetics of angiotensin receptor blockers. *Drug Metab Dispos*. 2013; 41(1):224–9.
 18. Yasar U, Forslund-Bergengren C, Tybring G, et al. Pharmacokinetics of losartan and its metabolite E-3174 in relation to the CYP2C9 genotype. *Clin Pharmacol Ther*. 2002; 71(1):89–98.
 19. Wang Y-H, Pan P-P, Dai D-P, et al. Effect of 36 CYP2C9 variants found in the Chinese population on losartan metabolism in vitro. *Xenobiotica*. 2014; 44(3):270–5.
 20. Uchida S, Watanabe H, Nishio S, et al. Altered pharmacokinetics and excessive hypotensive effect of candesartan in a patient with the CYP2C9*1/*3 genotype. *Clin Pharmacol Ther*. 2003; 74(5):505–8.
 21. Dreisbach A, Japa S, Sigel A, et al. The Prevalence of CYP2C8, 2C9, 2J2, and Soluble Epoxide Hydrolase Polymorphisms in African Americans With Hypertension. *Am J Hypertens*. 2005; 18(10):1276–81.
 22. Yu B, Luo C-H, Wang D, et al. CYP2C9 allele variants in Chinese hypertension patients and healthy controls. *Clin Chim Acta*. 2004; 348(1–2):57–61.
 23. Polonikov A, Bykanova M, Ponomarenko I, et al. The contribution of CYP2C gene subfamily involved in epoxygenase pathway of arachidonic acids metabolism to hypertension susceptibility in Russian population. *Clin Exp Hypertens*. 2017; 39(4):306–11.
 24. World Health Organization. Adherence To Long-Term Therapies: Evidence For Action. World Health Organization; 2003. p. 129-134.
 25. Relling M, Klein TE. CPIC: Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium of the Pharmacogenomics Research Network. *Clin Pharmacol Ther*. 2011;89(3):464–7.
 26. Alvarado A, Muñoz A, Loja B, et al. Estudio de las variantes alélicas

- CYP2C9*2 y CYP2C9*3 en muestras de población mestiza peruana. *Biomédica*. 2019; 39(3):601–10.
27. Lizaraso F, Medina F, Salazar M, et al. Evaluación de la prevalencia de los genes Polimórficos de la Enzima Convertidora de Angiotensina y del Angiotensinógeno en Hipertensos Primarios de la Población Peruana. *Rev Horiz Med*. 2002; 2 (1/2):6-26.
 28. Hallberg P, Karlsson J, Kurland L, et al. The CYP2C9 genotype predicts the blood pressure response to irbesartan: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs Atenolol (SILVHIA) trial. *J Hypertens*. 2002; 20(10):2089–93.
 29. García-Martín E, Martínez C, Ladero J, et al. Interethnic and intraethnic variability of CYP2C8 and CYP2C9 polymorphisms in healthy individuals. *Mol Diag Ther*. 2006; 10(1): 29–40.
 30. Dorado P, Beltrán L, Machín E, et al. Losartan hydroxylation phenotype in an Ecuadorian population: Influence of CYP2C9 genetic polymorphism, habits and gender. *Pharmacogenomics*. 2012; 13(15):1711–7.
 31. Castelán-Martínez O, Hoyo-Vadillo C, Sandoval-García E, et al. Allele frequency distribution of CYP2C9*2 and CYP2C9*3 polymorphisms in six Mexican populations. *Gene*. 2013;523(2):167–72.
 32. Soares R, Santos P, Machado-Coelho G, et al. CYP2C9 and VKORC1 polymorphisms are differently distributed in the Brazilian population according to self-declared ethnicity or genetic ancestry. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012; 16(8):957–63.
 33. Roco A, Quiñones L, Agúndez J, et al. Frequencies of 23 functionally significant variant alleles related with metabolism of antineoplastic drugs in the chilean population: comparison with caucasian and asian populations. *Front Genet*. 2012; 3:229.
 34. Dorado P, Sosa-Macias M, Peñas-Lledó E, et al. CYP2C9 allele frequency differences between populations of Mexican-Mestizo, Mexican-Tepehuano, and Spaniards. *Pharmacogenomics J*. 2011; 11:108–12.
 35. Bravo-Villalta V, Yamamoto K, Nakamura K, et al. Genetic polymorphism of CYP2C9 and CYP2C19 in a Bolivian population: an investigative and comparative study. *Eur J Clin Pharmacol*. 2005; 61(3):179–84.
 36. Kumar A, Kumar S, Umamaheswaran G, et al. Cytochrome P450 genetic

- variants and hypertension risk in South Indian population. *J Young Pharm.* 2014; 6(1):22–6.
37. Korner PI. The phenotypic patterns of essential hypertension are the key to identifying “high blood pressure” genes. *Physiol Res.* 2010; 59(6):841–57.
 38. Polonikov V, Ivanov V, Solodilova M, et al. A Common Polymorphism G-50T in Cytochrome P450 2J2 Gene Is Associated with Increased Risk of Essential Hypertension in a Russian Population. *Dis Markers.* 2008; 24(2):119.
 39. Shin D, Kwon J, Park A, et al. Association of CYP2C19*2 and *3 genetic variants with essential hypertension in Koreans. *Yonsei Med J.* 2012; 53(6):1113–9.
 40. Ma Y, Ni W, Zhu W, et al. Association of genetic polymorphisms of CYP 2C19 with hypertension in a Chinese Han population. *Blood Press.* 2011; 20(3):166–70.
 41. King L, Gainer J, David G, et al. Single nucleotide polymorphisms in the CYP2J2 and CYP2C8 genes and the risk of hypertension. *Pharmacogenet Genomics.* 2005; 15(1):7–13.
 42. Ali-Amjad Q. Single Nucleotide Polymorphism of the CYP2J2 Gene is Associated with Essential Hypertension in Uygur Population in China. *Biochem Anal Biochem.* 2014; 04(01).