

Los genes bailarines

Un equipo del Incor reduce de 2 mil a 80 la cantidad de fragmentos de ADN que podrían explicar el origen de la hipertensión

Mariluce Moura y Ricardo Zorzetto

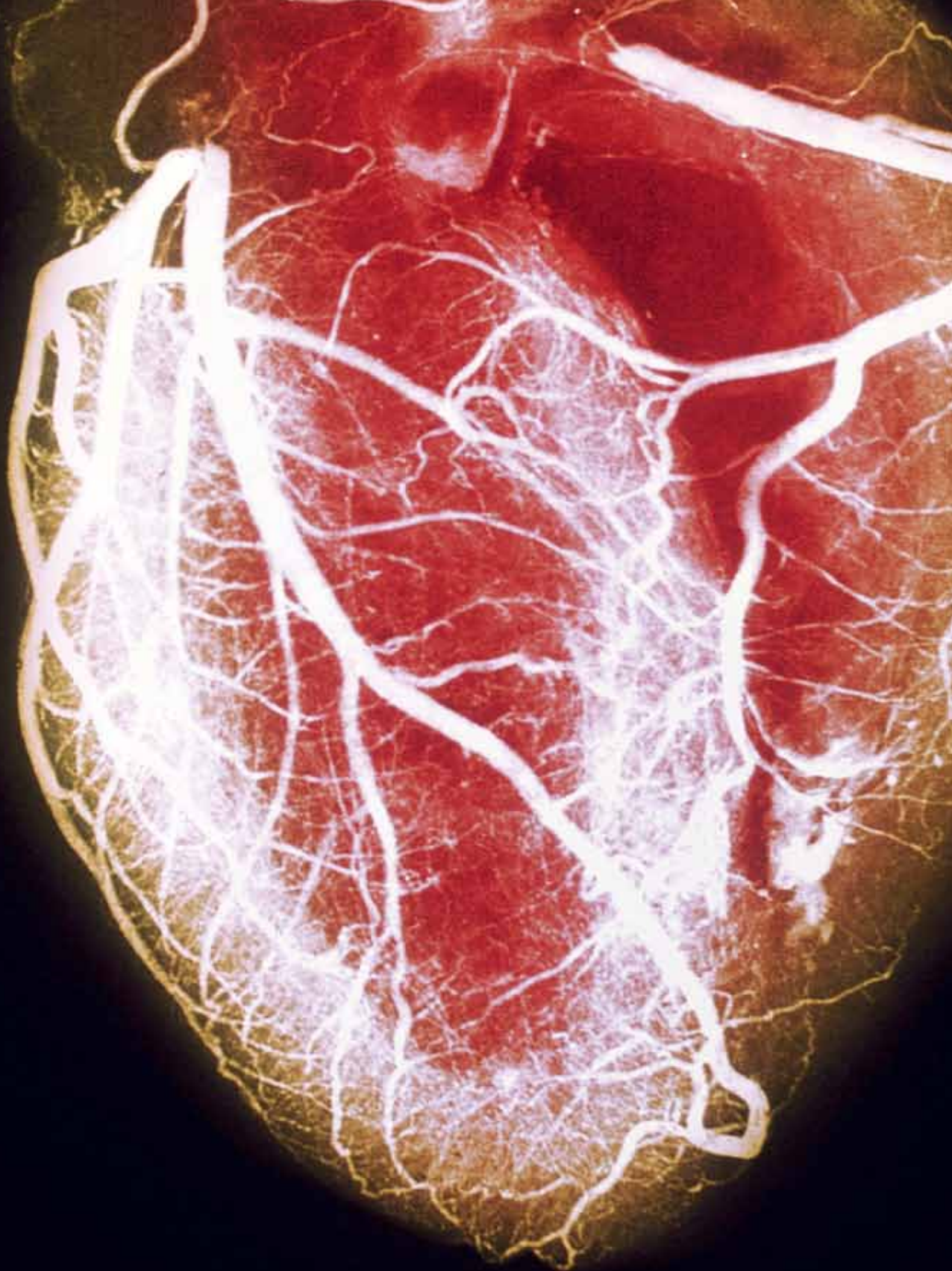
N En una entrevista *ping-pong* concedida en mayo para la edición de junio de 2012 de *Pesquisa FAPESP*, el profesor Eduardo Moacyr Krieger, quien en 1985 organizó la Unidad de Hipertensión del Instituto del Corazón (Incor) de la Facultad de Medicina de la Universidad de São Paulo (FM-USP), origen de uno de los más importantes grupos de investigación de la hipertensión en el país y con respetada inserción internacional, volvió a recordar que el sistema de regulación de la presión arterial está íntimamente ligado a los genes. “Recibimos como carga genética los mecanismos controladores de la presión, que efectúan la síntesis de los mecanismos presores y depresores. Esta carga puede facilitar la producción de sustancias presoras o formar menos sustancias hipotensoras. Y allí empieza la historia: de entrada, tenemos alguna predisposición a la hipertensión, o no la tenemos”, dijo.

Con todo, esa predisposición no basta. Para que el problema haga eclosión, es necesario contar con el concurso decisivo del medio ambiente, “que permanentemente suscita la regulación de la presión arterial”. Y ese medio ambiente, según Krieger detalló, “es la sal, la inactividad, la obesidad, el estrés, todas esas cosas que de una manera u otra intervienen en el sistema de regulación”. Alguien con un sistema de regulación muy bueno puede someterse a todas las presiones ambientales y seguir teniendo la presión normal. “Pero otro, con un sistema muy malo, puede permanecer sin comer un gramo de sal, tirado en una hamaca descansando e igual va a volverse hipertenso”. Ése es “el actual estado de

arte” sobre la hipertensión esencial o primaria. Se sabe acerca de esa “combinación del terreno con el medio ambiente” y no se sabe “actuar en el terreno” preventivamente; pero a ello se apunta. De detectarse los genes implicados en la hipertensión, y de ser posible conocer la carga genética de cada uno y con base en eso trabajar con asesoría genética, quizá la hipertensión esencial que afecta a un 50% de los adultos con edades superiores a los 60 años se vuelva una epidemia del pasado.

Muchos años antes, en 1999, otro Krieger, el profesor José Eduardo, director del Laboratorio de Genética y Cardiología Molecular del Incor, integrante del equipo e hijo del profesor Eduardo Moacyr, había declarado a *Pesquisa FAPESP* (edición n° 47, octubre): “No tenemos la ilusión de explicar la hipertensión a causa de un defecto genético único”. Coordinador de toda la parte de genética del proyecto temático intitulado *Bases fisiológicas de la hipertensión: un estudio integrado*, con el apoyo de la FAPESP desde 1995, él observó en la época que, en ningún problema biológico complejo o, más precisamente, en ninguna de las enfermedades complejas que normalmente corresponden a las grandes líneas de los programas de salud pública, tal como en los casos de la diabetes, el cáncer, el asma, la aterosclerosis, la epilepsia y la esquizofrenia, se encuentra un solo responsable del mal. “Lo que las explican son defectos en diversos genes que, bajo el influjo de diferentes factores ambientales, determinan las manifestaciones de la enfermedad”, dijo.

Casi 13 años de estudios sistemáticos y más de 200 artículos científicos después, publicados



Legenda: Una angiografía muestra detalladamente las arterias que irrigan el corazón

La fisiología y la genética de la hipertensión

SUSTANCIAS NATURALES VASOACTIVAS Maurício Rocha e Silva, Eduardo Braun-Menéndez e Irvine Page identifican la bradicinina, la angiotensina y la renina respectivamente



1940/
1950

FISIOLÓGIA DE LA HIPERTENSIÓN

BIOLOGIA MOLECULAR

LA DOBLE HÉLICE

Francis Crick y James Watson definen la estructura tridimensional del ADN

en las más importantes revistas del área –que daban cuenta de avances en la comprensión teórica de la fisiología y de la genética de enfermedades cardiovasculares y presentaban nuevos datos para obtener un perfil epidemiológico cardiovascular de los brasileños, o exploraban los resultados de la producción de linajes cada vez más refinados de ratones hipertensos–, aún no han librado al grupo del Incor, ni a cualquier otro del mundo, de una cuestión central e implacable que se mantiene como reto en el campo de las enfermedades cardiovasculares: ¿cuáles son los determinantes genéticos de la hipertensión primaria, esa enfermedad que afecta al 22% de la población brasileña adulta y a un total de 970 millones de personas en el mundo?

“Se han reducido a cuatro las cinco regiones cromosómicas donde buscábamos experimentalmente los genes pasibles de desempeñar un papel claro en la emergencia de la hipertensión, luego del desarrollo de 12 generaciones de ratas hipertensas, es decir, de modelos animales para la investigación, en nuestro laboratorio”, dice José Eduardo Krieger, profesor titular de medicina molecular de la USP. Y valiéndose de todo el sofisticado arsenal de herramientas que la biología molecular pone actualmente a disposición para realizar esa búsqueda de genes, cruzándolas con estudios de fenotipos cardíacos y fenotipos vasculares que los datos directos de pacientes del Incor y otros estudios epidemiológicos de diferentes grupos poblacionales le suministran, el equipo de

Krieger sigue buscando “la dirección”, tal como él dice, o los domicilios del origen de la hipertensión.

Actualmente se supone que la emergencia de la hipertensión primaria es el resultado de distintos pequeños defectos en múltiples genes ligados a las vías de regulación homeostática del organismo (que mantienen el equilibrio de la temperatura, la presión, el nivel de glucosa en la sangre, etc.). A su vez, existe un consenso en el sentido de que, en un 90% de los casos, esa epidemia contemporánea es producto de una estrecha interacción entre factores ambientales y genéticos. En cambio, en el 10% restante, donde se localizan las formas más resistentes de la hipertensión y aquéllas producidas por enfermedades raras, se encuentran casos sin ninguna relación con factores ambientales, en los cuales, tanto múltiples genes como un solo defecto, en un sólo gen, pueden determinar la condición patológica de la presión arterial.

Resulta sorprendente y un tanto frustrante, sostiene Krieger, que la búsqueda incesante desde los años 1990 de los componentes genéticos de la hipertensión haya desembocado en hallazgos más definitivos precisamente en esas situaciones de enfermedades raras y no en referencia a manifestaciones más generales y comunes del problema. “Existen estudios en esos casos de un solo defecto descrito en todos sus detalles”. Por ejemplo, Richard Lifton, del Departamento de Genética de la Universidad Yale, y sus colegas, describieron durante los últimos 15 años una serie de alteraciones genéticas que desencadenan la hipertensión dependiente de la retención indeseable de sal y agua en el organismo.

En el terreno de los casos ajenos a la hipertensión primaria se encuentran también aquéllos que tienen una causa renal muy bien determinada.

UN ANTIHIPERTENSIVO TROPICAL

Sergio Henrique Ferreira, al estudiar la inflamación, identifica el factor potenciador de la bradicinina (BPF) en el veneno de la yarará

EL CONTROL AVANZA

Squibb desarrolla y empieza a probar los primeros fármacos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA)

1960

1970

PEGAMENTOS Y TIJERAS GENÉTICAS

La detección y el aislamiento de enzimas de restricción y de ligasas que permiten cortar y pegar el ADN abren el camino hacia la ingeniería genética

“Cuando la razón de la hipertensión es la estenosis renal, por ejemplo, es curable. Se corrige el defecto sencillamente con un *stent*, similar a los que se aplican en casos de estrechamiento de la arteria coronaria”. Pero el hecho, según Krieger, es que la condición *sine qua non* para que la hipertensión sea controlable radica en que los riñones se encuentren preservados. Seguidor en términos teóricos del famoso fisiólogo estadounidense Arthur Guyton (1919-2003), Krieger sostiene que el sistema nervioso y el estrés, por ejemplo, solamente desempeñarán un rol permanente en el mantenimiento de la hipertensión, de encontrarse alterado el sistema renal. “Los riñones preservados hacen posible una ventaja enorme en la batalla por el control de la presión”, dice. Esta visión no siempre ha sido tranquila y consensual entre los componentes del grupo del Incor y, pragmáticamente, el jefe del Laboratorio de Genética y Cardiología Molecular dice que “las visiones teóricas conflictivas son muy sanas, incluso porque amplían las posibilidades de avanzar”.

Por más que no se haya puesto la mano, por decirlo de algún modo, sobre los genes que desde regiones celulares remotas supuestamente ayudan a empujar la columna de mercurio de los tensiómetros más allá de los 90 milímetros en el movimiento de diástole, y arriba de los 140 milímetros en el de sístole, el inventario del trabajo científico del grupo de los Krieger muestra avances continuos y sólidos desde que se instaló en el Incor. Esto comprende los diversos trabajos

teóricos y experimentales concernientes a los mecanismos de control de la presión arterial y, posteriormente, también en genética de la hipertensión, pero incluye también a la investigación del remodelado por el que pasan las venas utilizadas para reemplazar a la arterias bloqueadas con placas de grasa, como en los casos de implantes de *bypass*, y la línea de investigación con células madre para la recuperación del músculo cardíaco.

La utilización de venas, vasos especializados en el transporte de sangre en condiciones de bajo flujo y presión, en lugar de arterias, que transportan sangre a presiones hasta 20 veces más elevadas, limita a alrededor de una década la durabilidad de parte de los *bypass* realizados con la vena safena. Se produce la obstrucción, si bien parcial, del implante de segmentos de esa vena extraída de la pierna, empleado para restablecer el suministro de sangre hacia el corazón. En una serie de experimentos con ratas y vasos sanguíneos humanos, el grupo de Krieger observó que la presión de la sangre sobre las paredes del vaso altera la programación de las células de venas sometidas a las condiciones de funcionamiento de las arterias. Como resultado de ello, las paredes de las venas se vuelven excesivamente gruesas algunos años después de la cirugía de revascularización del corazón. Esta investigación ha redundado en la identificación de varias proteínas implicadas en el engrosamiento de los implantes, dos de las mismas caracterizadas íntegramente por el equipo del Incor: la proteína producida por el gen p21, que inhibe la reproducción celular y en general se encuentra menos activa en esas condiciones; y la producida por el gen CRP3, en general activo solamente en las arterias, pero que también es producida por las venas empleadas en función de arterias, tal como informara Krieger a *Pesquisa FAPESP* en junio de 2009 (edición n° 160).

El profesor Eduardo Moacyr se hizo cargo de la jefatura de la Unidad de Hipertensión del Incor al cabo de 28 años de una respetada carrera como docente e investigador en la Facultad de

NUEVOS VASOACTIVOS

Se identifican nuevas sustancias vasoactivas, tales como el óxido nítrico, la endotelina y el factor natriurético atrial

1980

BIOLOGÍA DE SISTEMAS

El concepto de sistemas vasoactivos (y no de moléculas vasoactivas) permite avanzar en la comprensión del desequilibrio en el control de la presión

1990

Medicina de la USP de Ribeirão Preto. Allí, su principal línea de investigación había apuntado a estudiar en modelos de hipertensión experimental (ratas, en carácter pionero) los mecanismos de regulación de la presión arterial, fundamentalmente los mecanismos neurogénicos. De este modo, al llegar al Incor, llevaba consigo una *expertise* considerable para dar inicio a la formación de un grupo multidisciplinario de investigación que se convertiría en uno de los más respetados del mundo en su campo. En 1995, a la cabeza de un equipo de 11 investigadores entre los cuales había biólogos moleculares, fisiólogos y médicos clínicos, presentó ante la FAPESP el proyecto temático intitulado *Bases fisiológicas de la hipertensión*, que se articulaba a un esfuerzo internacional en pro del establecimiento de las bases genéticas de la presión arterial. En algunos estudios específicos, la investigación brasileña contaba con la colaboración de investigadores del Medical College de Wisconsin y de las Universidades Harvard y de Carolina del Norte.

En 1999, un reportaje de *Pesquisa FAPESP* (edición n° 47, octubre) informaba que se había arribado a “algunos resultados muy concretos”. El primero, publicado en 1995 en un artículo de *Genome Research*, había sido “la identificación de cinco regiones cromosómicas en animales de experimentación (ratas), que explicaban en gran medida el aumento de la presión arterial en esos cobayos”. Parecía haber en esas regiones genes directamente implicados con la hipertensión, y se los buscaría mediante múltiples abordajes. En las ratas, dos de las regiones se encontraban en el cromosoma 2 y las restantes en los cromosomas 4, 8 (que estudios posteriores desestimaron) y 16. Había entonces una fuerte disposición para buscar las regiones cromosómicas humanas correspondientes.

Se llegó a las cinco y, posteriormente, a las cuatro regiones cromosómicas en el marco de un trabajo constante de cruzamientos y caracterización

LA TRANSICIÓN

Herramientas y productos de la biología molecular, tales como el PCR, empiezan a convertirse en *commodities*, y toda la biología pasa a incorporar conceptos de la genética y de la biología molecular

fenotípica de los conejillos de Indias, amén de la caracterización de los marcadores moleculares empleados en la búsqueda de los genes. De acuerdo con el reportaje de 1999, “el cruzamiento entre hipertensos y normotensos (aquéllos cuya presión arterial es normal) apuntó a la obtención de nietos, es decir, una segunda generación de animales cuya carga genética presentase una distribución aleatoria de los genes de cada uno de ambos tipos”. En total, el grupo obtuvo 12 generaciones de ratas y múltiples sublinajes de animales congénicos. Y en las experiencias con esa generación se buscó determinar con precisión, vía marcadores moleculares, qué regiones cromosómicas habían heredado los nietos hipertensos de sus abuelos hipertensos.

La búsqueda de genes vinculados a la hipertensión no es una aventura medio determinista, tal como puede parecerlo. De encontrarlos, se incrementan las posibilidades de una descripción precisa de los distintos sistemas de control de la presión arterial, a ejemplo del sistema renina-angiotensina, descrito aún en 1949, y se amplían las posibilidades de comprender los fundamentos de las diferencias en el comportamiento de los sistemas de control en personas igualmente hipertensas. Por último, esto permitiría afianzar la prevención y la aplicación de terapias más adecuadas para cada paciente.

Pese a que el trabajo del grupo del Incor cierra el cerco sobre los genes que podrían explicar la hipertensión, el universo que debe descartarse aún es grande, pues cada una de las cuatro regiones que identificaron alberga alrededor de 500 genes. Desde que llegó a esas regiones, Krieger ha logrado restringir la cantidad de genes de interés de casi 2 mil a unos 80. Y sigue adelante mediante un trabajo activo con herramientas exploratorias variadas (un *chip* de ADN, transcriptoma, micro ARN y otras) para seleccionar genes posibles en ratas, aliadas a los estudios de genotipos y fenotipos que se hicieron posibles mediante la observación y los análisis de los pacientes del Incor y del material de los grandes estudios epidemiológicos, como

UN NUEVO ESTATUS PARA LA BIOLOGÍA

El inicio de la secuenciación del genoma humano llevó a la biología hacia el campo de la *big science*

EL GENOMA HUMANO

Aparecen los primeros borradores de la secuenciación del genoma humano y de otras especies

LOS GENES DE LA HIPERTENSIÓN

A partir de 2 mil genes posibles, se llega a 80 genes probablemente implicados en el control de la presión arterial

2000

2010

MAPEO DE SÍNDROMES

Se identifican distintas regiones cromosómicas en animales de laboratorio asociadas a la génesis de enfermedades complejas

así también del estudio transversal de la población de Baependi, en Minas Gerais, realizado con 1.700 personas (el 14% de la población adulta) integrantes de 100 familias. “Si arribamos a uno o dos genes posibles en cada uno de los cuatro modelos animales, y trabajando con técnicas de genómica comparativa, testaremos en el genoma humano si existe esa alteración de los mismos genes o al menos de las vías bioquímicas en las cuales esos genes están implicados”, dice Krieger, “y daremos un gran paso”. ■

Los proyectos

1. Estudio integrado de la hipertensión arterial: caracterización molecular y funcional del sistema cardiovascular – nº 2001/ 00009-0 (2001-2006); **Modalidad** Proyecto temático; **Coordinador** Eduardo Moacyr Krieger –Incor/ FMUSP; **Inversión** R\$ 6.110.874,19.

2. Del banco del laboratorio a la clínica: desarrollo de biomarcadores como predictores de la respuesta a la terapia y la lesión de órganos blancos en hipertensión arterial sistémica – nº 2007/ 58942-0 (2009-2012); **Modalidad** Proyecto temático; **Coordinador** Eduardo Moacyr Krieger –Incor/ FMUSP; **Inversión** R\$ 3.306.336,56.

3. Mapeo genético de factores de riesgo cardiovascular en la población brasileña –proyecto corazones de Baependi– nº 2007/ 58150-7 (2008-2012); **Modalidad** Ayuda regular al proyecto de investigación; **Coordinador** José Eduardo Krieger –Incor/ FMUSP; **Inversión** R\$ 1.832.181,66.

Artículos científicos

STORCK, N. J. *et al.* A biometrical genome search in rats reveals the multigenic basis of blood pressure variation. **Genome Research**. 1995.

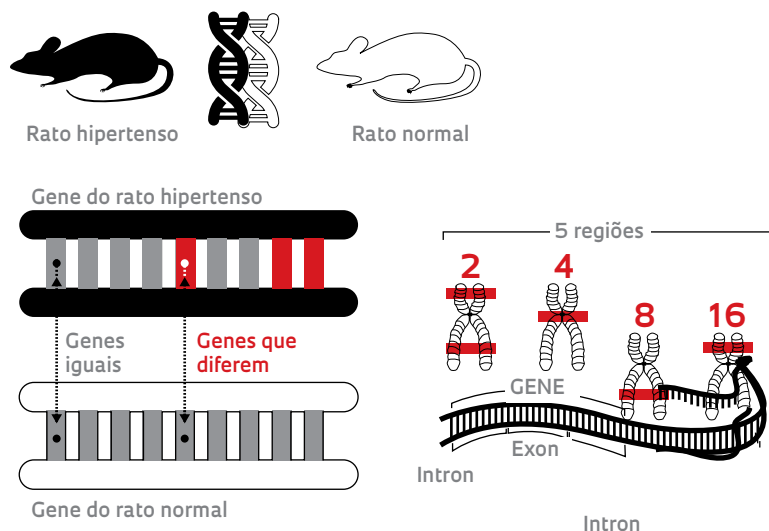
CAMPOS, L.C. *et al.* Induction of CRP3/MLP expression during vein arterialization is dependent on stretch rather than shear stress. **Cardiovascular Research**. 2009.

De nuestro archivo

Un cerco a la asesina silenciosa Ed. nº 47 – oct. de 1999; *Alarma molecular* Ed. nº 69 – oct. de 2001; *Corazón reconectado* Ed. nº 160 – jun. de 2009; *Un efecto inesperado* Ed. nº 171 – mar. de 2010.

Escudriñamiento genético

Investigadores combinan genética y biología molecular en busca de genes posiblemente implicados en la hipertensión



EN BUSCA DE UN LINAJE IDEAL El apareamiento de ratas y ratones con presión normal y otros hipertensos durante sucesivas generaciones permitió identificar cinco regiones cromosómicas ligadas a la hipertensión

 400 a 500 genes candidatos em cada região cromossômica

UNA MEZCLA DE GENOMAS Animales de linajes portadores de cada región, fueron cruzados nuevamente con ratas hipertensas, lo cual hizo posible disminuir la cifra de genes sospechosos o número de genes sospeitos



20 genes candidatos para cada animal

PARA ESTRECHAR EL CERCO Mediante técnicas moleculares, los investigadores pretenden detectar en el tejido renal evidencias de la participación de los genes en la hipertensión arterial