

**POLIMORFISMO C3435T/ABCB1 Y SU RELACIÓN CON LA
RESPUESTA FARMACOTERAPÉUTICA A ANTIHIPERTENSIVOS
EN UNA POBLACIÓN COLOMBIANA**

YÉMILSON CAICEDO PALACIOS



Universidad de Caldas
Maestría en Ciencias Biomédicas
2022

**POLIMORFISMO C3435T/ABCB1 Y SU RELACIÓN CON LA
RESPUESTA FARMACOTERAPÉUTICA A ANTIHIPERTENSIVOS
EN UNA POBLACIÓN COLOMBIANA**

YÉMILSON CAICEDO PALACIOS

Director de trabajo de grado
Juan Manuel Pérez Agudelo
Médico, Magister en Ciencias Biomédicas



Universidad de Caldas
Manizales, abril de 2022

TABLA DE CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO	3
RESUMEN	8
ABSTRACT	9
INTRODUCCIÓN	11
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
MARCO TEÓRICO.....	18
OBJETIVOS	32
MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
RESULTADOS	37
DISCUSIÓN.....	43
CONCLUSIONES	48
RECOMENDACIONES	49
BIBLIOGRAFÍA.....	50

DEDICATORIA

Dedicado a mi madre por su amor y apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Paula Uribe y a su esposo por prestarme su laboratorio y guiarme.

Al profesor Juan Manuel Pérez Agudelo y a su esposa por apoyo en la
consecución de los pacientes para la investigación.

A la Clínica San Marcel por el interés que mostraron en esta investigación

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Antihipertensivos sustratos e inhibidores de P-gp.....	20
Tabla 2. Expresión de Glicoproteína P en órganos y/o tejidos (58).....	23
Tabla 3. Mezcla de reactivos usados para hacer la PCR.	34
Tabla 4. Variables centrales del estudio (73,28).	36
Tabla 5. Caracterización de la variable Respuesta farmacoterapéutica.	37
Tabla 6. Caracterización de la variable Genotipo C3435T/ABCB1.....	38
Tabla 7. Resumen de la prueba de Chi cuadrado.	38
Tabla 8. Medidas de tendencia central de la población femenina.....	38
Tabla 9. Medidas de tendencia central de la población masculina.	39
Tabla 10. Genotipo vs respuesta.	42

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Ilustración de la Glicoproteína P.....	24
Gráfica 2. Ilustración de un SNP.....	25
Gráfica 3. Extremos romos generados por una enzima de restricción.....	30
Gráfica 4. Extremos cohesivos generados por una enzima de restricción.	31
Gráfica 5. Comparativo entre sexo y polimorfismos.	39
Gráfica 6. Comparativo entre respuesta y SNP.	40
Gráfica 7. Gráfica 7. Uso de fármacos y polimorfismos ABCB1.....	40
Gráfica 8. Electroforesis de amplicones.	41
Gráfica 9. Electroforesis de los productos de digestión.	42

RESUMEN

La hipertensión arterial es una enfermedad crónica, silenciosa y un importante factor de riesgo para desarrollar otras enfermedades cardiovasculares. Es frecuente que el tratamiento con medicamentos antihipertensivos sea inefectivo por diversas causas, entre ellas se destacan las variaciones en el transporte y la biodisponibilidad de los medicamentos debido a polimorfismos del gen ABCB1 que codifica para el transportador glicoproteína P que expulsa fármacos del interior del hepatocito modificando sus concentraciones plasmáticas.

El propósito de esta investigación fue evaluar si existe relación entre el polimorfismo C3435T del gen ABCB1 y la respuesta farmacoterapéutica a antihipertensivos que son sustrato de la glicoproteína P, para este fin, se incluyeron en el estudio un total de 59 pacientes con diagnóstico de hipertensión arterial primaria captados en una Institución Prestadora de Servicios de Salud de la ciudad de Manizales (Colombia). La genotipificación se realizó mediante PCR-RFLP y la evaluación de la respuesta farmacoterapéutica se hizo observando el valor de presión arterial de cada paciente y asignando la categoría “efectiva” cuando la presión arterial tuviera un valor menor que 140/90mmHg y la categoría “no efectiva” cuando la presión arterial fuera igual o mayor que 140/90mmHg. Debido a las limitaciones del estudio no se evaluó la influencia de otros polimorfismos diferentes a C3435T/ABCB1 en el control de presión arterial.

Los resultados revelaron que tan solo el 44,1% de los pacientes tuvo una respuesta farmacoterapéutica efectiva y de los 59 pacientes el 50,8% tuvo el genotipo TT, el 30,6% tuvo el genotipo CC y el 18,6% tuvo el genotipo CT. No se observaron cambios significativos en la respuesta farmacoterapéutica entre los tres genotipos.

Por consiguiente, no se demostró que el polimorfismo C3435T del gen ABCB1 esté relacionado con la respuesta al tratamiento antihipertensivo.

Palabras clave

Glicoproteína P, ABCB1, C3435T, Polimorfismos genéticos, Hipertensión arterial, Antihipertensivos.

ABSTRACT

High blood pressure is a chronic, silent disease and an important risk factor for developing other cardiovascular diseases. It is common for treatment with antihypertensive drugs to be ineffective for various reasons, including variations in drug transport and bioavailability due to polymorphisms of the ABCB1 gene that codes for the P-glycoprotein; a transporter that expels drugs from the interior of the hepatocyte modifying their plasma concentrations.

The purpose of this research was to evaluate whether there is a relationship between the C3435T polymorphism of the ABCB1 gene and the pharmacotherapeutic response to antihypertensive drugs that are a substrate of P-glycoprotein. For this purpose, a total of 59 patients diagnosed with primary arterial hypertension were captured in a Provider Institution of Health Services of the city of Manizales (Colombia). Genotyping was performed by PCR-RFLP and then the response to antihypertensive treatment was compared according to the genotype of each patient.

The results revealed that only 44.1% of the patients had an effective pharmacotherapeutic response, 50.8% of the patients have the TT genotype, 30% have the CC genotype and 18.6% have the CT genotype. No significant changes in the pharmacotherapeutic response were observed between the three genotypes.

Therefore, the C3435T polymorphism of the ABCB1 gene was not shown to be related to the response to antihypertensive treatment.

Keywords

Glycoprotein P, ABCB1, C3435T, Genetic polymorphisms, Hypertension, Antihypertensives.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial (HTA) es una condición clínica en el cual una persona presenta la presión arterial sistémica permanentemente elevada, es decir, cuando la presión arterial sistólica persiste en valores superiores a 130mmHg y/o la presión arterial diastólica se mantiene en valores superiores a los 85mmHg según la 2020 International Society of Hypertension global hypertension practice guidelines (1).

Las guías de HTA de 2017 del Colegio Estadounidense de Cardiología / Asociación Estadounidense del Corazón (ACC/AHA) definen a los pacientes hipertensos como personas que toman medicación antihipertensiva o tienen una presión sistólica ≥ 130 mmHg y/o una presión diastólica ≥ 80 mmHg, sin embargo, en esta investigación se adoptó la definición clásica de HTA: presión arterial $\geq 140/90$ mmHg porque la definición de la ACC/AHA aún no es universalmente aceptada y la definición de la International Society of Hypertension (ISH) es muy reciente y no había sido publicada en el momento en que se realizó la investigación (2).

En la categoría de las afecciones cardiovasculares la HTA es el principal factor de riesgo de enfermedad y muerte en todo el mundo, por ejemplo, es causa de infartos de miocardio, accidentes cerebrovasculares, insuficiencia renal, vasculopatía periférica, insuficiencia cardíaca y ceguera. El riesgo aumenta si la HTA está acompañada de otras enfermedades, en especial la diabetes, impactando a tal punto la salud pública que según estimaciones mueren anualmente más de 9 millones de personas a causa de la HTA en el mundo (3,4).

Según publicaciones del Ministerio de Salud y Protección Social, para 2018 en Colombia se reportaron más de 4 millones de personas diagnosticadas con HTA y el 60% de los ciudadanos con HTA no sabe que padece la enfermedad, además,

se estima que el 62% de los trastornos cerebrovasculares y el 49% de los ataques cardiacos son causados por la HTA, por tanto, es evidente que la HTA tiene un impacto muy negativo en la salud y es necesario que las personas conozcan y controlen sus cifras tensionales y, sobre todo, sigan las recomendaciones del ministerio: reducir la ingesta de sodio, consumir más alimentos naturales y frescos, mantener un estilo de vida físicamente activo y un peso corporal saludable, no exponerse al humo del tabaco y evitar el consumo de alcohol (3,5).

Pese a la gran variedad y al precio económico de los medicamentos disponibles para tratar la HTA, existen tasas bajas de tratamiento y control de la enfermedad en pacientes diagnosticados, además, investigaciones revelan que una de cada tres personas hipertensas no logra mantener cifras de presión arterial inferiores a 140/90mmHg, por lo tanto, es necesario formular estrategias para lograr que un porcentaje más alto de pacientes tenga un adecuado control de la presión arterial (2,3,5).

La ACC/AHA recomienda las siguientes estrategias: crear un registro de identificación y rastreo de pacientes hipertensos, diseñar algoritmos de tratamiento que incluyen combinaciones iniciales de una sola tableta, realizar un seguimiento oportuno a los pacientes con hipertensión no controlada apoyándose en asistentes médicos para hacer controles de presión arterial, retroalimentar periódicamente sobre el desempeño del control de la hipertensión a los directores médicos. Siguiendo esas sencillas estrategias propuestas por la ACC/AHA se puede disminuir la prevalencia mundial de HTA (2,3,5).

En un estudio Chow y cols. encontraron que solamente el 32,5% de los hipertensos que recibieron tratamiento para su enfermedad tenían la presión arterial controlada, adicionalmente, la falta de adherencia al tratamiento antihipertensivo refuerza el hallazgo de los investigadores ya que un tercio de los pacientes hipertensos no toma su dosis completa de medicamentos (2).

Por otra parte, el inadecuado control de la presión arterial tiene explicaciones más allá de la adherencia terapéutica como lo evidenciaron Morales-Olivas y cols., quienes afirmaron que la falta de eficacia del tratamiento antihipertensivo es un hecho relativamente frecuente que ocasionalmente se debe a interacciones de los fármacos antihipertensivos con otros tratamientos concomitantes. Las interacciones que con mayor frecuencia causan problemas son las de tipo farmacocinético, sobre todo las relacionadas con el metabolismo a través del sistema del citocromo P450 o el aclaramiento presistémico por medio de la glicoproteína P (P-gp) (4).

La P-gp es una bomba transmembrana que expulsa sustratos desde el interior hacia el exterior de la célula. Este proceso afecta las concentraciones plasmáticas y tisulares y los efectos finales de los medicamentos. La predicción de interacciones clínicamente importantes es difícil debido a las diferencias interindividuales en el transporte de fármacos que pueden surgir de los polimorfismos del gen ABCB1 que codifica para P-gp (5).

El gen ABCB1 es altamente polimórfico y aunque se han identificado más de 50 polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), los tres polimorfismos más comunes del gen ABCB1 son G2677T/A, C1236T y C3435T y han sido asociados a variaciones en la farmacocinética de múltiples medicamentos y riesgo de padecer algunas enfermedades, por ejemplo, un estudio de Yu y cols. indica que el polimorfismo G2677T/A puede incrementar el riesgo de resistencia a los medicamentos anticonvulsivantes, BaniHani y cols. demostraron la posible asociación entre el polimorfismo C1236T y la infección por *Helicobacter pylori* en una población jordana, Liu y cols. demostraron que el polimorfismo C3435T podría predecir la enfermedad renal crónica (sobre todo en adultos mayores) y Li y cols. concluyeron que el polimorfismo C3435T puede ser un marcador genético para la resistencia a medicamentos anticonvulsivantes en poblaciones caucásicas (6–9).

A su vez, Göktas y cols. hallaron que el polimorfismo C3435T del gen ABCB1 tiene un efecto significativo en la reducción de la presión sistólica en hipertensos tratados con losartán (7), mientras que los resultados de la investigación de Zuo y cols. sugieren que el polimorfismo C3435T del gen ABCB1 y el género son factores determinantes en la variabilidad farmacocinética del amlodipino (8), en todo caso, las investigaciones reportadas a la fecha han evaluado la farmacocinética, principalmente, de un sólo medicamento antihipertensivo y su relación con los polimorfismos del gen ABCB1, por consiguiente, las conclusiones de esas investigaciones se limitan a los casos de monoterapia antihipertensiva quedando el interrogante de qué ocurre con la respuesta farmacoterapéutica cuando el paciente consume dos o tres antihipertensivos en presencia de polimorfismos genéticos de ABCB1, es así como, surgió el objetivo de evaluar si existe relación entre el polimorfismo C3435T/ABCB1 y la respuesta farmacoterapéutica a un grupo de antihipertensivos sustratos de P-gp usados en pacientes de una IPS de Cardiología de Manizales. Es importante aclarar que varios medicamentos antihipertensivos tienen efectos antiarrítmicos, antianginosos, etc., sin embargo, en la presente investigación sólo se tuvo en cuenta el efecto sobre la presión arterial (10).

CAPÍTULO 2

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se estima que en el mundo alrededor de mil millones de personas sufren de HTA y esa enfermedad causa un total de nueve millones de muertes cada año (4).

La HTA se define como una presión arterial sistólica (PAS) ≥ 140 mmHg o una presión arterial diastólica (PAD) ≥ 90 mmHg y se relaciona con complicaciones cardiovasculares graves como: ictus, infarto agudo de miocardio (IAM), insuficiencia cardiaca (IC), muerte súbita y enfermedad arterial periférica (EAP). La HTA también se relaciona con enfermedad renal en estadio terminal (11).

El tratamiento para la HTA se fundamenta en la implementación de cambios en el estilo de vida y farmacoterapia con uno o varios medicamentos entre los que se destacan: diuréticos, antagonistas del calcio, inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (IECA), antagonistas del receptor de la angiotensina II (ARA-II), inhibidores de la renina, antihipertensivos de acción central y bloqueadores de los receptores alfa (11), sin embargo, la farmacoterapia por sí sola no es suficiente para lograr un adecuado control de la presión arterial como lo evidenciaron Machado y cols. quienes en un estudio sobre efectividad e inercia clínica en el tratamiento de la hipertensión en pacientes de Colombia; encontraron que en el 18,3% de los pacientes no se alcanzan los objetivos de control de la presión arterial (12), por consiguiente, la medicación antihipertensiva debe ir acompañada de una alimentación saludable y actividad física.

Los factores de riesgo para desarrollar HTA se clasifican en modificables y no modificables. Entre los factores modificables se destacan: obesidad, alcoholismo, sedentarismo, ingesta elevada de sodio, consumo elevado de bebidas oscuras (café, té, refrescos de cola) y la ingesta elevada de grasa. Algunos factores no modificables son: historia familiar, sexo y raza (13).

La historia familiar y la raza se relacionan con la genética del individuo y, aunque no sean factores modificables, la genética no es estática por lo que se presentan mutaciones y polimorfismos que condicionan el grado de expresión de superfamilias de enzimas metabolizadoras y transportadoras de medicamentos alterando su farmacocinética y ocasionando fallos terapéuticos (14,15).

Asimismo, existe una variabilidad interindividual en la respuesta a los medicamentos derivada de las diferencias genéticas de las personas y que determinan cambios en las proteínas relacionadas con los procesos de absorción y metabolismo de fármacos, igualmente, cambios en procesos farmacodinámicos e inmunológicos incidiendo en la eficacia y seguridad de los tratamientos farmacológicos (15).

En particular, el polimorfismo C3435T del gen ABCB1 que codifica para la P-gp está asociado a la resistencia a múltiples medicamentos. Por ejemplo, el nivel de expresión de P-gp es más bajo en sujetos con el genotipo 3435TT que en sujetos con los genotipos 3435CC y 3435CT; esa baja actividad de P-gp en el hígado conduce a una mayor absorción de amlodipino hepatocelular e incrementa su metabolismo por CYP3A (16). Por el contrario, una alta actividad de P-gp ocasiona que una mayor cantidad de amlodipino se expulse del hepatocito sin metabolizarse y esté disponible para bloquear los canales de calcio del músculo liso ocasionando una vasodilatación que conlleva a una disminución de la presión arterial. De forma similar, la respuesta hipotensora a losartán es significativamente afectada por el polimorfismo C3435T del gen ABCB1 y los pacientes hipertensos con el alelo 3435T pueden presentar una mejor respuesta al tratamiento con losartán (17).

Por otra parte, existen vacíos en el campo investigativo porque los estudios de farmacogenética e HTA suelen incluir pocos medicamentos y queda el interrogante de si la respuesta farmacoterapéutica a otros antihipertensivos diferentes a losartán y amlodipino también está ligada al polimorfismo C3435T del

gen ABCB1, por consiguiente, surgió la pregunta de investigación: ¿existe relación entre el polimorfismo C3435T/ABCB1 y la respuesta farmacoterapéutica a antihipertensivos que son sustrato de la glicoproteína P?

Por último, el proyecto de investigación respondió a una necesidad del sistema de salud colombiano: ampliar el conocimiento que se tiene de la relación existente entre la farmacogenética y la HTA para abordar la enfermedad con mejores estrategias terapéuticas y contribuir al logro de las metas de control de la presión arterial.

CAPÍTULO 3

MARCO TEÓRICO

En el mundo, las enfermedades cardiovasculares son responsables de aproximadamente 17 millones de muertes por año, y de esa cifra total, las complicaciones de la HTA causan anualmente 9,4 millones de muertes. La HTA es la causa de por lo menos el 45% de las muertes por cardiopatías y el 51% de las muertes por accidente cerebrovascular (18).

El tratamiento de la hipertensión arterial se centra en cinco clases de fármacos: inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (IECA), bloqueadores de los canales de calcio (BCC), antagonistas del receptor de la angiotensina II (ARA II), diuréticos tiazídicos y bloqueadores beta (BB). El orden para usar los fármacos se describió en un algoritmo de tres pasos propuesto en la Guía de práctica clínica de la ESH/ESC 2018:

- Paso 1: Iniciar el tratamiento combinando IECA o ARA II + BCC o un diurético.
- Paso 2. Hacer una combinación triple de IECA o ARA II + BCC + un diurético.
- Paso 3. Añadir a la combinación triple espironolactona u otro fármaco (19).

Por otro lado, los resultados de la farmacoterapia antihipertensiva en cada paciente pueden no ser siempre predecibles, por consiguiente, el fracaso de la terapia es una posibilidad latente y es necesario investigar los factores que influyen en la variabilidad de los resultados, entender estos factores y usar el nuevo conocimiento para optimizar los esquemas de tratamiento y controlar de una manera más adecuada la presión arterial de los pacientes (20).

Factores como la edad, el sexo y el grupo étnico, contribuyen a explicar la variabilidad interindividual de la respuesta a los medicamentos en pacientes sometidos a tratamientos clínicos para la HTA (21). Los factores genéticos, estudiados de manera reciente, muestran que los polimorfismos pueden afectar la

función de distintos transportadores, dentro de ellos, los codificados por la superfamilia de genes ABC (*ATP-binding cassette*) (22).

Los transportadores ABC representan una de las más grandes familias de proteínas de transporte en organismos vivos y están involucrados en varias funciones celulares fundamentales: regulan los niveles celulares de lípidos, hormonas, iones, colesterol, esterol y hierro. También están relacionados con numerosas enfermedades genéticas, incluida la fibrosis quística asociada con la mutación del gen regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR) codificada por ABCC7, la degeneración de la retina asociada con mutaciones en ABCC4, miocardiopatías asociadas con mutaciones en el gen ABCC9 (SUR2) que codifica la subunidad reguladora de los canales de K-ATP (23).

En cuanto a la variedad de los transportadores ABC, se han identificado 49 en humanos y se subdividen en 7 subfamilias (subfamilias A – G). Los genes de las subfamilias ABCD y ABCG codifican semi-transportadores, mientras que los genes ABCB codifican transportadores completos y semi-transportadores (23).

Dentro de la superfamilia de transportadores ABC se destaca una bomba de eflujo llamada Glicoproteína de permeabilidad o Glicoproteína P (P-gp) la cual es sintetizada en el retículo endoplásmico como un producto intermedio de núcleo glicosilado, posteriormente la fracción glúcida se modifica en el aparato de Golgi antes de ser exportada a la superficie celular. En los seres humanos, la P-gp está codificada por los genes ABCB1 y ABCB4 (24), sin embargo, el producto de cada gen tiene un propósito diferente. La función principal de la P-gp codificada por el gen ABCB4 es transportar fosfolípidos (25). En cambio, la P-gp codificada por el gen ABCB1 transporta un gran número de sustratos xenobióticos: antihipertensivos, antiarrítmicos, anticoagulantes, antiagregantes plaquetarios, estatinas, antineoplásicos, antimicrobianos, inmunosupresores, antirretrovirales, anticonvulsivantes y agentes gastrointestinales (26).

En la tabla 1 se detallan los medicamentos antihipertensivos que tienen alguna interacción con la P-gp y para efectos prácticos, en la investigación, los inhibidores de la P-gp también se consideran sustrato de P-gp.

Principio activo	Grupo	Sustrato P-gp	Inhibidor P-gp	Referencia
Amlodipino	Antagonista del calcio	X	X	(27,28)
Captopril	IECA		X	(29)
Carvedilol	Bloqueadores beta		X	(29–35)
Clonidina	Antihipertensivos de acción central	X		(36)
Enalapril	IECA		X	(29)
Espironolactona	Diurético		X	(37)
Losartán	ARA II	X	X	(4,7,8)
Metoprolol	Bloqueadores beta	X	X	(29,38,39)
Nifedipino	Antagonista del calcio	X	X	(37,40–42)
Prazosina	Bloqueadores alfa	X	X	(43–46)
Propranolol	Bloqueadores beta	X	X	(44,47)
Valsartán + Sacubitrilo	ARA II + Inhibidor de la neprilisina	X		(48)
Verapamilo	Antagonista del calcio	X	X	(49,50)

Tabla 1. Antihipertensivos sustratos e inhibidores de P-gp

Además de transportar moléculas, la P-gp participa en interacciones relevantes fármaco-fármaco como lo evidenció el estudio de Kamiyama y cols., demostrando que candesartán, irbesartán y telmisartán tienen el potencial de inhibir el transporte de varios medicamentos vía P-gp, por ejemplo, la administración concomitante de digoxina y telmisartán causa un incremento elevado de la concentración sérica de digoxina por inhibición de P-gp intestinal, en consecuencia, se presenta una interacción de mucho riesgo porque la digoxina es un cardiotónico de estrecho margen terapéutico (51).

La Glicoproteína P (P-gp) codificada por el gen ABCB1, antes llamado gen de resistencia a múltiples medicamentos (MDR1), es una proteína de 1280 aminoácidos y 170KDa de peso molecular, que se localiza en la membrana apical de las células secretoras de la mucosa intestinal, membrana luminal del túbulo renal proximal, el canalículo biliar, las glándulas suprarrenales, endometrio y en los pies astrocitarios de la barrera hematoencefálica, donde desempeña un papel defensivo para expulsar sustancias extrañas al organismo y de evitar la acumulación excesiva de metabolitos (52). Por lo tanto, esta proteína es responsable de una disminución en los niveles de fármacos en el interior de las células mediante un mecanismo de transporte dependiente de ATP, y para esto, tiene dos dominios de unión a ATP citoplasmáticos y dos dominios hidrofóbicos, formados cada uno de ellos por seis fragmentos transmembranales que determinan la especificidad de sustrato (53).

El estudio de las secuencias de P-gp muestra una estructura altamente conservada en la porción transmembranal N-terminal, la cual contiene las características de un dominio en forma de canal. Se considera que los dominios intracitoplásmicos de unión e hidrólisis del ATP forman un poro y el eflujo se realiza a través del poro directa o indirectamente, tras la unión a moléculas transportadoras que pueden ser un péptido o una proteína (54). Sin embargo, el modelo de funcionamiento no está absolutamente aceptado y hay investigaciones que proponen una explicación conocida como modelo de aspiradora de moléculas hidrofóbicas y otra conocida como modelo de flipasa. El modelo de aspiradora de moléculas hidrofóbicas se basa en que los fármacos serían detectados y expulsados una vez se han incorporado a la membrana plasmática. Mientras que el modelo de flipasa postula que una molécula del fármaco situada en la capa interna de la membrana plasmática se une a la P-gp y ocurriría un cambio conformacional de la proteína que provocaría que esa molécula fuera llevada a la capa externa (55).

La información obtenida del análisis de la secuencia de aminoácidos de la P-gp ha mostrado: primero una alta homología entre especies y segundo aspectos del modelo de funcionamiento. La alta homología entre especies demuestra un marcado grado de conservación en la secuencia de aminoácidos, especialmente los del extremo C-terminal. En cuanto al funcionamiento se ha descubierto que la P-gp consiste en un dímero y cada mitad de la molécula actúa de forma dependiente de la otra, ya que la inactivación de uno o dos puntos de unión e hidrólisis del ATP conlleva a la pérdida de la actividad de esta proteína (56).

En cuanto a los sustratos de la P-gp se ha encontrado una relación entre algunas propiedades fisicoquímicas y la actividad biológica, como el coeficiente de partición octanol/agua, peso molecular, la polarizabilidad de la estructura y su grado de insaturación. Al evaluar estas características, los estudios sobre las relaciones estructurales entre sustratos y su grado de afinidad por la P-gp, han mostrado que la cantidad de compuestos que tienen la capacidad de interactuar con la P-gp, ya sea como sustratos inhibidores o inductores, es muy amplia (57).

La P-gp se expresa en una gran variedad de órganos y tejidos se detallan en la tabla 2:

Órgano y/o tejido	Expresión de P-gp	
Corteza cerebral	Células endoteliales	Alta
	Células gliales	No detectada
	Células neuronales	No detectada
	Neuropilo	Baja
Formación hipocámpal y ganglios basales	Células gliales	Baja
	Células neuronales	No detectada
Glándula suprarrenal	Células glandulares	Alta
Colon	Células endoteliales	No detectada
	Células glandulares	Baja
	Nervios periféricos/ganglios	No detectada
Hígado	Colangiocitos	Media
	Hepatocitos	Baja
Vesícula biliar	Células glandulares	Media

Órgano y/o tejido		Expresión de P-gp
Riñón	Células en glomérulos	No detectada
	Células en túbulos	Baja
Trompas de Falopio	Células glandulares	Baja
Ovarios	Células del folículo	Baja
	Células del estroma ovárico	No detectada

Tabla 2. Expresión de Glicoproteína P en órganos y/o tejidos (58).

El gen ABCB1 ha sido identificado plenamente y a continuación se detalla la información más relevante del gen: número de identificación, símbolo, ubicación, tejidos de expresión, etc. (59):

- Gene ID: 5243
- Símbolo oficial: ABCB1
- Nombre oficial completo: ATP binding cassette subfamily B member 1
- Fuente primaria: HGNC:HGNC:40
- Tipo de gen: codificador de proteínas
- Estado de RefSeq: revisado
- Organismo: *Homo sapiens*
- Linage: Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini; Catarrhini; Hominidae; Homo
- Alias: CLCS; MDR1; P-GP; PGY1; ABC20; CD243; GP170; p-170
- Expresión: expresión sesgada en suprarrenales (RPKM 76.0), intestino delgado (RPKM 43.0) y otros ocho tejidos
- Ortólogos: ratón

ABCB1 está localizado en el cromosoma 7 y su contexto genómico es:

- Ubicación: 7q21.12
- Recuento de exones: 32

Estructura cuaternaria del producto de codificación de ABCB1 (Glicoproteína P)

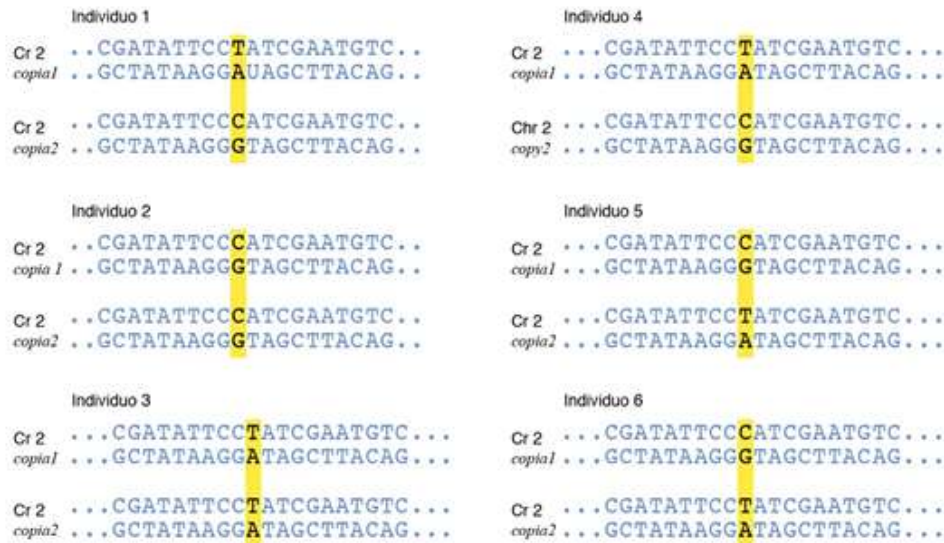


Gráfica 1. Ilustración de la Glicoproteína P.

Fuente: UniProt.

El primer polimorfismo del gen ABCB1 reportado por influenciar la farmacoterapia fue el polimorfismo de un único nucleótido (SNP) C3435T en el exón 26, encontrándose numerosos estudios de esa variante genética. Posteriormente, cerca de 28 SNPs del gen ABCB1 han sido identificados por afectar la farmacocinética de una amplia variedad de medicamentos (26), sin embargo, de esos 28 polimorfismos tres han sido los de mayor estudio: C3435T, C1236T y G2677T/A y se han asociado con modificaciones funcionales dependientes de sustrato o de inhibidor en estudios in vitro y expresión reducida en tejidos (60). Por el contrario, las investigaciones en el campo de los polimorfismos ABC en Colombia no son muy frecuentes y se han enfocado puntualmente en el polimorfismo C3435T del gen ABCB1 (MDR1) en pacientes con epilepsia refractaria; enfermedad en la que un estado heterocigoto (CT) hace que se exprese inadecuadamente la P-gp. En resumen, a la fecha en el país no se han publicado estudios sobre el SNP C3435T/ABCB1 y su relación con la respuesta farmacoterapéutica a medicamentos antihipertensivos (61).

En la actualidad los científicos estudian cómo los polimorfismos de un sólo nucleótido en el genoma humano se correlacionan con enfermedades, con la respuesta a los fármacos y con otros fenotipos (62). En la figura 1. Se ilustra un SNP tipo sustitución, donde timina es sustituida por citosina.



Gráfica 2. Ilustración de un SNP.

Fuente: National Human Genome Research Institute (62).

El genetista Francis S. Collins afirmó que polimorfismos de un solo nucleótido es una frase muy larga para entender algo muy simple que significa "cortar". El concepto de SNP es bastante sencillo y se refiere a los sitios del genoma donde las personas son diferentes y aproximadamente en una de cada 1000 letras del código genético se encuentra uno de esos sitios. En éste, un ser humano puede tener una T y otro puede tener una C. Esto es lo que se llama un SNP. La mayoría de los SNPs no tienen mucho significado, porque están en una parte del genoma que no tiene una función crítica, es decir, una región no codificante. Sin embargo, algunos de ellos confieren un riesgo para padecer enfermedades cardíacas y diabetes mellitus, por lo tanto, los SNPs son de gran interés en salud pública debido a que aportan datos acerca de por qué ocurren esas enfermedades (62).

Existen diversas técnicas para identificar los SNPs y el Laboratorio de Técnicas Instrumentales e Instalación Radiactiva de la Universidad de León propone las siguientes (63):

A- Mediante el Secuenciador Automático

El análisis de los SNPs se basa en el uso de cebadores específicos que terminen justo antes de la base a determinar. Se realiza una reacción de PCR sólo con los cuatro didesoxinucleótidos marcados cada uno con un fluoróforo diferente. La detección de la base incorporada revela la presencia/ausencia de polimorfismo.

Se pueden analizar varios SNPs en el mismo capilar puesto que el sistema permite la inyección consecutiva de varias reacciones. Para ello se ha de utilizar un «marcador de inyecciones múltiples».

Requisitos de los productos de PCR:

- Longitud mínima de 350 pb
- Purificados con ExoI/SAP

Requisitos de los cebadores:

- Deben haber sido purificados mediante HPLC.
- Longitud comprendida entre 18 y 25 nt (que acaben justo antes de los SNPs correspondientes).
- Concentración: 2 μ M.
- No deben formar estructuras secundarias (las últimas 3 bases del extremo 3' no deben ser complementarias a ninguna otra región del cebador).
- Evitar el uso del desoxinucleótido G en posición 3' terminal.

B- Mediante el equipo de Pirosecuenciación

El análisis de SNPs mediante la tecnología de “pyrosequencing” se basa en la liberación de pirofosfato inorgánico (PPi) por cada nucleótido incorporado durante el proceso normal de elongación de la cadena naciente de ADN.

De esta forma, se parte de un ADN molde monocatenario al que se añade un “primer” específico y una mezcla formada por los deoxinucleótidos trifosfato (dNTPs) y cuatro enzimas: ADN Polimerasa, ATP Sulfurilasa, Luciferasa y Apirasa, junto con los sustratos APS y Luciferina.

por cada dNTP incorporado se libera una molécula de PPi. Mediante una reacción en cadena en la que intervienen la Sulfurilasa y la Luciferasa se produce un pulso de luz que es captado a tiempo real por el detector tipo dispositivo de carga acomplada o CCD por sus siglas en inglés (Charge-Coupled Device).

Si el dNTP añadido no es el complementario a la base correspondiente no habrá elongación, no se producirá PPi ni emisión de luz y actuará la Apirasa transformándolo en dNDP, evitando, por tanto, interferencias en la siguiente adición de dNTPs. La secuencia final obtenida es analizada por el software que detectará la presencia/ausencia del SNP y su composición en bases.

Requisitos de los productos de PCR:

- Amplificados mediante 25-50 ciclos partiendo de “primers” de 0,2 μ M (uno de ellos biotinilado).
- Longitud entre 80 y 300 pb.
- Volumen entre 10 y 40 μ l máximo.

Requisitos de los primers de secuenciación:

- Deben ser primers convencionales, sin ningún tipo de marcaje.
- El extremo 3' debe estar próximo al SNP.

- La cantidad de *primer* necesario por cada muestra es de 40 µl de concentración 0,40 µM.

C- Mediante el Analizador de ADN

Esta técnica sirve para el «screening» o detección rápida de polimorfismos (SNPs, inserciones, deleciones o variaciones del tamaño de los microsatélites) bien en poblaciones con mutaciones inducidas (TILLING) o naturales (ECOTILLING). La técnica es capaz de detectar el polimorfismo y de localizar su posición de forma aproximada, pero no dice qué bases se han modificado. Para obtener esa información es necesario la secuenciación posterior del polimorfismo.

La técnica se basa en la electroforesis en gel de acrilamida de los ADN problema que han sido amplificados con dos primers, uno de ellos marcado con un fluoróforo que se excita a 685 nm (“IRD 700”) y el otro a 785 nm (“IRD 800”). Los fragmentos amplificados son desnaturalizados y renaturalizados entre ellos y/o frente a un control, de manera que en las posiciones donde existan los polimorfismos no habrá complementariedad total de las dos cadenas y se formarán bucles u horquillas. Un tratamiento posterior con nucleasas específicas romperá las cadenas en los puntos desapareados generándose dos fragmentos por cada corte, uno con marcaje IRD 700 y el otro con marcaje IRD 800. Dichos fragmentos, cuya suma de tamaños debe ser igual al tamaño del fragmento amplificado de partida, son separados por electroforesis y detectados simultáneamente generándose dos imágenes del gel durante la electroforesis, una por cada fluoróforo empleado, que pueden ser procesadas en software convencionales de tratamiento de imágenes. La superposición de ambas imágenes hace que la identificación del polimorfismo sea muy exacta, eliminando prácticamente la posibilidad de falsos positivos (63).

El pilar de las técnicas más populares para identificar SNPs es la reacción en cadena de polimerasa (PCR). Esta técnica amplifica exponencialmente cualquier segmento de ADN de secuencia conocida. El componente clave de una PCR es la

ADN polimerasa aislada de *Thermus aquaticus*, un microorganismo adaptado a vivir y multiplicarse a muy alta temperatura. Esta polimerasa termoestable (llamada Taq- por *Thermus aquaticus*) permite la replicación de cadenas en ciclos y produce un crecimiento exponencial del número de copias del ADN objetivo. Un ciclo PCR incluye tres etapas:

- I. Desnaturalización del ADN a 90-95 °C para separar el ADN en dos cadenas que servirán de plantilla
- II. Hibridación de una pareja de oligonucleótidos de cadena única corta (cebadores) complementarios de las regiones diana que flanquean por ambos extremos el fragmento de interés, a 45-65 °C
- III. Extensión de las cadenas recién sintetizadas de ADN iniciada por los cebadores y facilitada por la Taq-polimerasa, a 72 °C. Dicho ciclo se puede repetir, normalmente unas 25 a 45 veces, para permitir la amplificación de suficientes amplicones (un fragmento de un gen o de ADN sintetizado usando la PCR) para que se puedan detectar (64).

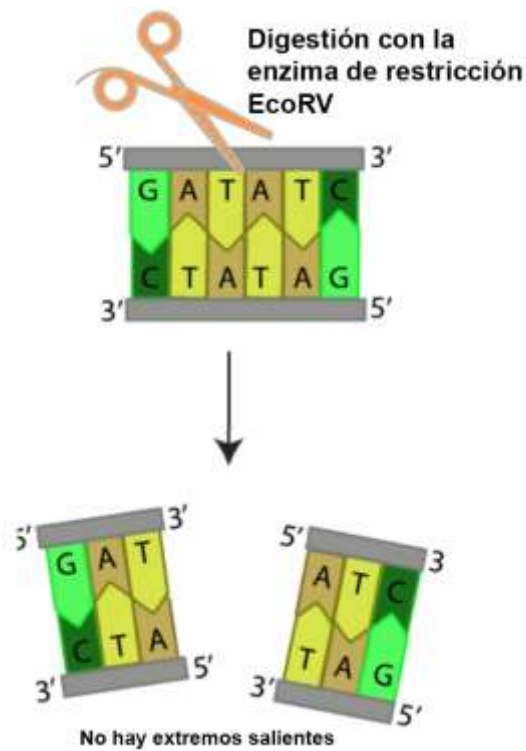
Sin embargo, la PCR por sí sola no es suficiente para identificar un SNP, por lo tanto, es necesario combinarla con otra técnica, frecuentemente con Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de Restricción (RFLP) que se refiere a secuencias específicas de nucleótidos en el ADN que son reconocidas y cortadas por las enzimas de restricción (también llamadas endonucleasas de restricción) y que varían entre individuos (65).

Al grupo de las enzimas de restricción pertenecen una gran diversidad de endonucleasas, descubiertas como enzimas propias de distintas bacterias y se dispone hoy comercialmente de un gran número de ellas con elevada especificidad, estabilidad y pureza (66).

La importancia de las enzimas de restricción radica en su gran especificidad para reconocer una secuencia corta de ADN bicatenario e hidrolizar un enlace fosfodiéster en cada hebra, siempre en la misma posición. Cada enzima se caracteriza por su sitio o secuencia de reconocimiento o de restricción, o

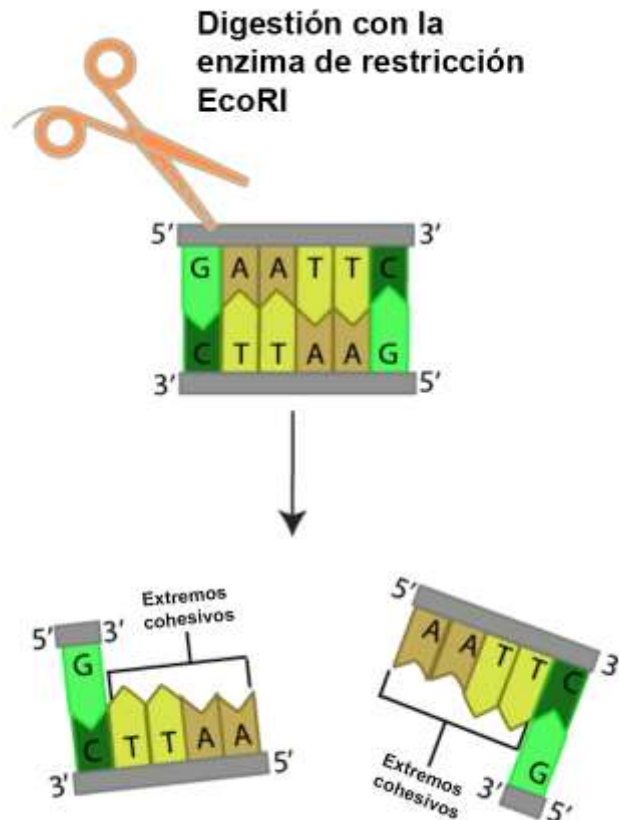
secuencia diana. Los fragmentos de ADN resultantes son útiles para iniciar la clonación celular o acelular, para el análisis del ADN, para elaborar mapas físicos de restricción o para la detección de polimorfismos (66).

La secuencia diana de una enzima de restricción es de tamaño variable, la mayoría de 4 y 6 nucleótidos, y con frecuencia es parcialmente palindrómica. Algunas enzimas de restricción cortan generando extremos llamados romos (ver gráfica 3) mientras que otras cortan generando extremos llamados cohesivos (ver gráfica 4) (66).



Gráfica 3. Extremos romos generados por una enzima de restricción.

Fuente: Gold Biotechnology (GoldBio).



Gráfica 4. Extremos cohesivos generados por una enzima de restricción.

Fuente: Gold Biotechnology (GoldBio).

Las enzimas de restricción son una herramienta básica en Biología molecular: en laboratorios de PCR, creación de sondas para hibridación, laboratorios de secuenciación de ADN, ingeniería genética, procesos de clonación, manejo de genotecas y en muchas otras áreas de genómica (66).

CAPÍTULO 4

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la asociación entre el polimorfismo C3435T del gen ABCB1, que codifica para la Glicoproteína P, y la respuesta terapéutica a medicamentos antihipertensivos en pacientes de una Institución Prestadora de Servicios de Salud (IPS) de Manizales.

Objetivos específicos

- Establecer la distribución de las frecuencias genotípicas del polimorfismo C3435T del gen ABCB1 en pacientes hipertensos captados en una IPS de Manizales.
- Calcular el porcentaje de pacientes que tienen una respuesta farmacoterapéutica efectiva al tratamiento con antihipertensivos sustrato de P-gp.
- Determinar la relación entre el polimorfismo C3435T del gen ABCB1 y la respuesta farmacológica a antihipertensivos.

CAPÍTULO 5

MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio de tipo observacional, transversal y de nivel relacional; en el cual participaron 59 de pacientes atendidos en una IPS de la ciudad de Manizales entre julio y noviembre de 2018. Posterior a la firma del consentimiento informado, a cada paciente se le indagó por sus antecedentes clínicos, le fue medida su presión arterial una vez y se le tomó una muestra de sangre.

Criterios de inclusión: mayor de edad, aceptar y firmar el consentimiento informado, tener diagnóstico de HTA esencial, asistir a controles médicos mensuales en una Institución Prestadora de Servicios de Salud (IPS), consumir con una antelación mínima de tres meses uno o más antihipertensivos sustrato de la P-gp descritos en la tabla 1.

Criterios de exclusión: tener diagnóstico de HTA resistente o refractaria y usuarios con antecedentes recientes de tabaquismo, alcoholismo y falta de adherencia al tratamiento farmacológico.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Identificación de genotipos

Para determinar el alelo polimórfico C3435T/ABCB1 a cada paciente se le tomó una muestra de 5 ml de sangre por punción venosa periférica antecubital, luego las muestras fueron procesadas siguiendo el procedimiento general que se describe a continuación:

El ADN genómico se aisló a partir de sangre periférica usando un kit comercial de extracción DNA 2000 de la empresa colombiana Corpogen, el polimorfismo

C3435T de ABCB1 se determinó usando la técnica Reacción en Cadena de la Polimerasa - Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de Restricción (PCR-RFLP) (64,65).

Los fragmentos del gen que codifica la P-gp (244 pb) en el exón 26 del gen ABCB1 se amplificaron a partir de ADN genómico con el *primer F* 5'-GATCTGTGAACTCTTGTTTCCA-3' y *primer R* 5'-GAAGAGAGACTTACATTAGGC -3'. La amplificación por PCR se realizó usando una mezcla de reactivos y taq polimerasa que se detalla en la tabla 3.

Componente	Cantidad en μL
Agua	422
Buffer 10X	82,5
MgCl ₂ 25mM	66
Dinucleótidos (dNTP) 2,5 μM	66
Primer F	33
Primer R	33
Albúmina Sérica Bovina (BSA)	33
Taq polimerasa	6,6
Total	742,1

Tabla 3. Mezcla de reactivos usados para hacer la PCR.

Luego el amplicón fue digerido con la enzima de restricción Mbol y por último separado por electroforesis en gel de agarosa al 3,5%.

El procedimiento detallado es el siguiente:

El ADN se aisló siguiendo los pasos descritos por el fabricante del kit de extracción. La concentración y pureza del ADN aislado se determinará de acuerdo a la proporción OD 260 nm/OD 280 nm (67,68).

Los pasos para el proceso de amplificación siguieron la ruta:

1. Desnaturalización: un ciclo inicial de 5 minutos a 94°C, seguido de 34 ciclos a 94°C por 30 segundos.
2. Alineado: a 56°C durante 30 segundos.
3. Extensión: a 72°C durante 30 segundos. La extensión final se hizo a 72°C durante 10 minutos.

Después de la amplificación por PCR, el producto (244 pb) fue digerido con la enzima de restricción *Mbol* durante 16 horas a 37°C generando fragmentos de: 172 pb, 68 pb y 4 pb para el alelo 3435C; 244 pb para el alelo 3435T; 244 pb, 172 pb y 68 pb para el alelo C3435T. Los resultados de los RFLP fueron separados por medio de una electroforesis en gel de agarosa al 3,5% (69).

Evaluación de la respuesta farmacoterapéutica

Para determinar la efectividad del tratamiento antihipertensivo a cada participante del estudio se le midió la presión arterial después de cinco minutos de reposo, sentado, con la espalda bien apoyada en el espaldar de la silla, los pies tocando el suelo, las piernas sin cruzar, las manos sin apretar y el brazo dominante apoyado más o menos a la altura del corazón. En las mediciones se usó un tensiómetro calibrado y se verificó que los participantes estuvieran relajados, sin prisa y que no hubieron comido ni ingerido bebidas estimulantes como el café en los últimos treinta minutos (70).

Análisis de datos

El análisis estadístico se realizó con el Software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versión 25 IBM (71). El estadístico de prueba fue Chi cuadrado de independencia, se evaluó el equilibrio Hardy – Weinberg, el nivel de significancia (α) fue de 0,05 y las variables del estudio con sus valores y criterios se describen en la tabla 4.

Variable	Categorías	Criterio
Respuesta Farmacoterapéutica (72).	Efectiva	Presión < 140/90mmHg
	No efectiva	Presión ≥ 140/90mmHg
Genotipo C3435T/ABCB1	CC	RFLP = 172pb + 68pb + 4pb
	CT	RFLP = 172pb + 68pb
	TT	RFLP = 244bp

Tabla 4. Variables centrales del estudio (73,28).

PROPUESTA DE ANÁLISIS DE DATOS

Manejo de variables

- Respuesta Farmacoterapéutica: la presión arterial es una variable numérica que se dicotomizó para hacerla categórica.
- Genotipo C3435T/ABCB1: es una variable categórica.

Estadígrafo

Dado que se tienen dos variables categóricas o cualitativas se debe seleccionar una prueba no paramétrica como la Chi cuadrado; particularmente Chi cuadrado de independencia para determinar si las variables están relacionadas, el Equilibrio de Hardy – Weinberg se verificó comparando un Chi cuadrado observado con un Chi cuadrado tabulado (74).

Consideraciones éticas

La investigación contó con la evaluación del comité de bioética de la Facultad de Ciencias para la Salud de la Universidad de Caldas, quien de acuerdo con la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud consideró que la investigación es de riesgo mínimo y le dio su aprobación con el consecutivo CBCS-035 del 30 de agosto de 2017. Además, todos los participantes firmaron el consentimiento informado, recibieron una copia de él y la toma de la muestra de sangre se hizo siguiendo protocolos de bioseguridad y por personal idóneo.

CAPÍTULO 6

RESULTADOS

En el presente estudio se incluyó un total de 59 sujetos hipertensos, de los cuales el 53% eran mujeres y 47% hombres, la edad promedio de los pacientes fue 65 años.

El porcentaje de pacientes que tuvieron una respuesta farmacoterapéutica efectiva al tratamiento antihipertensivo se muestra en la tabla 5. La distribución de las frecuencias genotípicas se muestra en la tabla 6. El resumen de la prueba para evaluar el equilibrio de Hardy – Weinberg se muestra en la tabla 7. Las características de la población se describen en las tablas 8 y 9, y lo más sustancial, los datos consignados en tabla 10 demuestran que el genotipo de C3435T/ABCB1 y la respuesta farmacoterapéutica a antihipertensivos sustrato de P-gp son variables independientes. Por otra parte, las gráficas 5, 6 y 7 muestran comparaciones entre variables y las gráficas 8 y 9 representan evidencias fotográficas de la electroforesis de los amplicones y los productos de digestión respectivamente.

Caracterización de las variables

RESPUESTA FARMACOTERAPÉUTICA		
Valores	Frecuencia absoluta	Frecuencia porcentual
Efectiva	26	44,1%
No efectiva	33	55,9%
Total general	59	100,0%

Tabla 5. Caracterización de la variable Respuesta farmacoterapéutica.

Los resultados de las pruebas moleculares se exponen en la tabla 6.

GENOTIPO C3435T/ABCB1		
Valores	Frecuencia absoluta	Frecuencia porcentual
CC	18	30,6%
CT	11	18,6%
TT	30	50,8%
Total general	59	100,0%

Tabla 6. Caracterización de la variable Genotipo C3435T/ABCB1.

Equilibrio de Hardy – Weinberg

La prueba de Chi cuadrado realizada con una significancia estadística (α) de 0,05 demostró que la población no cumple el Equilibrio de Hardy – Weinberg. El resumen de la prueba se muestra en la Tabla 7.

Una población está en Equilibrio de Hardy – Weinberg cuando el χ^2 calculado es menor que el χ^2 tabulado.

Genotipo	Valor observado	Valor esperado	χ^2 calculado	χ^2 tabulado
CC	18	9,44	21,97	3,84
CT	11	28,32		
TT	30	21,24		
Total general	59	59		

Tabla 7. Resumen de la prueba de Chi cuadrado.

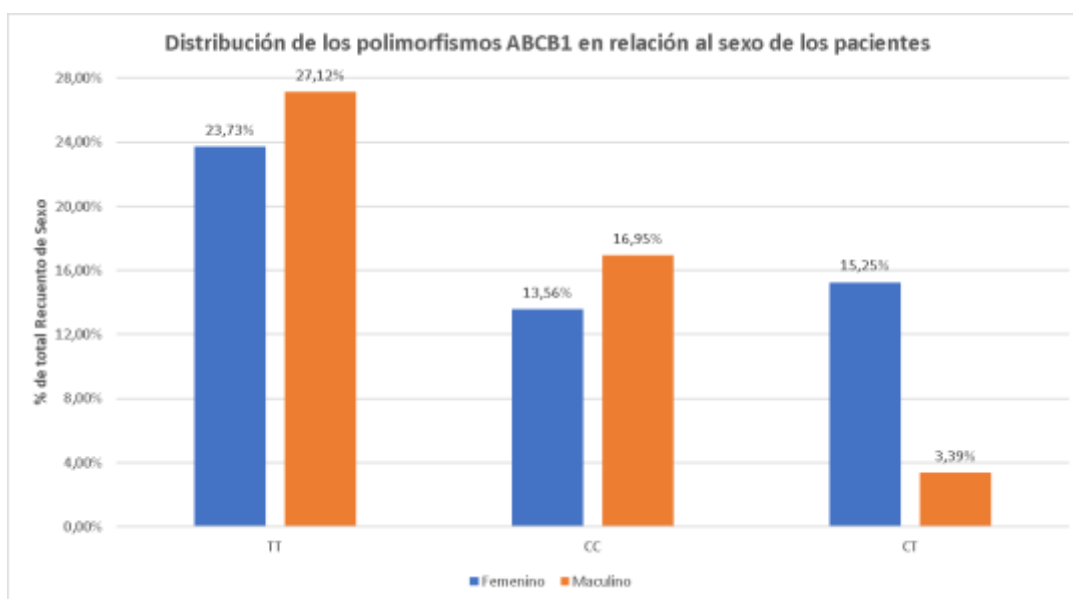
MUJERES	Media	Mediana	Moda	Desviación estándar	Coefficiente de variación
Edad	65	63	58	11	0,17
Talla	156	158	158	7	0,04
Peso	65	67	71	13	0,20
Presión sistólica	136	137	140	17	0,13
Presión diastólica	82	80	80	9	0,11

Tabla 8. Medidas de tendencia central de la población femenina.

HOMBRES	Media	Mediana	Moda	Desviación estándar	Coefficiente de variación
Edad	66	66	61	10	0,15
Talla	169	169	170	5	0,03
Peso	79	76	68	14	0,18
Presión sistólica	137	140	140	10	0,07
Presión diastólica	84	80	80	11	0,13

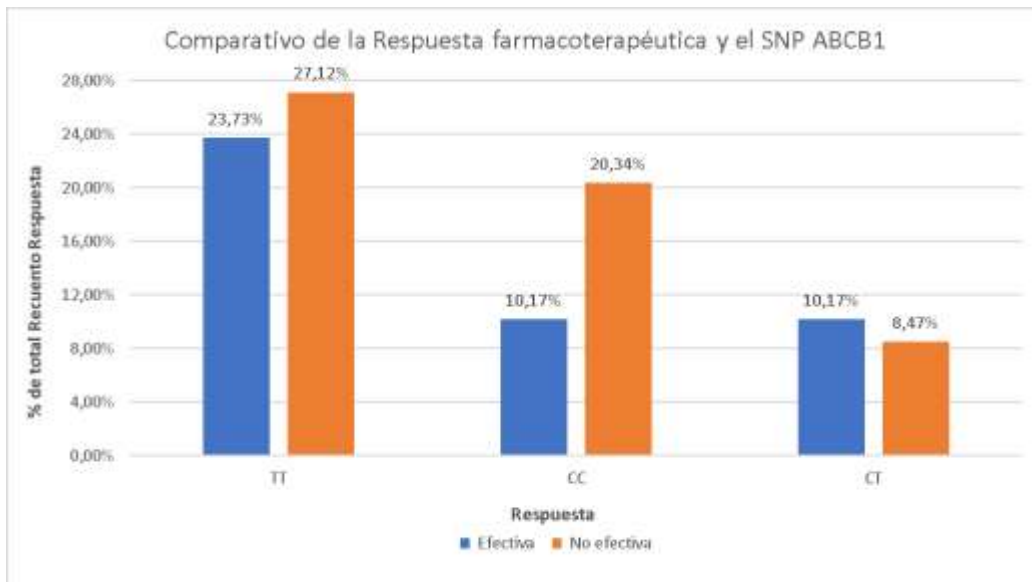
Tabla 9. Medidas de tendencia central de la población masculina.

El genotipo TT fue el más frecuente como se observa en la gráfica 5.



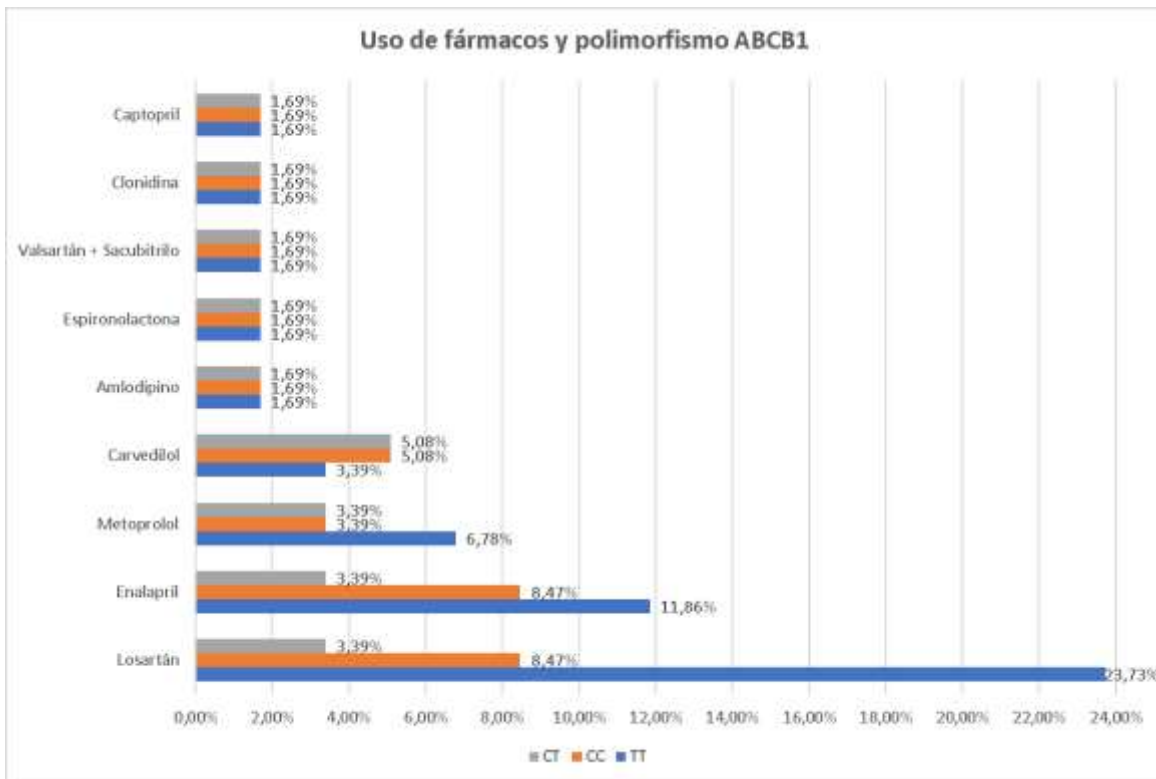
Gráfica 5. Comparativo entre sexo y polimorfismos.

El genotipo TT presentó los valores más altos tanto en respuesta farmacoterapéutica efectiva como inefectiva. Los genotipos CC y CT tuvieron una respuesta farmacoterapéutica equiparable evidenciada en la gráfica 6.



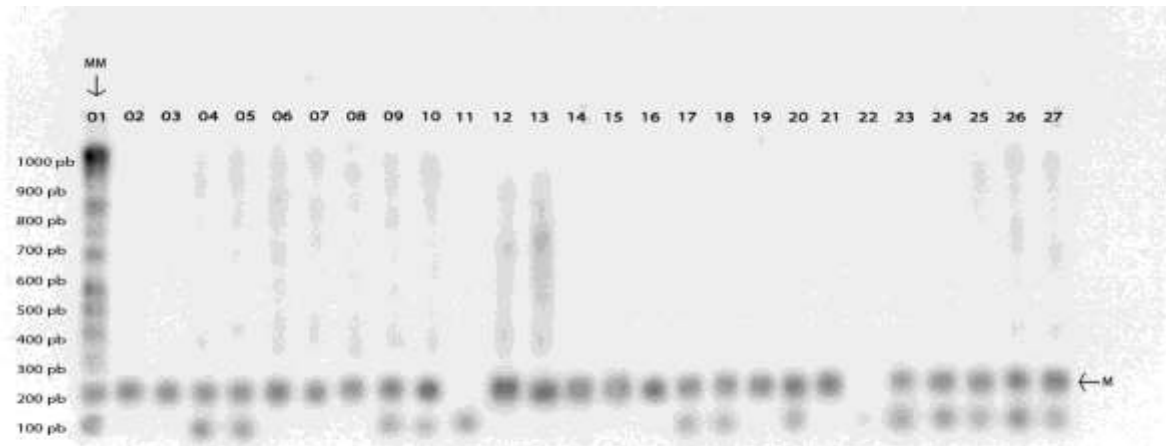
Gráfica 6. Comparativo entre respuesta y SNP.

Los antihipertensivos más usados en la población fueron losartán, enalapril y metoprolol como se muestra en la gráfica 7.



Gráfica 7. Gráfica 7. Uso de fármacos y polimorfismos ABCB1.

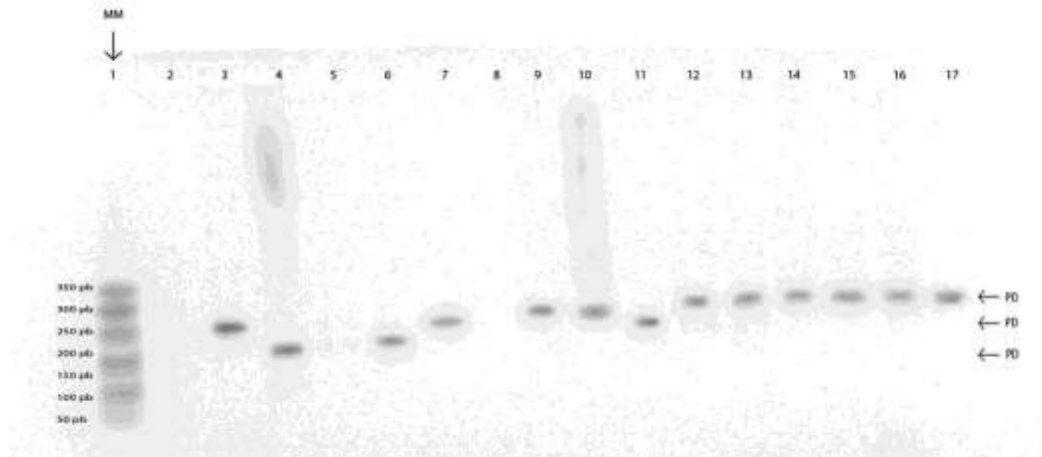
El desplazamiento de los productos de la PCR en presencia de un campo eléctrico se comparó con el desplazamiento de una escalera molecular confirmando la amplificación de un fragmento de ADN de 244pb tal como se ilustra en siguiente gráfica:



Gráfica 8. Electroforesis de amplicones.

MM = Marcador molecular, pb = pares de bases y M = muestra

Al igual que los productos de la PCR; los productos de la digestión de los amplicones requirieron ser comparados frente a una escalera molecular para identificar el genotipo de cada paciente y como evidencia del proceso se muestra la gráfica 9.



Gráfica 9. Electroforesis de los productos de digestión.

MM = Marcador molecular, pb = pares de bases y PD = producto de digestión

Para analizar los datos se dicotomizó la variable Genotipo C3435T/ABCB1 y se hizo una prueba de hipótesis con una significancia estadística (α) de 0,05 y los siguientes argumentos:

H_0 : El genotipo y la respuesta farmacoterapéutica son variables independientes

H_1 : El genotipo y la respuesta farmacoterapéutica son variables dependientes

Donde H_0 es la hipótesis nula y H_1 es la hipótesis alternativa.

Los datos usados para realizar la prueba de hipótesis y el Valor P obtenido se muestran en la tabla 10 y con un margen de error del 5% se concluyó que las variables son independientes.

Genotipo	Respuesta efectiva	Respuesta no efectiva	Valor P
Silvestre	6	12	0,271
Polimórfico	20	21	
Total	26	33	

Tabla 10. Genotipo vs respuesta.

CAPÍTULO 7

DISCUSIÓN

En la investigación realizada no se evidenció relación entre el polimorfismo C3435T del gen ABCB1 y la respuesta farmacoterapéutica a un grupo de antihipertensivos sustrato de P-gp, no obstante, el resultado obtenido difiere de lo hallado en otras investigaciones.

En particular, un estudio sobre el efecto de polimorfismos de ABCB1 y el género en la farmacocinética del amlodipino realizado por Zuo y cols., sugiere que en la monoterapia antihipertensiva con amlodipino son las mujeres con genotipos 3435CC y 3435CT los sujetos que obtienen mayor disminución de la presión arterial, sin embargo, no se puede generalizar que el alelo 3435C brinde mejor respuesta farmacoterapéutica comparado con el alelo 3435T debido a que otros estudios indican lo contrario, por ejemplo, Sychev y cols. en una investigación sobre efectos del polimorfismo rs1045642 (C3435T) de ABCB1 en la eficacia y seguridad de la terapia antihipertensiva con amlodipino, observaron un mayor efecto antihipertensivo y menores efectos adversos en los pacientes con genotipo 3435TT (28,75).

Además, una investigación realizada por Göktas y cols. sobre la relación entre polimorfismos genéticos del transportador de fármacos ABCB1 y la respuesta a losartán en pacientes hipertensos, reveló que la respuesta hipotensiva al losartán está significativamente afectada por el polimorfismo genético C3435T de ABCB1 y que los pacientes hipertensos con el alelo 3435T pueden presentar una mejor respuesta al tratamiento con losartán. El hallazgo de Göktas y cols. no contradice lo observado por Zuo y cols., por el contrario, reafirma la posibilidad de una relación entre el polimorfismo C3435T de ABCB1 y la respuesta farmacoterapéutica a antihipertensivos sustrato de P-gp y el hecho de que en la

investigación de Göktas y cols. se haya observado que el alelo 3435T brinda mejor respuesta antihipertensiva (contrario a lo observado por Zuo y cols.), posiblemente, se debe a las diferencias en el mecanismo de acción del losartán y del amlodipino; el losartán es un profármaco que necesita metabolizarse a su forma activa en el hepatocito, en cambio, el amlodipino es un fármaco que al metabolizarse en el hepatocito se vuelve inactivo (27).

Es importante mencionar que las poblaciones de los estudios realizados por Zuo y cols. y Sychev y cols., estaban en equilibrio Hardy–Weinberg, por el contrario, en la presente investigación la población no estaba en equilibrio y en el estudio de Göktas y cols. los investigadores no mencionaron si se cumplía el equilibrio Hardy–Weinberg. El hecho de que los resultados obtenidos por Zuo y cols. mostraran mejor respuesta antihipertensiva en mujeres con el alelo 3435C y que el estudio de Sychev y cols. mostró mejor respuesta antihipertensiva en sujetos con el alelo 3435T y que ambos estudios se hicieron con amlodipino y poblaciones en equilibrio Hardy–Weinberg; sugiere que hay otros factores con influencia en los resultados de los estudios de HTA y polimorfismo C3435T del gen ABCB1.

Concretamente, se presume que al menos dos factores influyeron notoriamente en el resultado de la presente investigación: Interacciones farmacológicas y polimorfismos diferentes a C3435T/ABCB1.

Las interacciones farmacológicas surgen de la polifarmacia habitual en los pacientes mayores de 65 años, quienes además de medicamentos antihipertensivos consumen antiagregantes plaquetarios, hipolipemiantes, antidiabéticos, hormona tiroidea (levotiroxina), diuréticos, antiinflamatorios no esteroideos (AINE) e inhibidores de la bomba de protones reconocidos por causar interacciones medicamentosas (76–79). Por ejemplo, los AINE, como el Ácido acetil salicílico, pueden disminuir el efecto antihipertensivo de todos los IECA lo cual es una interacción importante teniendo en cuenta que una cantidad

considerable de adultos mayores consumen 100mg diarios de ácido acetil salicílico para disminuir el riesgo cardiovascular, el mecanismo de esa interacción probablemente esté relacionado con la capacidad de los AINE para reducir la síntesis de prostaglandinas renales vasodilatadoras (80). Por otra parte, existen interacciones que incrementan la respuesta farmacoterapéutica, por ejemplo, la cloroquina aumenta el nivel o el efecto del amlodipino alterando su metabolismo por la enzima CYP3A4 hepática e intestinal, la fluoxetina aumenta los efectos del carvedilol, el propranolol y el metoprolol alterando el metabolismo de estos por la enzima hepática CYP2D6 (81).

Posiblemente, los polimorfismos diferentes a C3435T/ABCB1 sea el factor que más influyó en los resultados del estudio porque las interacciones farmacológicas se pueden detectar y con frecuencia los médicos tratantes las evitan bloqueando su efecto, en cambio, los polimorfismos sólo se detectan con técnicas de biología molecular y predecir su efecto en la farmacoterapia es complejo más aún cuando existe una gran cantidad de genes polimórficos, por eso, sólo se mencionarán algunos genes relevantes a manera de ejemplo.

Se destaca el gen del angiotensinógeno, muy relevante debido a que sus niveles pueden repercutir en la aparición de HTA y porque diversos estudios en los Estados Unidos y Francia acerca de un polimorfismo de un dinucleótido microsatélite en el extremo 3' del gen del angiotensinógeno en parejas de hermanos hipertensos, demostraron una frecuencia significativa de alelos comunes. De igual forma, se ha identificado una variante de secuencia polimórfica en el gen del angiotensinógeno, que hace que la metionina o la treonina se expresen en la posición 235 de la glicoproteína angiotensinógeno, y la variante con treonina se ha relacionado con el aumento de los niveles de angiotensinógeno e HTA (82).

Otros genes importantes son: el gen de la aldosterona sintasa (CYP11B2) que cuando presenta el polimorfismo C344T incrementa el riesgo de infarto cerebral e

HTA y los genes HSD3B1 y HSD3B2 que codifican enzimas necesarias para la síntesis de esteroides hormonales, incluida la aldosterona, cuyos polimorfismos influyen en el riesgo de HTA. Del mismo modo, se ha reseñado el gen ADD1 que codifica una proteína llamada Aducina 1 y que favorece la unión entre la Espectrina y la Actina, debido a su interacción entre los filamentos de Actina y de Espectrina, tiene una importante función en la arquitectura de la membrana y sobre la actividad de ciertos canales, en particular, el cotransporte de Na-K-Cl y Na-KATPasa. El polimorfismo G460W del gen de la Aducina1 es más frecuente en los hipertensos que en los normotensos y parece predisponer a una sensibilidad particular al NaCl y a la HTA (83).

A su vez, el gen ABCB1 tiene otros dos polimorfismos importantes: C1236T y G2677T/A y a pesar de que la presente investigación se haya centrado en C3435T; está demostrado que los alelos polimórficos G2677T y C1236T del gen ABCB1 alteran el transporte, la biodisponibilidad y la eficacia de ciertos fármacos, entre ellos antihipertensivos como el Losartán (27).

También es factible que la presencia de polimorfismos de CYP hayan modificado el metabolismo de los medicamentos antihipertensivos alterando la respuesta farmacoterapéutica e influyendo en los resultados de la investigación, particularmente, la subfamilia CYP3A se ha implicado en la regulación de la presión arterial y puede ser un factor de riesgo potencial para el desarrollo de HTA (84).

Por otra parte, existe una importante interacción entre polimorfismos de genes que codifican proteínas de metabolismo y transporte y la ingesta de NaCl como lo muestra el estudio sobre CYP3A4, ABCB1 e HTA realizado por Bochud y cols. quienes descubrieron que los genes CYP3A5 y ABCB1 interactuaban entre sí y que su efecto sobre la presión arterial está modulado por la ingesta de NaCl de una persona. Esa interacción gen-gen-ambiente ilustra las complejas interrelaciones entre los genes y los factores ambientales en la genética de la

presión arterial. La investigación de Bochud y cols. mostró que en sujetos con una alta excreción urinaria de sodio; el alelo CYP3A5*1 se asocia a una presión arterial más alta en ausencia del alelo ABCB1 3435T y el alelo ABCB1 3435T se asocia a una presión arterial más alta en ausencia del alelo CYP3A5*1, mientras que los sujetos que portan ambos alelos tienen una presión arterial más baja que los sujetos que portan tan solo uno de los alelos. Esos resultados sugieren que los alelos ABCB1 3435T y CYP3A5*1 tienen un efecto antagónico sobre la presión arterial, particularmente en condiciones de alto consumo de NaCl en la dieta (85).

Es importante aclarar que la muestra de 59 pacientes fue pequeña considerando la alta prevalencia de la hipertensión arterial en Colombia, sin embargo, en los antecedentes investigativos; se encontraron trabajos con tamaños muestrales pequeños, entre ellas la investigación realizada por Göktas y cols. en la que los autores usaron una muestra de 74 pacientes, además, como se expuso en párrafos previos en este estudio hubo tantas variables con influencia en los resultados que no se puede asegurar que con un tamaño de muestra mucho más grande los resultados hubieran sido diferentes. También, es importante reconocer las limitaciones que tuvo la investigación y entre ellas se destacan el hecho de no encontrar pacientes con monoterapia antihipertensiva y la imposibilidad de evaluar otros SNP del gen ABCB1 porque los recursos económicos y tecnológicos fueron limitados.

CAPÍTULO 8

CONCLUSIONES

En la población estudiada la dominancia del alelo T del polimorfismo C3435T/ABCB1 es notoria siendo el genotipo TT es el más común con una frecuencia del 50,8%; la frecuencia de los genotipos CC y CT es de 30,6% y 18,6% respectivamente. Además, se observó que el 44,1% de los pacientes tuvo una respuesta farmacoterapéutica efectiva al tratamiento con antihipertensivos, sin embargo, no se demostró la relación entre el polimorfismo C3435T/ABCB1 y la respuesta farmacoterapéutica a los antihipertensivos sustrato de P-gp, por consiguiente, es necesario hacer nuevos estudios con pacientes que tengan esquemas de monoterapia antihipertensiva y disminuir los factores que influyen en los resultados.

El 55,9% de los pacientes tuvo cifras de presión arterial por encima de 140/90mmHg y presentó mayor riesgo de sufrir infarto agudo de miocardio y muerte súbita o desarrollar insuficiencia cardiaca, enfermedad arterial periférica y enfermedad renal.

CAPÍTULO 9

RECOMENDACIONES

En los próximos estudios del polimorfismo C3435T/ABCB1 y la respuesta farmacoterapéutica es necesario que las condiciones de la investigación permitan evaluar la influencia de las interacciones farmacológicas, los polimorfismos de CYP, la dieta del paciente y las variaciones farmacocinéticas en el adulto mayor. También es necesario que los fármacos y los profármacos se evalúen por separado debido a sus diferencias metabólicas.

Se recomienda que las mediciones de presión arterial se hagan en diferentes escenarios (intrahospitalario y ambulatorio) y en varios momentos del día para minimizar el efecto de hipertensión de bata blanca.

CAPÍTULO 10

BIBLIOGRAFÍA

1. Unger T, Borghi C, Charchar F, Khan NA, Poulter NR, Prabhakaran D, et al. 2020 International Society of Hypertension global hypertension practice guidelines. *J Hypertens.* junio de 2020;38(6):982-1004.
2. The prevalence and control of hypertension in adults - UpToDate [Internet]. [citado 16 de noviembre de 2021]. Disponible en: https://www.uptodate.com/contents/the-prevalence-and-control-of-hypertension-in-adults?search=The%20prevalence%20and%20control%20of%20hypertension%20in%20adults&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1
3. dia-mundial-hipertension-2017.pdf [Internet]. [citado 15 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ENT/dia-mundial-hipertension-2017.pdf>
4. Observatorio Nacional de Salud. Informe Técnico de Carga de Enfermedad por Enfermedades Crónicas No Transmisibles y Discapacidad en Colombia [Internet]. Bogotá - Colombia: Ministerio de Salud y Protección Social; 2015 jun [citado 4 de febrero de 2017] p. 100-7. Report No.: 5. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/ons/SiteAssets/Paginas/publicaciones/5to%20Informe%20ONS%20v-f1.pdf>
5. “Conoce tus números” para prevenir la hipertensión arterial [Internet]. [citado 15 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/Paginas/Conoce-tus-numeros-para-prevenir-la-hipertension-arterial.aspx>
6. Yu L, Liao WP, Yi YH, Qiu G. ABCB1 G2677T/A polymorphism is associated with the risk of drug-resistant epilepsy in Asians. *Epilepsy Res.* 1 de septiembre de 2015;115:100-8.
7. BaniHani MN, Khabour OF, Alzoubi KH, Bashir NA, Shakhathreh MAK, Sabi SH, et al. The Association between ABCB1 C1236T/C3435T SNPs and H. pylori Infection among Jordanians. *Genes.* enero de 2020;11(1):63.
8. Liu M, Li Y, Citterio L, Huang QF, Zeng WF, Sheng CS, et al. A functional common polymorphism of the ABCB1 gene is associated with chronic kidney disease and hypertension in Chinese. *Am J Hypertens.* diciembre de 2013;26(12):1428-36.

9. Li SX, Liu YY, Wang QB. ABCB1 gene C3435T polymorphism and drug resistance in epilepsy: evidence based on 8,604 subjects. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res.* 2015;21:861-8.
10. Soriano Carrascosa L, Sabatel Gómez-Román JL, Valle Soriano L, Gil Extremera B. Estudio del uso de fármacos antihipertensivos en ancianos. Study of antihypertensive drugs prescribed in old people [Internet]. diciembre de 2012 [citado 27 de marzo de 2022]; Disponible en: <https://digibug.ugr.es/handle/10481/36458>
11. Guía de práctica clínica de la ESH/ESC 2013 para el manejo de la hipertensión arterial. *Rev Esp Cardiol.* 2013;66(11):880-880.
12. Machado-Duque ME, Ramírez-Valencia DM, Medina-Morales DA, Machado-Alba JE. Effectiveness and clinical inertia in the management of hypertension in patients in Colombia. *J Am Soc Hypertens.* noviembre de 2015;9(11):878-84.
13. Robles BH. Factores de riesgo para la hipertensión arterial. *Arch Cardiol México.* 2001;71:208-10.
14. Factores de riesgo para la hipertensión arterial [Internet]. [citado 9 de marzo de 2017]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/archi/ac-2001/acs011aq.pdf>
15. Valle LG del, Martínez CLR, Hernández RG, González-Abreu MCH, Alfonso YB. Actualidades sobre la farmacogenética y las bases moleculares de la respuesta variable a los fármacos. *Rev Cuba Farm [Internet].* 21 de diciembre de 2017 [citado 16 de noviembre de 2021];51(1). Disponible en: <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/190>
16. ABCB1 Polymorphism and Gender Affect the Pharmacokinetics of Amlodipine in Chinese Patients with Essential Hypertension: A Population Analysis [Internet]. [citado 10 de julio de 2016]. Disponible en: http://biblio.ucaldas.edu.co:2119/S1347436715303414/1-s2.0-S1347436715303414-main.pdf?_tid=edc8333e-471c-11e6-8f10-0000aacb35e&acdnat=1468210205_9a4407aa0a3e511811e1ce2728b719d0
17. Relationship between genetic polymorphisms of drug efflux transporter MDR1 (ABCB1) and response to losartan in hypertension patients [Internet]. [citado 10 de julio de 2016]. Disponible en: <http://www.europeanreview.org/wp/wp-content/uploads/2460-2467-Relationship-between-genetic-polymorphisms-of-drug-efflux-transporter-MDR1-ABCB1-and-response-to-losartan-in-hypertension-patients.pdf>
18. Información general sobre la HIPERTENSIÓN en el mundo [Internet]. [citado 7 de noviembre de 2016]. Disponible en:

http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/87679/1/WHO_DCO_WHD_2013.2_spa.pdf

19. Guía ESC/ESH 2018 sobre el diagnóstico y tratamiento de la hipertensión arterial [Internet]. [citado 17 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.revespcardiol.org/es-pdf-S0300893218306791>
20. Guía de práctica clínica de la ESH/ESC 2013 para el manejo de la hipertensión arterial [Internet]. [citado 30 de septiembre de 2016]. Disponible en: http://pdf.revespcardiol.org/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=90249392&pident_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=25&ty=38&accion=L&origen=cardio&web=www.revespcardiol.org&lan=es&fichero=25v66n11a90249392pdf001.pdf&anuncioPdf=ERROR_publico_pdf
21. Arribas IA. Farmacogenética y variabilidad interindividual en la respuesta a los medicamentos [Internet]. Farmacogenética y variabilidad interindividual en la respuesta a los medicamentos. 2010 [citado 7 de junio de 2021]. Disponible en: https://www.gbcbiotech.com/acervo-pdf/variaciones/espuesta_a_los_medicamentos.pdf
22. Morales-Pérez M, Milián A. Papel de la superfamilia ABC en la resistencia farmacológica. Horiz Sanit. 18 de mayo de 2017;16:93.
23. Nobili S, Lapucci A, Landini I, Coronello M, Roviello G, Mini E. Role of ATP-binding cassette transporters in cancer initiation and progression. Semin Cancer Biol. 1 de febrero de 2020;60:72-95.
24. Silva et al. - 2015 - Modulation of P-glycoprotein efflux pump inductio.pdf [Internet]. [citado 9 de noviembre de 2016]. Disponible en: http://biblio.ucaldas.edu.co:2137/S0163725814002137/1-s2.0-S0163725814002137-main.pdf?_tid=587eed02-a63c-11e6-83de-00000aacb35f&acdnat=1478669059_79b445da2114bea86cea80c2252e7673
25. Transportadores de lípidos biliares: una revisión actualizada [Internet]. [citado 11 de noviembre de 2016]. Disponible en: <http://www.scielo.org.ve/pdf/gen/v67n1/art12.pdf>
26. The P-Glycoprotein Transport System and Cardiovascular Drugs [Internet]. [citado 30 de septiembre de 2016]. Disponible en: http://biblio.ucaldas.edu.co:2137/S0735109713012916/1-s2.0-S0735109713012916-main.pdf?_tid=57f6174c-8793-11e6-91f8-00000aab0f6c&acdnat=1475297938_937a66078d7e4daea970a277ae88f5f9
27. Göktaş MT, Pepedil F, Karaca Ö, Kalkışım S, Cevik L, Gumus E, et al. Relationship between genetic polymorphisms of drug efflux transporter

MDR1 (ABCB1) and response to losartan in hypertension patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016;20(11):2460-7.

28. Sychev D, Shikh N, Morozova T, Grishina E, Ryzhikova K, Malova E. Effects of ABCB1 rs1045642 polymorphisms on the efficacy and safety of amlodipine therapy in Caucasian patients with stage I-II hypertension. *Pharmacogenomics Pers Med.* 2018;11:157-65.
29. Takara K, Kakumoto M, Tanigawara Y, Funakoshi J, Sakaeda T, Okumura K. Interaction of digoxin with antihypertensive drugs via MDR1. *Life Sci.* 15 de febrero de 2002;70(13):1491-500.
30. Wang EJ, Casciano CN, Clement RP, Johnson WW. Active transport of fluorescent P-glycoprotein substrates: evaluation as markers and interaction with inhibitors. *Biochem Biophys Res Commun.* 30 de noviembre de 2001;289(2):580-5.
31. Jonsson O, Behnam-Motlagh P, Persson M, Henriksson R, Grankvist K. Increase in doxorubicin cytotoxicity by carvedilol inhibition of P-glycoprotein activity. *Biochem Pharmacol.* 1 de diciembre de 1999;58(11):1801-6.
32. Neuhoff S, Langguth P, Dressler C, Andersson TB, Regårdh CG, Spahn-Langguth H. Affinities at the verapamil binding site of MDR1-encoded P-glycoprotein: drugs and analogs, stereoisomers and metabolites. *Int J Clin Pharmacol Ther.* abril de 2000;38(4):168-79.
33. Hokama N, Hobara N, Sakai M, Kameya H, Ohshiro S, Sakanashi M. Influence of nicardipine and nifedipine on plasma carvedilol disposition after oral administration in rats. *J Pharm Pharmacol.* junio de 2002;54(6):821-5.
34. Kakumoto M, Sakaeda T, Takara K, Nakamura T, Kita T, Yagami T, et al. Effects of carvedilol on MDR1-mediated multidrug resistance: comparison with verapamil. *Cancer Sci.* enero de 2003;94(1):81-6.
35. Brodde OE, Kroemer HK. Drug-drug interactions of beta-adrenoceptor blockers. *Arzneimittelforschung.* 2003;53(12):814-22.
36. Faassen F, Vogel G, Spanings H, Vromans H. Caco-2 permeability, P-glycoprotein transport ratios and brain penetration of heterocyclic drugs. *Int J Pharm.* 16 de septiembre de 2003;263(1-2):113-22.
37. Wang E, Lew K, Barecki M, Casciano CN, Clement RP, Johnson WW. Quantitative distinctions of active site molecular recognition by P-glycoprotein and cytochrome P450 3A4. *Chem Res Toxicol.* diciembre de 2001;14(12):1596-603.
38. Döppenschmitt S, Langguth P, Regårdh CG, Andersson TB, Hilgendorf C, Spahn-Langguth H. Characterization of binding properties to human P-

glycoprotein: development of a [³H]verapamil radioligand-binding assay. *J Pharmacol Exp Ther.* enero de 1999;288(1):348-57.

39. Neuhoff S, Ungell AL, Zamora I, Artursson P. pH-dependent bidirectional transport of weakly basic drugs across Caco-2 monolayers: implications for drug-drug interactions. *Pharm Res.* agosto de 2003;20(8):1141-8.
40. Geick A, Eichelbaum M, Burk O. Nuclear receptor response elements mediate induction of intestinal MDR1 by rifampin. *J Biol Chem.* 4 de mayo de 2001;276(18):14581-7.
41. Katoh M, Nakajima M, Yamazaki H, Yokoi T. Inhibitory potencies of 1,4-dihydropyridine calcium antagonists to P-glycoprotein-mediated transport: comparison with the effects on CYP3A4. *Pharm Res.* octubre de 2000;17(10):1189-97.
42. Kim RB, Wandel C, Leake B, Cvetkovic M, Fromm MF, Dempsey PJ, et al. Interrelationship between substrates and inhibitors of human CYP3A and P-glycoprotein. *Pharm Res.* marzo de 1999;16(3):408-14.
43. Polli JW, Wring SA, Humphreys JE, Huang L, Morgan JB, Webster LO, et al. Rational use of in vitro P-glycoprotein assays in drug discovery. *J Pharmacol Exp Ther.* noviembre de 2001;299(2):620-8.
44. Nagy H, Goda K, Fenyvesi F, Bacsó Z, Szilasi M, Kappelmayer J, et al. Distinct groups of multidrug resistance modulating agents are distinguished by competition of P-glycoprotein-specific antibodies. *Biochem Biophys Res Commun.* 19 de marzo de 2004;315(4):942-9.
45. Dohse M, Scharenberg C, Shukla S, Robey RW, Volkmann T, Deeken JF, et al. Comparison of ATP-binding cassette transporter interactions with the tyrosine kinase inhibitors imatinib, nilotinib, and dasatinib. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem.* agosto de 2010;38(8):1371-80.
46. Dey S, Ramachandra M, Pastan I, Gottesman MM, Ambudkar SV. Evidence for two nonidentical drug-interaction sites in the human P-glycoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 30 de septiembre de 1997;94(20):10594-9.
47. D'Emanuele A, Jevprasesphant R, Penny J, Attwood D. The use of a dendrimer-propranolol prodrug to bypass efflux transporters and enhance oral bioavailability. *J Control Release Off J Control Release Soc.* 24 de marzo de 2004;95(3):447-53.
48. Challa VR, Ravindra Babu P, Challa SR, Johnson B, Maheswari C. Pharmacokinetic interaction study between quercetin and valsartan in rats and in vitro models. *Drug Dev Ind Pharm.* 1 de junio de 2013;39(6):865-72.

49. Kugawa F, Suzuki T, Miyata M, Tomono K, Tamanoi F. Construction of a model cell line for the assay of MDR1 (multi drug resistance gene-1) substrates/inhibitors using HeLa cells. *Pharm.* mayo de 2009;64(5):296-300.
50. Tfelt-Hansen P, Tfelt-Hansen J. Verapamil for cluster headache. *Clinical pharmacology and possible mode of action. Headache.* enero de 2009;49(1):117-25.
51. Kamiyama E, Nakai D, Mikkaichi T, Okudaira N, Okazaki O. Interaction of angiotensin II type 1 receptor blockers with P-gp substrates in Caco-2 cells and hMDR1-expressing membranes. *Life Sci.* enero de 2010;86(1-2):52-8.
52. PRINCIPIO INTERACCION FARMACOLOGICA PRACTICA MEDICA | KELLY COZZA | Casa del Libro [Internet]. casadellibro. 2006 [citado 28 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.casadellibro.com/libro-principio-interaccion-farmacologica-practica-medica/9788497510936/1066674>
53. Méndez C. LA GLICOPROTEÍNA P Y LA RESISTENCIA A FÁRMACOS [Internet]. Departamento de Bioquímica, Biología Molecular y Química Orgánica. 20214 [citado 20 de noviembre de 2021]. Disponible en: <http://www.encuentros.uma.es/encuentros33/glicoprot33.html>
54. Ruiz Gómez MJ, Souviron Rodríguez A, Martínez Morillo M. La glicoproteína-P una bomba de membrana que representa una barrera a la quimioterapia de los pacientes con cáncer. *An Med Interna.* septiembre de 2002;19(9):49-57.
55. Aleu J. Estudio funcional de la glicoproteína-P (transportador de múltiples fármacos) transplantada a ovocitos de *Xenopus laevis* [Internet] [<http://purl.org/dc/dcmitype/Text>]. Universitat d'Alacant - Universidad de Alicante; 1996 [citado 20 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=1933>
56. Pauly M, Ries F, Dicato M. Genetic aspects of multidrug resistance. *Med Oncol Tumor Pharmacother.* 1 de marzo de 1992;9(1):21.
57. Influencia de la Glicoproteína-P, la CYP3A4 y las propiedades moleculares sobre la biodisponibilidad de los fármacos [Internet]. [citado 20 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://dspace.uclv.edu.cu/bitstream/handle/123456789/2869/Q07009.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
58. Tissue expression of ABCB1 - Summary - The Human Protein Atlas [Internet]. [citado 21 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000085563-ABCB1/tissue>

59. PubChem. ABCB1 - ATP binding cassette subfamily B member 1 (human) [Internet]. [citado 21 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/gene/ABCB1/human>
60. Tapia AJLB. Polimorfismos del gen MDR1 (ABCB1): Efectos funcionales e implicaciones clínicas. *Rev Investig Clínica*. 2013;65(5):445-54.
61. Parra HMV, Rodríguez LF, González C, Zambrano V, Espinosa E, Izquierdo Á. Polimorfismo C3435T del Gen ABCB1 (MDR1) en pacientes con Epilepsia refractaria en tres centros de referencia Nacional en Colombia. *Rev Med*. 15 de octubre de 2011;33(4):249-59.
62. Polimorfismos de nucleótido único (SNPs) | NHGRI [Internet]. Genome.gov. [citado 21 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Polimorfismos-de-nucleotido-%C3%BAnico>
63. Análisis de SNPs | Laboratorio de Técnicas Instrumentales e Instalación Radiactiva [Internet]. [citado 21 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://servicios.unileon.es/lti-ir/lti/area-de-analisis-de-acidos-nucleicos/analisis-de-snps/>
64. Marcadores moleculares: una herramienta para explorar la diversidad genética [Internet]. [citado 21 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.fao.org/3/a1250s/a1250s17.pdf>
65. Polimorfismos_de_longitud_de_fragmentos_de_restricción [Internet]. [citado 21 de noviembre de 2021]. Disponible en: https://www.quimica.es/enciclopedia/Polimorfismos_de_longitud_de_fragmentos_de_restricci%C3%B3n.html
66. INTRODUCCION-ENZ-RESTRICCION.pdf [Internet]. [citado 21 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.bioted.es/protocolos/INTRODUCCION-ENZ-RESTRICCION.pdf>
67. Campo-Portacio DM, Discuviche-Rebolledo MA, Blanco-Tuirán PJ, Montero-Pérez YM, Orozco-Méndez KE, Assia-Mercado YM. Detección de *Toxoplasma gondii* por amplificación del gen B1 en carnes de consumo humano. *Infectio*. julio de 2014;18(3):93-9.
68. Instituto de Biotecnología-UNAM. Cuantificación [Internet]. [citado 11 de marzo de 2017]. Disponible en: <http://www.ibt.unam.mx/sintesis/cuantificacion.html>
69. Emich-Widera E, Likus W, Kazek B, Sieroń AL, Urbanek K. Polymorphism of ABCB1/MDR1 C3435T in children and adolescents with partial epilepsy is due to different criteria for drug resistance - preliminary results. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. 2014;20:1654-61.

70. Medir correctamente la tensión arterial [Internet]. [citado 10 de abril de 2022]. Disponible en: <https://www.riojasalud.es/servicios/nefrologia/articulos/medir-correctamente-la-tension-arterial>
71. SPSS Statistics - Visión General [Internet]. 2021 [citado 28 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.ibm.com/co-es/products/spss-statistics>
72. Hipertensión [Internet]. [citado 16 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>
73. Espinoza Freire EE, Espinoza Freire EE. Las variables y su operacionalización en la investigación educativa. Segunda parte. Conrado. diciembre de 2019;15(69):171-80.
74. Tabla Chi-Cuadrado.pdf [Internet]. [citado 5 de diciembre de 2021]. Disponible en: <http://www.mat.uda.cl/hsalinas/cursos/2010/eyp2/Tabla%20Chi-Cuadrado.pdf>
75. Zuo X cong, Zhang W li, Yuan H, Barrett JS, Hua Y, Huang Z jun, et al. ABCB1 Polymorphism and Gender Affect the Pharmacokinetics of Amlodipine in Chinese Patients with Essential Hypertension: A Population Analysis. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2014;29(4):305-11.
76. García-Muñío R, Satústegui-Dordá PJ, Tejedor-Hernández L. Interacciones farmacológicas potenciales en población mayor de 64 años atendida en Atención Primaria. *Med Fam SEMERGEN*. 1 de mayo de 2020;46(4):254-60.
77. Villa J, Cano A, Franco D, Monsalve M, Hincapié J, Amariles P. Relevancia clínica de las interacciones medicamentosas entre antiinflamatorios no esteroideos y antihipertensivos. *Aten Primaria*. noviembre de 2014;46(9):464-74.
78. Abellán Alemán J, Martínez Pastor A, Sánchez Gómez MJ, Arenas Alcaraz JF. antihipertensivos. Interés de sus interacciones con otros fármacos en atención primaria. *Med Integral*. 1 de mayo de 2002;39(9):399-407.
79. Morales-Olivas FJ, Estañ L. Interacciones farmacológicas de los fármacos antihipertensivos. *Med Clínica*. 28 de mayo de 2005;124(20):782-9.
80. Capoten, Captoril (captopril) dosing, indications, interactions, adverse effects, and more [Internet]. [citado 1 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://reference.medscape.com/drug/capoten-captoril-captopril-342315#3>
81. Prozac, Sarafem (fluoxetine) dosing, indications, interactions, adverse effects, and more [Internet]. [citado 1 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://reference.medscape.com/drug/prozac-sarafem-fluoxetine-342955#3>

82. Casanova Noche P, Noche González G. Bases genéticas y moleculares de la enfermedad arterial hipertensiva. *Medicentro Electrónica*. diciembre de 2016;20(4):248-58.
83. Quiroga de Michelena MI. Hipertensión arterial - Aspectos genéticos. *An Fac Med*. 9 de mayo de 2011;71(4):231.
84. Zhang YP, Zuo XC, Huang ZJ, Cai JJ, Wen J, Duan DD, et al. CYP3A5 polymorphism, amlodipine and hypertension. *J Hum Hypertens*. marzo de 2014;28(3):145-9.
85. Bochud M, Bovet P, Burnier M, Eap CB. CYP3A5 and ABCB1 genes and hypertension. *Pharmacogenomics*. marzo de 2009;10(3):477-87.