

BIOLOGIA MOLECULAR

Bases moleculares de la hipertensión

J. J. García Pérez, E. Gallego y P. Martín Vasallo

Sección de Nefrología del Hospital de la Seguridad Social Ntra. Sra. de Candelaria y Laboratorio de Biología del Desarrollo del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de La Laguna. Tenerife.

La hipertensión arterial esencial (HAE) es una enfermedad humana muy frecuente, resultado de la concurrencia de múltiples determinantes genéticos y ambientales. Por ser origen de otras enfermedades, a la HAE se la considera también factor de riesgo. Un 15-30 % de la población se ve afectada por ésta como causante de morbilidad y mortalidad de origen cardiovascular. A pesar del éxito de las numerosas investigaciones que han conseguido clarificar los distintos mecanismos implicados en la regulación de la presión arterial, los determinantes primarios de la hipertensión esencial, que representa un 96 % de la población hipertensa, no se conocen.

La biología molecular aporta un nuevo sistema de abordaje al estudio de problemas que no han podido ser resueltos por los estudios de poblaciones o mediante la fisiología o la bioquímica clásicas ¹. Con la nueva tecnología del DNA recombinante es posible señalar los genes que predisponen al padecimiento de hipertensión y averiguar como éstos interactúan con los factores ambientales para producir una hipertensión arterial (HTA) ².

En este artículo discutiremos los grupos en los que se estudia la HTA, los posibles genes-blancos en la caza de los reponsables de la HTA, algunos éxitos conseguidos en esta caza y recientes métodos y diseños empleados en este estudio, como, por ejemplo, la fabricación de ratones transgénicos.

Elección-selección del grupo a estudiar

El primer problema en el estudio de la genética de la hipertensión es la selección de la población que va a ser analizada, y cuya finalidad es identificar aquellas familias en las que el fenotipo de enferme-

dad presenta un claro patrón de herencia (pedigree). Tres modelos de grupo han sido los más frecuentes ³:

1. Poblaciones o grupos étnicos homogéneos con un gran número de individuos, todos ellos con HTA.
2. Dos o más hermanos, preferiblemente gemelos, hijos de ambos padres hipertensos o normotensos.
3. Animales con hipertensión genética. La herencia de las variaciones genéticas puede ser seguida en animales y los datos ser aplicados en estudios humanos. En el caso de la HTA estas extrapolaciones entre especies no siempre han procurado resultados positivos, como sucede en el caso de otras enfermedades.

Aun siendo extremadamente escrupuloso en la selección del grupo, encontramos una gran amplitud de rango entre los porcentajes encontrados para la dependencia genético-hereditaria en las variaciones de la presión arterial. Entre un 15 y un 40 %. Esta amplitud es debida principalmente a tres causas:

1. Variabilidad de poblaciones analizadas: diferentes grupos étnicos, hábitos sociales, hábitos alimenticios, etc.
2. Diferentes genes y asociaciones de genes implicados en la regulación de la tensión arterial. Todos aquellos que codifican proteínas que presentan un patrón de especificidad de expresión tisular en cualquiera de los órganos o tipos de células del sistema cardiovascular, así como de los sistemas encargados de regular el funcionamiento de éste.

Una lista de estos genes se expone en la [tabla I](#).

3. Medidas de la TA puntuales en el tiempo. Como el caso de un individuo de 40 años, normotenso en el momento de realizar nuestro estudio, con antecedentes familiares de hipertensión y que a los 45 años, casualmente, se le descubre una HTA.

Genes diana en el estudio de la HTA

Los análisis de los patrones de expresión tisular y celular de los genes que han sido clonados nos han

Correspondencia: Dr. P. Martín Vasallo.
Laboratorio de Biología del Desarrollo, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular.
Universidad de La Laguna.
38206 La Laguna. Tenerife.

mostrado, mediante Northern blots e hibridaciones in situ, un mapa preciso de su expresión en cada grupo celular del sistema cardiovascular. Cualquier modificación tanto de la estructura de cualquiera de estos genes como de sus elementos regulatorios o de cualquiera de los mecanismos que regulan su expresión va, consecutivamente, a modificar los parámetros funcionales del sistema, que, a su vez, tratará de compensar mediante variaciones en la expresión del resto de los genes implicados. Así, a cada variación intrínseca de un gen le sucederán toda una serie de modificaciones inducidas, que mantendrán el sistema circulatorio dentro de unos límites funcionales normales hasta que, por cualquier circunstancia, sobrevenga una alteración medible de su funcionamiento.

La **tabla I** muestra varios de los genes que presentan especificidad de expresión en los distintos tejidos y grupos celulares del sistema cardiovascular. Prácticamente todos los genes mencionados en dicha tabla están siendo estudiados en la HTA. En este artículo sólo consideraremos los más sobresalientes y que han procurado un mayor éxito en su estudio.

Tabla I. Proteínas con especificidad de expresión en células del sistema cardiovascular

-
- 1. Reguladores conocidos de la presión arterial:**
 - Renina.
 - Angiotensinógeno (angiotensina I y II).
 - Enzima conversor de angiotensina.
 - Enzimas de la ruta de biosíntesis de aldosterona.
 - Factor natriurético auricular (ANF).
 - Receptores del ANF.
 - Familia génica de las kaliceínas.
 - Vasopresina.
 - 2. Transportadores iónicos:**
 - Na,K-ATPasa.
 - Transportador Li-Na.
 - Ca-ATPasas del retículo sarcoplásmico.
 - Canal de sodio sensible a voltaje.
 - Canales de potasio.
 - Canal de calcio sensible a voltaje (receptor de dihidropiridina).
 - 3. Proteínas contráctiles:**
 - Familia génica de las cadenas pesadas de la miosina.
 - Familia génica de las cadenas ligeras de la miosina.
 - Familia génica de las α -actinas.
 - Familia génica de la tropomiosina/troponina.
 - 4. Proteínas producidas por el endotelio vascular:**
 - Endotelina-1.
 - Activadores del plasminógeno.
 - Factor inhibidor-I del activador del plasminógeno.
 - Moléculas de adhesión: cadherina 5, VCAM, ELAM, CD31.
 - Factor von Willebrand.
 - CD34 y CD36.
 - Receptor del VEGF.
 - 5. Otras proteínas:**
 - Otras proteínas de adhesión (n-CAM).
 - Filamentos intermedios (desmina, vimentina).
 - Proteínas de las uniones Cap (conexinas).
 - Conexina.
 - Calsecuestrina v Fosfolamban del retículo sarcoplásmico.
-

Genes del sistema renina-angiotensina

El sistema renina-angiotensina desarrolla un papel pivotal en la homeostasis de sal y del agua y en el mantenimiento del tono vascular; la estimulación o inhibición de este sistema eleva o disminuye la tensión arterial. Entre los sistemas experimentales para el estudio de la hipertensión humana, el que relaciona la hipertensión inducida por sal con el sistema renina-angiotensina presenta un interés particular, ya que, como es sabido, la ingesta de sal es uno de los factores ambientales que conducen al padecimiento de HTA en humanos. Además, la angiotensina II ejerce otras acciones, como es la de estimular la división de las células del músculo liso. Consecuentemente, cada componente de este sistema representa un potencial candidato en la etiología de la hipertensión. Tres son los genes más directamente implicados: el que codifica la renina, el que codifica el angiotensinógeno (AGT) y el que codifica el enzima convertidor de angiotensina. La renina es una aspartil-proteasa, sintetizada en el riñón y secretada a la sangre, donde encuentra su sustrato fisiológico, el AGT, principalmente sintetizado por el hígado bajo el control positivo de *estrógenos*, glucocorticoides, hormonas tiroideas y angiotensina II. La retina rompe diez aminoácidos del extremo amino terminal del AGT, que es la prohormona angiotensina I que es posteriormente procesada hacia angiotensina II por el enzima convertidor de angiotensina (ECA), una dipeptidil carboxipeptidasa. La rotura del AGT por la renina es el *paso limitante* en la activación del sistema renina-angiotensina.

Sin embargo, muchos pacientes con hipertensión arterial crónica presentan unos niveles de renina bajos o normales; por consiguiente, cualquier conexión del sistema renina-angiotensina con el desarrollo de una hipertensión arterial es mucho más sutil y complicado que el sugerido por la idea de renina alta = hipertensión arterial.

La renina

El gen de la renina ha sido clonado en el hombre, el ratón y la rata. También se han descrito variantes polimórficas en la rata y en el hombre; además, un polimorfismo BgIII cosegrega con HTA en ratas Dahl. Recordemos que hay dos estirpes de ratas Dahl: unas que padecen hipertensión cuando son alimentadas con dieta salada y otras que permanecen normotensas aun cuando ingieran gran cantidad de sal. Un fragmento de 2,7 kbp del gen de la renina se asocia con la HTA inducida por sal y cada dosis de este alelo incrementa la presión sanguínea unos 10 mm Hg. Otra estirpe de ratas hipertensas por causa genética,

la SHR, presenta una delección de 650 bp en el primer intrón del gen de la renina, comparado con el de las ratas normotensas. Sin embargo, la asociación entre el gen de la renina y la hipertensión en las ratas SHR está muy lejos de ser clara. La fabricación de un ratón transgénico, como veremos en un posterior apartado de este artículo, ha aclarado bastantes puntos oscuros de la hipertensión, pero muy pocos coinciden con las hipótesis previstas.

El angiotensinógeno

Posiblemente sean los estudios de genética molecular del AGT en la HTA los que hayan sido más completos y gratificantes hasta la actualidad. Seis puntos básicos apuntaban hacia una estrecha relación entre el AGT y la TA: 1) una correlación altamente significativa ($r = 0,39$, $p < 10^{-6}$) entre las concentraciones plasmáticas de ACT y TA⁴; 2) altas concentraciones de AGT en el plasma de sujetos con hipertensión y en el de hijos de hipertensos con respecto a las de los sujetos normales⁵; 3) elevadas concentraciones de AGT en el plasma de sujetos con HTA hijos de padres con HTA⁶; 4) descenso o elevación de TA consecutiva a la inyección de anticuerpos anti-AGT⁷ o a la inyección de AGT⁸; 5) expresión del gen de AGT en tejidos directamente implicados en la regulación de la TA⁹, y 6) elevación de la TA en animales transgénicos con sobreexpresión de AGT^{10,11}.

Hasta el momento han sido descritas 15 variantes moleculares distintas de AGT: cinco sustituciones de nucleótidos en la región 5' del gen y diez variantes más entre silentes y sin sentido. No se ha detectado ninguna variante en el extremo N-terminal del segundo exón, que es donde está codificado el sitio de rotura por la renina¹².

El artículo de Jeunemaitre y cols. demuestra la relación directa de las variantes del AGT en la patogénesis de la HTA. Como ya vimos en el apartado «Elección-selección del grupo a estudiar» de este mismo artículo, la selección del grupo es crítica; la relación genética entre un marcador y una enfermedad la podemos buscar entre pares de hermanos afectados, asumiendo un mínimo de normas genéticas. Este tipo de aproximación requiere que no exista un modelo de herencia previo y pudiéndose así acomodar a la heterogeneidad etiológica y al retraso en la aparición del rasgo, soslayando así el punto 3 del mencionado apartado. Además, para rasgos comunes, como es la hipertensión, se pueden descubrir varios familiares afectados con relativa facilidad, ampliando la heterogeneidad familiar mediante el muestreo de estructuras familiares más amplias. Este método de análisis se basa en los principios mendelianos más simples: comparación del número de mar-

cadore aletos compartidos por hermanos con el número esperado de entre un surtido donde son independientes el rasgo y el marcador (rasgo = HTA; marcador = AGT). Los estudios de Jeunemaitre y cols. se llevaron a cabo en familiares y en poblaciones tan distintas como París (Francia) y Salt Lake City (Utah, USA), donde las relaciones familiares y los factores ambientales son completamente distintos.

Tres parámetros observados en dos poblaciones distintas involucran al angiotensinógeno en la producción de HTA: relación genética, asociaciones de alelos y altas concentraciones de AGT en los genotipos AGT.

De las quince variantes de AGT identificadas hasta el momento, las asociadas con la HTA son las que presentan las sustituciones de los aminoácidos M235T y T174M (M = metionina, T = treonina)¹². Las variantes M235T y T174M no están relacionadas de forma equilibrada; hay variantes T174M en individuos con haplotipo de la variante M235T y la presencia de ambos haplotipos es mucho más alta en pacientes con HTA. Pero ciñéndonos a los resultados concretos de los hipertensos de Salt Lake City y de París y al modelo más simple, en el que todos los alelos M235T constituyen un factor dominante de riesgo, la predisposición podría constituir un 69 % de los pacientes con HTA de Salt Lake City y 58 % de la población control, que, dentro del marco de un modelo recesivo, esta predisposición podría estar presente en un 19 % de la población hipertensa y en un 12 % de la población general¹². También, basándonos en la dependencia de estrógenos en la síntesis de AGT, podríamos pensar que el AGT está directamente implicado en la HTA que se desarrolla en estados hiperestrogénicos, como son el embarazo y el uso de anti-conceptivos orales. En general, podría especularse que determinadas variantes del AGT, como la del residuo 235, llevan un incremento plasmático o tisular de AGT como resultado de un incremento en la síntesis, alteración de las constantes de su reacción con la renina o un aumento en la vida media de los complejos formados entre ellos o con otras proteínas extracelulares; originando un incremento en la reactividad o en la producción de angiotensina II, todo ello como respuesta al estrés que representan una dieta de elevado contenido de sodio u otros factores ambientales.

Además del AGT plasmático, el AGT expresado en determinados tejidos podría jugar un papel importante en la regulación de la presión arterial, como lo demuestra el incremento en la expresión de AGT en el hipotálamo anteroventral y áreas contiguas del cerebro de ratas hipertensas respecto al expresado en las mismas áreas de ratas controles¹³ cuando los niveles hepáticos de AGT no muestran diferencias. Además, el AGT podría estar implicado en la fisiología del sistema nervioso, como lo demuestra la hiperexpresión

de AGT en el sistema nervioso central de ratas transgénicas que con un incremento de AGT en plasma presentan hipertensión, pero esta hipertensión no la padecen las ratas con sólo AGT elevado en plasma si no se acompaña también de la correspondiente hiperexpresión en cerebro ¹¹.

El enzima convertidor de angiotensina (ECA)

Las investigaciones en biología molecular del ECA adquieren además una importancia económica particular: la comercial, por ser éste uno de los blancos más importantes de los fármacos antihipertensivos. Dos trabajos extraordinarios, publicados en *Nature* ¹⁴ y *Cell* ¹⁵, sobre marcadores cromosómicos en ratas hipertensas, han demostrado recientemente que un locus cercano al del ECA explica el 20 % de las variaciones en la TA en el estado de sobrecarga de sodio. Estas observaciones han sido llevadas a cabo en una variedad de rata muy cercana a las espontáneamente hipertensas (SHR), la SHRSP (spontaneously hypertensive rat stroke-prone), propensa a los accidentes vasculares fulminantes. Desarrolladas mediante apareamientos selectivos intrafamiliares, presentan una TA mucho más alta que la línea de normotensas normales utilizadas como control, las WKY (Wistar-Kyoto). Por ejemplo, una TA sistólica típica de un macho SHRSP es de 190-250 mm Hg, mientras que uno WKY presenta unos valores de 125-140 mm Hg. A pesar de la inmensa cantidad de trabajo llevada a cabo, los genes causantes de estas diferencias no han sido identificados. Tan sólo se ha relacionado esta diferencia con dos genes: el de la renina y el de la kalicreína, pero con resultados muy equívocos. Creando una gran colección de DNA marcador de polimorfismos, los autores muestran evidencias de que un gen, Bp1 (blood pressure-1), directamente relacionado con la TA, mapea en el cromosoma 10 de la rata con un lod de 5.10 y está estrechamente unido al gen del ECA en la rata.

El Bp1 parece controlar aproximadamente un 20 % de la variación de la presión diastólica en los animales con sobrecarga de sodio, con los alelos SHRSP actuando aparentemente de forma dominante para incrementar la TA.

También podrían estar involucrados otros loci en el cromosoma 18 (Bp2) y en el cromosoma X.

Genes de la biosíntesis de aldosterona

El aldosteronismo remediable (supresible) por glucocorticoides (ARG) es una enfermedad autosómica dominante que se caracteriza por HTA con un hiperaldosteronismo variable ¹⁶ y niveles elevados de 18-

oxocortisol y 18-hidroxycortisol, dos esteroides adrenales no fisiológicos; los tres son regulados por los niveles de ACTH y supresibles por glucocorticoides. En condiciones fisiológicas, el cortisol se produce en la zona fasciculada de la corteza de las glándulas suprarrenales y su biosíntesis es controlada directamente por la ACTH y la aldosterona producida en la zona glomerular y controlada por los niveles de angiotensina II. En el aldosteronismo primario hay una expresión ectópica de la aldosterona sintetasa en la zona fascicular. La explicación molecular de esta patología causante de HTA primaria en el hombre la describieron Lifton y cols. en un formidable estudio publicado en *Nature* a comienzos de 1992 ¹⁷: los genes que codifican la aldosterona sintetasa (se expresa en la zona glomerular) y la 11- β -esteroide hidroxilasa (se expresa en zonas glomerular y fascicular) presentan una homología estructural del 95 % y ambos están en el cromosoma 8q; en el ARG se ha producido un crossing-over de los dos genes.

Se produce una fusión de la región regulatoria 5', sensible a la ACTH, del gen de la 11- β -esteroide hidroxilasa con la región codificadora de la aldosterona sintetasa, un gen quimérico (lod máximo 5.23 y posibilidad total 170.000:1). Esta mutación hace que los niveles normales de ACTH, actuando sobre esa región regulatoria 5', promuevan una hipersecreción de aldosterona que cede al inhibir la producción de ACTH con glucocorticoides, de la misma manera que en situaciones fisiológicas. Esta mutación ha sido la primera en conocerse como responsable de HTA en humanos.

Es aconsejable estudiar la elegante figura 1 del artículo de Lifton y cols. ¹⁷, en la que se siguen cinco generaciones de pacientes con ARG mostrando la gran agresividad de esta enfermedad, clínicamente caracterizada por hipertensión juvenil y muerte antes de los 45 años por accidente vascular.

Genes de la kalicreína

El sistema de las kalicreínas está constituido por una familia multigénica de serin-proteasas con una gran especificidad de sustrato. Varios miembros de esta familia ya han sido clonados y caracterizados ¹⁸. La kalicreína verdadera rompe selectivamente dos enlaces peptídicos en su sustrato específico, el kininógeno, que se encuentra en la sangre, en el intersticio y en la mayor parte de los tejidos, para producir bradikina o lisil-bradikina, dos péptidos de gran potencia vasodilatadora. La kalicreína verdadera se expresa principalmente en páncreas, glándula submaxilar y riñón de mamífero y podría funcionar como regulador fisiológico del flujo sanguíneo local

mediante la liberación de péptidos vasoactivos. Otro miembro de esta familia es la tonina, que, actuando directamente sobre el angiotensinógeno, libera angiotensina II. En el ratón, como miembros de esta familia, han sido caracterizadas las proteínas tipo A, B y C fijadoras del factor de crecimiento nervioso gamma (NGF- γ), factor de crecimiento nervioso alfa (NGF- α) y factor de crecimiento epidérmico (EGF), todas ellas implicadas en la biogénesis y procesamiento de factores de crecimiento específicos. Así pues, todos los miembros de esta familia llevan a cabo funciones relacionadas con la liberación de hormonas peptídicas y factores de crecimiento y, debido a su similitud, las funciones específicas de cada una de estas «kalicreínas» se han solapado en los estudios mediante técnicas de bioquímicas clásicas, lo que hizo necesaria su clonación. En la rata, de una familia que posee entre 8 y 17 miembros, se han clonado y caracterizado 11 y ya se han comenzado a definir elementos cis responsables de los patrones específicos de expresión tisular.

La correlación entre la excreción urinaria de kalicreína y el estado de vasodilatación como protección contra la HTA mostrado en el trabajo de Berry y cols.¹⁹ es sobradamente conocido y, basado en él, los análisis de FRLP han mostrado que un fragmento de restricción Ndel de un gen de kalicreína de rata cosegrega con HTA²⁰.

Transportadores iónicos

Varios sistemas de transporte iónico también han mostrado especificidad de expresión en los órganos y células del sistema cardiovascular^{21,22}.

Las primeras alteraciones de los sistemas de transporte en la HTA fueron descritas por el grupo de Tosteson²³, quienes la correlacionaron con el contratransporte de Li-Na en los eritrocitos de pacientes con HTA. En el mismo sentido, un estudio prospectivo en familias de Utah, como resultado del análisis de segregación de rasgos fenotípicos, dedujo que un grupo de un genotipo con elevación del contratransporte Li-Na presentaba un más alto riesgo de padecer HTA²⁴.

Debido a las importantes alteraciones de la homeostasis del sodio en la HTA, así como su participación en la generación y mantenimiento de esta enfermedad, el sistema de transporte activo que mantiene los gradientes intra y extracelulares de este ion, la Na,K-ATPasa, ha sido siempre objeto de un extensivo estudio en esta patología. En los últimos años se ha conseguido un gran conocimiento de los genes de la Na,K-ATPasa; la familia está formada por cinco genes, tres para la subunidad alfa y dos para la subuni-

dad beta²². Recientemente, estudiándose los alelos de los genes de la isoforma alfa-I en ratas Dahl sensibles y resistentes a la sal, Herrera y cols.²⁵ han identificado en los dos alelos una sustitución de la glutamina 276 por una leucina en las ratas sensibles a la sal. Además, esta región es precisamente la implicada en el manejo de potasio durante los cambios conformacionales consecutivos al funcionamiento cíclico de la bomba de sodio, lo cual queda confirmado al estudiar los diferentes parámetros cinéticos implicados con este catión en ambos grupos de ratas²⁶; sin embargo, esta alteración molecular no se ha encontrado en la especie humana en ningún tipo particular de HTA.

Como la Na,K-ATPasa es la proveedora de la energía necesaria en el intercambio Na/Ca en el músculo, y el músculo también juega un importante papel en el metabolismo del potasio, se ha pensado que las alteraciones en la Na,K-ATPasa podrían alterar la contractilidad vascular y cardíaca y modular la expresión de las isoformas tanto en estos tejidos como en el músculo esquelético; los estudios llevados a cabo muestran una disminución de los niveles de expresión de la isoforma alfa-2 en el músculo de ratas hipertensas e hiperinsulinémicas²⁷. Tan sólo existen estudios muy preliminares en este sentido en la especie humana²⁸, necesitándose una gran cantidad de tiempo para ser llevados a cabo, siendo su dificultad básica el encontrar muestras lo suficientemente homogéneas (tipos de HTA muy específicos) tanto de pacientes con HTA como controles.

Ratones transgénicos

Los estudios de expresión génica en distintos elementos tisulares aislados y células en cultivo, como cardiomiocitos, células de músculo liso vascular, fibroblastos intersticiales y células vasculares endoteliales, nos han proporcionado unos conocimientos básicos de los cambios fenotípicos en la HTA. Sin embargo, dada la naturaleza integradora del sistema cardiovascular, para obtener una imagen consistente del papel individual que desarrolla cada tipo de célula se hacen necesarios estudios en el animal intacto. El desarrollo de la tecnología transgénica promete rellenar el hueco entre las observaciones de células in vitro y la observación del efecto de la manipulación de un específico tipo de células en el contexto del animal intacto in vivo.

Por definición, los animales transgénicos contienen un segmento de DNA exógeno (un transgén) que ha sido físicamente integrado en el genoma de todas las células, incluidas las líneas geminales, y que puede ser transmitido a la prole. La forma más común de

conseguirlo es microinyectar directamente la construcción de DNA en el pronúcleo del embrión de ratón en estadio de una célula²⁹⁻³¹. Posteriormente, el embrión se incuba hasta el estadio de dos células y se reimplanta en el oviducto de una madre pseudo-preñada. Tras 19 días de gestación, una parte de los ratones neonatos son transgénicos. El ratón transgénico se puede producir también mediante la transfección del embrión con un retrovirus al que se le ha insertado la secuencia que queremos que exprese. Además de los ratones se han construido otros animales transgénicos, como la rata, el conejo, el cerdo, la cabra o la vaca, todos ellos en función del sistema que se desee estudiar o de la proteína que queramos obtener³². Cabe destacar que una vaca estabulada puede producir unos 10.000 litros de leche al año y, por consiguiente, es un animal ideal para la producción de proteínas cuya expresión pueda llevarse a cabo en la mama y, por consiguiente, obtener el producto deseado sin necesidad de matar al animal o esperar un período largo de tiempo, hasta la madurez, para la obtención de una proteína determinada³³.

La expresión diferencial del gen transfectado está condicionada por los mecanismos ya mencionados en otros artículos de esta serie, como son los elementos cis- y trans- regulatorios o los factores específicos de transcripción en el núcleo de cada célula en particular.

Los genes blanco para la fabricación de animales transgénicos utilizados en el estudio de la hipertensión son los mismos y con la misma prioridad que aparecen en la [tabla I](#).

Los tres modelos de animal transgénico más empleados en la investigación cardiovascular son: 1) aquellos en los que se transfieren genes de una especie a otra, por ejemplo, genes humanos al ratón o genes de ratón a la rata; 2) aquellos en los que genes de la misma especie animal se fuerzan a ser expresados en órganos en los que normalmente no se expresan, y 3) los modelos en los que existe una supresión doble de genes (double knockouts)^{34,35}, es decir, se suprimen los dos alelos del mismo gen y que ahora está empezando a ser utilizada en los estudios de los genes encargados de la morfogénesis vascular y en la HTA.

Comentaremos a continuación tres animales transgénicos con genes reguladores de la presión arterial:

Renina

Se han construido varios modelos de ratas y ratones transgénicos para conocer mejor el papel de la renina en la HTA. De todos ellos creemos que merece especial mención la rata transgénica severamente hipertensa de Mullins y cols., a la que se le integró el gen *ren-2* del ratón³⁶, y que éste expresa habitualmente en la glándula submaxilar y en el riñón. El gen

ren-2 presenta un 95 % de homología con el *ren-1* (no son alelos, sino diferentes) y que sólo se expresa en riñón. Las ratas y los humanos sólo poseen un gen *ren*, que se corresponde con el gen *ren-1* del ratón. La rata transgénica de Mullins y cols., a la que se transfirió el gen *ren-2* de ratón, lo expresa en las glándulas suprarrenales y presenta hipertensión con niveles de renina plasmática normales. De forma fisiológica, las glándulas suprarrenales producen pequeñas cantidades de renina³⁷, y la renina conlleva la producción de angiotensina II, cuyo efecto es esencial en el crecimiento, desarrollo y diferenciación de las células adrenales y de forma particular controla la producción de esteroides. Como sabemos, dos de esos esteroides están particularmente relacionados con la regulación de la TA: la aldosterona, regulando la excreción renal de sal, y los glucocorticoides, con un gran abanico de efectos sobre el crecimiento y diferenciación de varios tipos de células, entre las que se incluyen las de la musculatura lisa vascular. Así pues, el incremento en la producción de renina de ratón en la suprarrenal de rata podría alterar la producción de esteroides, que conllevaría un incremento de la presión arterial; además, el extremo 5' del gen de la renina contiene secuencias consensus para la actuación de esteroides, completando este hecho un mecanismo de control de doble vía: renina-adrenal-renina³.

Factor natriurético auricular (ANF)

El ANF es una hormona peptídica producida por la aurícula cardíaca como respuesta a un incremento de la presión transmural en la propia aurícula. La administración de una dosis de ANF produce natriuresis, alteraciones de la hemodinámica y de la función tubular renales, inhibición del sistema renina-angiotensina y descenso de la presión arterial. Su segundo mensajero es el cGMP. El gen del ANF está constituido por tres exones y dos intrones y sólo presenta un transcrito maduro de 900 pb. El ANF también se ha encontrado, en cantidades mucho menores, en sistema nervioso central, cayado aórtico, aorta torácica y epitelio pulmonar. En el hombre, el precursor del ANF es de 151 aminoácidos, del que 25 constituyen el péptido señal y la parte fisiológicamente activa ha sido localizada en los 28 aminoácidos carboxi-terminales del pro-ANFI-126, el llamado ANF99-126, producto final del proceso de secreción.

Se ha generado un ratón transgénico que produce cantidades suprafisiológicas de ANF en el hígado³⁹⁻⁴¹. Estos ratones son crónicamente hipotensos, con TA que oscilan entre 20 y 30 mm Hg más bajas que las de sus hermanos no transgénicos y que no presentan ni diuresis ni natriuresis elevadas, es decir, compen-

san adecuadamente los efectos del ANF en lo que respecta al manejo renal de agua y sodio.

Este ratón no sólo es el modelo ideal para estudiar los efectos a largo plazo del ANF, sino que podría ser utilizado como modelo de transfección de un sistema productor de un agente antihipertensivo fisiológico y que no altera otras funciones.

Vasopresina

La vasopresina regula la presión arterial como respuesta al mecanismo barorreceptor cardíaco, aórtico y del seno carotídeo. Liberada en los núcleos supraóptico, paraventricular y supraquiásmáticos del hipotálamo, controla la osmolaridad plasmática mediante la regulación de la absorción de agua en el túbulo distal y tubos colectores. También se ha encontrado una producción local de vasopresina en el lóbulo temporal del cerebro de rata con una función no muy bien definida, pero que, además de regular el metabolismo del agua, pudiera estar involucrada en el control central de la regulación de la presión arterial.

El gen de la vasopresina de rata se ha transfectado a embriones de ratón ⁴² consiguiendo un ratón que expresa vasopresina con especificidad tisular y que no presenta alteraciones en el metabolismo del agua. Este ratón proporciona un buen modelo para el estudio de la vasopresina en determinados tipos de HTA y que se están llevando cabo en la actualidad.

Que la HAE presenta un componente familiar y genético es algo conocido ya no sólo en el ámbito científico-médico, sino también popular; tanto los centros de investigación como los destinados a financiarla históricamente han estado invirtiendo grandes cantidades de dinero y empleando un gran número de personas en el problema; sin embargo, ha habido que esperar hasta octubre de 1991 para que se identificara el primer gen responsable de HTA en la rata ¹⁵ y hasta enero de 1992 para la publicación del primer gen responsable de HTA humana ¹⁷. En este artículo hemos querido apuntar la importancia de la biología molecular en el estudio de la HTA, señalando los logros más importantes conseguidos durante los últimos años.

Agradecimientos

Los autores de este artículo están financiados por el proyecto de investigación del FIS 93/0831 y por el proyecto 92/08.03.90 de la Consejería de Educación del Gobierno Autónomo Canario.

Bibliografía

- Dzau VJ, Paul M, Nakamura N, Pratt RE e Ingelfinger JR: Role of Molecular Biology in Hypertension Research. State of art lecture. *Hypertension* 13:731-740, 1989.
- Horan MJ y Mockrin SC: Hypertension research: The next five years. *Hypertension* 15 (supp. 1):1.25-1.28, 1990.
- Leckie BJ: High blood pressure: Hunting the genes. *Bio Essays* 14:37-41, 1992.
- Walker WC, Whelton PK, Saito H, Russel RP y Hermann J: Relation between blood pressure and renin, renin substrate, angiotensine II, aldosterone and urinary sodium and potassium in 574 ambulatory subjects. *Hypertension* 1:287-291, 1979.
- Fasola AF, Martz BL y Heilmer OM: Plasma renin activity during supine exercise in offspring of hypertensive parents. *J Appl Physiol* 25:41 0-41 5, 1968.
- Watt GCM, Harrap SB, Foy CJW, Holton DW, Edwards HV, Davidson R, Connor JM, Lever AF y Fraser R: Abnormalities of glucocorticoid metabolism and the renin angiotensin system: a four corners approach to the identification of genetic determinants of blood pressure. *J Hypertens* 10:473-482, 1992.
- Cardes J, Bouhnik J, Clauser E, Corvol P y Menard J: Role of angiotensinogen in blood pressure homeostasis. *Hypertension* 4:1 85-189, 1982.
- Menard J, El Amrani A-IK, Savoie F y Bouhnik J: Angiotensinogen: an attractive and underrated participant in hypertension and inflammation. *Hypertension* 18:705-706, 1991.
- Campbell DJ y Habener JF: Angiotensinogen is expressed and differentially regulated in multiple tissues of the rat. *J Clin Invest* 78:1427-1 431, 1986.
- Ohkubo H, Kawakami H, Kakehu Y, Takumi T, Arai H y cols.: Generation of transgenic mice with elevated blood pressure by introduction of the rat renin angiotensin genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:5153-5157, 1990.
- Kimura S, Mulinss JJ, Bunnenmann B, Metger R y cols.: High blood pressure in transgenic mice carrying the rat angiotensinogen gene. *EMBO J* 11:821-827, 1992.
- Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevtsev YV, Lifton RP, Williams CS, Charu A, Hunt SC, Hopkins PN, Williams RR, Lalouel JM y Corvol P: Molecular basis of human hypertension: Role of angiotensinogen. *Cell* 71 :169-1 80, 1992.
- Yonaue BG, Angulo JA, Ewen BS v Myers MM: Brain and liver angiotensinogen messenger RNA in genetic hypertensive and normotensive rats. *Hypertension* 17:485-491, 1991.
- Hilbert P, Lindpainter K, Beckman JS, Serikawa T, Soubrier F, Dubay C, Cartwright P, De Gouyan B, Julier C, Takahasi S, Vincent M, Canten D, Georges M y Lathrop CM: Chromosomal mapping of two genetic loci associated with blood-pressure regulation in hereditary hypertensive rats. *Nature* 353:521-525, 1991.
- Jacob HJ, Lindpainter K, Lincoln SE, Kusumi K, Bunker RK, Mao YP, Ganten D, Dzau VJ y Lander ES: Genetic mapping of a gene causing hypertension in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Cell* 64:213-224, 1991.
- Sutherland DJA, Ruse JL y Laidlaw JC: Hypertension, increased aldosterone secretion and low plasma renin activity relieved by dexamethasone. *Can Med Assoc J* 95:1109-1119, 1966.
- Lifton RP, Dluhy RG, Powers M, Rich GM, Cook S, Ulick S y Lalouel JM: A chimaeric 11 β -hydroxylase aldosterone synthase gene causes glucocorticoid-remediable aldosteronism and human hypertension. *Nature* 355:262-265, 1992.
- Wines DR, Brady JM, Pritchett DB, Roberts JL y MacDonald RJ: Organization and expression of the rat kallikrein gene family. *J Biol Chem* 264:7653-7662, 1989.

BASES MOLECULARES DE LA HIPERTENSION

19. Berry TD, Hasstedt SJ, Hunt SC y cols.: A gene for high urinary kallikrein may protect against hypertension in Utah kindreds. *Hypertension* 13:3-8, 1989.
20. Pravenec M, Kren V, Kunes J, Scicli G, Carretero OA, Simonet L y Kurtz TW: Cosegregation of blood pressure with a kallikrein gene family polymorphism. *Hypertension* 17:242-246, 1991.
21. Brandl CJ, DeLeon S, Martin DR y MacLennan DH: Adult forms of the Ca-ATPase of sarcoplasmic reticulum: expression in developing skeletal muscle. *J Biol Chem* 262:3768-3774, 1987.
22. Martin Vasallo P, Dackowsky W, Emanuel J y Levenson R: Identification of a putative isoform of the Na,K-ATPase B subunit. Primary structure and Tissue-specific expression. *J Biol Chem* 264:4613-4618, 1989.
23. Canessa M, Adragna N, Solomon HS, Connolly TM y Tosteson DC: Increased sodium-lithium countertransport in red cells of patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 302:772-776, 1980.
24. Hunt SC, Stephenson SH, Hopkins PN, Hasstedt SJ y Williams RR: A prospective study of sodium-lithium countertransport and hypertension in Utah. *Hypertension* 17:1-7, 1991.
25. Herrera VLM y Ruiz-Opazo N: Alteration of alpha-1 Na,K-ATPase, 86Rb influx by a single amino acid substitution. *Science* 249:1023-1026, 1990.
26. Canessa M, Romero JR, Ruiz-Opazo N y Herrera VLM: The alpha-1 Na,K- pump of Dahl Salt-sensitive rat exhibits altered Na modulation of K transport in red blood cells. *J Membrane Biol* 134:107-122, 1993.
27. McDonough A, Hensley CB y Azuma KK: Differential regulation of sodium pump isoforms in heart. *Seminars in Nephrology* 12:49-55, 1992.
28. Gallego E, García Pérez JJ, González Martínez LM, Martín Vasallo P v Alonso Lancho MT: Exoesión diferencial de los genes que Codifican las distintas isoformas de la Na,K-ATPasa en la hipertensión arterial esencial. *Neftrología* 10 (supl. 4):25, 1990.
29. Field LJ: Transgenic mice in cardiovascular research. *Annu Rev Physiol* 55:97-114, 1993.
30. Sigmund CD: Major approaches for generating and analyzing transgenic mice. *Hypertension* 22:599-607, 1993.
31. Hunter JJ, Zhu H, Lee KJ, Kubalak S y Chien KR: Targeting gene expression to specific cardiovascular cell types in transgenic mice. *Hypertension* 22:608-617, 1993.
32. Mullins JJ y Mullins LJ: Transgenesis in nonmurine species. *Hypertension* 22:630-633, 1993.
33. Krimpenfort P, Rademakers A, Eyestone W y cols.: Generation of transgenic dairy cattle using "in vitro" embryo production. *Bio/Tech* 9:844-847, 1991.
34. Mortensen RM, Conner DA, Chao S, Ceisterfer LA y Seidman JG: Production of homozygous mutant ES cells with a single targeting construct. *Mol Cell Biol* 12:2391-2395, 1992.
35. Riele H, Maandag ER, Clarke A, Hooper M y Berns A: Consecutive inactivation of both alleles of the pim-1 protooncogen by homologous recombination in embryonic stem cells. *Nature* 348:649-651, 1990.
36. Mullins JJ, Peters J y Canten D: Fulminant hypertension in transgenic rats harbouring the mouse ren-2 gene. *Nature* 344:219-224, 1990.
37. Naruse M, Sussman C, Naruse K, Jackson RV e Inagami T: Renin exists in human adrenal tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 57:482-487, 1983.
38. Cochrane KL y Field LJ: Baroreflex function in hypotensive transgenic mice overexpressing ANF. *Neurosci abstr.*, 16:220, 1990.
39. Field LJ: Transgenic models of cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med* 1 :141-146, 1991.
40. Field LJ, Veress AT, Steinhilper ME, Cochrane K y Sonnenberg H: Kidney function in ANF transgenic mice: effect of blood volume expansion. *Am J Physiol* 262:E524-531, 1992.
41. Field LJ: Atrial natriuretic factor and transgenic mice. *Hypertension* 22:634-639, 1993.
42. Grant FD, Raventós J, Kawabata S, Miller M, Gordon JW y Majzoub JA: Transgenic mouse models in vasopressin expression. *Hypertension* 22:640-645, 1993.