



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
MEDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD.**

INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIROGÍA

MANUEL VELASCO SUÁREZ

**DETECCION DE MUTACIONES EN EL GEN *TGFRB2* Y DEL
POLIMORFISMO C677T DEL GEN *MTHFR* EN PACIENTES MEXICANOS
CON DISECCIÓN ARTERIAL CERVICO-CEREBRAL.**

MODALIDAD DE GRADUACION: TESIS.

PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS.

PRESENTA:

RUIZ FRANCO ANGELICA ERNESTINA.

TUTOR: ÁNGEL ANTONIO ARAUZ GÓNGORA

**INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIROGÍA MANUEL VELASCO
SUÁREZ**

MÉXICO D.F. AGOSTO DEL 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DR. JULIO EVERARDO SOTELO DÁVILA
DIRECTOR DE LA DEPENDENCIA ADACEMICA

DR. ÁNGEL ANTONIO ARAUZ GÓNGORA
TUTOR

ANGELICA ERNESTINA RUIZ FRANCO
ALUMNA

INDICE

	Página
Antecedentes.	4
Planteamiento del problema.	12
Hipótesis.	13
Objetivos.	13
Metodología.	13
Resultados.	19
Discusion.	20
Conclusiones.	21
Tablas.	23
Figuras.	25
Referencias.	27
Anexos.	32

DETECCION DE MUTACIONES EN EL GEN *TGFRB2* Y DEL POLIMORFISMO C677T DEL GEN *MTHFR* EN PACIENTES MEXICANOS CON DISECCIÓN ARTERIAL CERVICO-CEREBRAL.

1. Antecedentes.

Introducción.

La disección arterial cérico cerebral (DACC) es una causa frecuente de infarto cerebral, especialmente en sujetos menores de 45 años de edad(1-4). En México representa la primera causa de Infarto cerebral (IC) en jóvenes(2).

La DACC se produce cuando la sangre penetra entre las capas de la pared arterial y origina un hematoma intramural que causa estrechamiento de la luz del vaso. Hay casos asociados a enfermedades del tejido conectivo, en la actualidad la disponibilidad de métodos diagnósticos no invasivos ha contribuido a que esta enfermedad se diagnóstique con mayor frecuencia. Las opciones terapéuticas incluyen el uso de antiagregantes plaquetarios y de anticoagulantes, aunque hasta ahora no se cuenta con una evidencia clara a favor de uno y otro tratamiento(3, 5).

Aspectos Epidemiológicos.

Se reconoce a la DACC como una de la principales causas de IC en jóvenes, con incidencia anual calculada, en estudios poblacionales de 2.3 a 3.0/100,000 habitantes por año para disección carotídea y de 1 a 1.1 /100,000 habitantes por año en disección vertebral.(6) La disección extracraneal de la arteria carótida interna se presenta, según estos mismo estudios, en 1.7 a 3.0/100,000 habitantes año, mientras que para las porciones extracraneales de las arterias vertebrales, la incidencia anual es de 0.97/100,000 habitantes, lo que sugiere que la afección carotídea se presenta con una frecuencia hasta dos veces más que la vertebral(4, 6). Sin embargo, en la serie canadiense y en la casuística del Instituto Nacional de Neurología de México, la disección vertebral es mayor que la carotídea(2, 7).

La edad de presentación mas frecuente es el quinto decenio de la vida, pero se ha informado que en pacientes con antecedentes familiares de disección, tiende a presentarse a edad mas temprana (en promedio 38.7 años)(8).

Fisiopatología.

La DACC se presenta por el desprendimiento de la capa íntima de la pared arterial, permitiendo la formación de un hematoma intramural, lo que se determina luz falsa. Se postula que el hematoma es el evento primario, y que la presencia del desprendimiento de la media es la consecuencia patológica de su rotura hacia la luz arterial(1, 3).

Independientemente del evento primario, el hematoma puede extenderse en forma excéntrica en dirección de la subíntima o subadventicia, disminuyendo el calibre de la luz arterial o la dilatación con la formación secundaria de aneurisma disecante.

La Disección Arterial Cérvico-Cerebral (DACC) se produce por el desgarre de la pared de la arteria carótida o vertebral, lo que conduce a la formación de un hematoma intramural. Los coágulos formados en la zona de bajo flujo dentro del lumen arterial falso pueden originar un émbolo distal; el hematoma mural, eventualmente ocluirá a la arteria. La estenosis resultante o trombosis, puede llevar a hipoperfusión o embolización distal, causando un infarto cerebral (IC). La embolización ocurre en aproximadamente 80% de los pacientes con disección (4)

Una vez que existe una laceración en las arterias, la sangre penetra entre las capas de la pared arterial. La separación de estas capas condiciona estenosis cuando este es localizado entre la íntima y la media, y dilatación aneurismática cuando el hematoma intramural se localiza entre la íntima y la adventicia.

La disección carotídea ocurre más frecuentemente 2 a 3 centímetros distal al bulbo carotídeo(9, 10), mientras que los sitios más comunes de disección vertebral, son el segmento V2 y V3 (10-12).

Causas y Factores predisponentes.

En la mayoría de los casos, la búsqueda de las etiologías que subyacen a la DACC, han tenido resultados que decepcionan. Las anomalías congénitas o adquiridas de la capa media arterial y elástica, pueden predisponer a disección, pero rara vez se logra documentar. Diferentes estudios han sugerido que la presencia de una arteriopatía subyacente juega un papel importante en la patogénesis de la DACC, especialmente en la disección espontánea.

Aproximación genética:

Se ha postulado que los pacientes con DACC pueden tener una debilidad constitucional de la pared arterial genéticamente determinada, y los factores ambientales como infección o trauma menor, podrían actuar como desencadenantes. (13-15)

Varios argumentos sugieren que el factor genético puede jugar un rol importante, como parte de una predisposición multifactorial.

1. La DACC es asociada con enfermedades monogénicas del tejido conectivo, como el síndrome vascular de Ehlers-Danlos tipo IV(16), Síndrome de Marfan, y osteogénesis imperfecta.
2. Estudios con microscopía electrónica, han mostrado anomalías de la colágena y de las fibras elásticas en la dermis reticular que recuerdan los hallazgos en pacientes con Síndrome de Ehlers-Danlos.(13)

3. Se han sugerido que alteraciones sistémicas en los componentes del tejido conectivo pueden asociarse con debilidad de la pared del vaso, y que los pacientes con DACC pueden sufrir de una arteriopatía generalizada. Ya que estos pacientes presentan anomalías arteriales concomitantes, como displasia fibromuscular, dilatación del arco aórtico(17), hiperdistensibilidad de las paredes arteriales(18) o disfunción endotelial.(19) Además de asociación con aneurismas intracraneales (20) y cambios histológicos en la arteria temporal.(21)

La búsqueda sistemática de mutaciones se ha dirigido a los genes previamente conocidos por su papel en los desórdenes del tejido conectivo. La mayoría de las asociaciones genéticas estudiadas han mostrado resultados negativos. Tentativos loci fueron identificados en los cromosomas 15q y 10q26 en una familia con alteraciones en el tejido conectivo, pero el poder de análisis fue insuficiente para demostrar asociación.(22-26).

La asociación positiva observada con una deleción de dos pares de bases en la región 3'UTR del gen COL3A1 y el polimorfismo E469K en el gen de la ICAM-1, no han sido replicados y deben ser considerados con precaución (22).

Los resultados hasta ahora no son alentadores, excepto por reportes para mutaciones en genes que codifican para la molécula de colágeno tipo V (COL5A1, COL5A2) pero su repercusión en la patogénesis de la DACC es incierta (22).

La asociación más promisoría fue encontrada con el polimorfismo C677T en el gen MTHFR (codifica para la 5,10-Metilentetrahidrofolato reductasa) en tres estudios diferentes (27-29); aunque hay resultados contradictorios.

Un estudio mexicano(30) que examinó la asociación entre diferentes polimorfismos frecuentemente encontrados en pacientes jóvenes con infarto cerebral y DACC, mostró que la frecuencia de los portadores de los alelos de MTHFR/677T no fue significativamente diferente entre pacientes y controles (OR 1.56, 95% CI 0.81-1.56, p=0.09), aunque la muestra fue discreta.

La MTHFR constituye una enzima que cataliza la conversión de 5,10-metilentetrahidrofolato en 5-metiltetrahidrofolato, que actúa como co-sustrato para la remetilación de la homocisteína en metionina. Indirectamente, al ser una enzima integrada en el ciclo de los folatos, interviene en el mantenimiento equilibrado de las distintas poblaciones de folatos intraeritrocitarios y en la metilación del ácido desoxirribonucleico. Así pues, dada la función principal de la MTHFR, podemos entender la relación teórica inversamente proporcional que existe entre la acción de dicha enzima y los niveles de homocisteína.

La acción de la MTHFR contribuye a 'aclarar' la homocisteína del plasma. La homocisteína es un aminoácido resultante de la desmetilación de la metionina que adquirimos en la dieta a través de la ingesta de proteínas. Se sabe que la homocisteína

daña la matriz vascular por mecanismos oxidativos, disminuye la acción antitrombótica del endotelio (31).

En 1994 se encontró que el gen humano de la MTHFR estaba en el cromosoma 1 (1p36.3) y en 1998 se definió su estructura(32, 33)

Frosst et al describieron en 1995 la sustitución de citosina por timidina en la posición 677 de la secuencia de nucleótidos que codifican la MTHFR en una población canadiense de origen francés. Este cambio provocaba la sustitución de alanina por valina en la posición 222 de la estructura proteica (ALA222VAL). Esta variante enzimática presentaba una susceptibilidad mayor a la degradación por el calor que la variable salvaje; es, por tanto, una variante termolábil (31-33).

Recientemente el rol del factor de factor de transformación de crecimiento β (TGF β) es señalado en la patogénesis de la enfermedad arterial. En particular la mutación del los genes del receptor del TGF β 1 y 2. El espectro del fenotipo de sus alteraciones incluye: enfermedad vascular con tortuosidad arterial y una fuerte predisposición para presentar aneurismas y disección arterial. Un estudio secuenció todos los exones del gen TGFR β 2 en 56 pacientes con DACC encontrando mutaciones en dos pacientes. En el paciente 1 se detecto una transición C1115A \rightarrow G en el exón 4, condicionando la mutación pK372R que es la sustitución de una lisina por una arginina, afectando el dominio de la cinasa. En el paciente 2 se identifico la transición C414T \rightarrow C en el exón 3 condicionando la mutación pC138R, que influye en el dominio extracelular de la proteína, involucrado la unión y señalización de TGF β 2. Estos hallazgos indican que las mutaciones en el gen TGFR β 2 son responsables del 3.6% de los casos de DAC (95% IC 0.0-8.4). Lo que enfatiza la importancia de considerar la caracterización molecular del gen TGF β R2 en estos pacientes (34)

El TGF-b es una superfamilia de proteínas integrada por más de 35 citocinas que incluye a las activinas, inhibinas, proteína morfogenética de hueso (BMP, por sus siglas en inglés), hormona anti-mülleriana y al factor de crecimiento transformante b propiamente dicho, que regulan una gran cantidad de actividades biológicas como proliferación, migración y apoptosis en diferentes tipos celulares, tanto en el estado adulto como durante el desarrollo embrionario (35).

Todos estos factores de crecimiento comparten un grupo de residuos de cisteína altamente conservados que forman una estructura común, sostenida por enlaces disulfuro intramoleculares (36, 37).

El TGF-b es considerado como una citocina multifuncional (pleiotrópica) debido a los efectos que tiene sobre los diferentes tipos celulares. Es el inhibidor más potente de proliferación en células mieloides, mesenquimales, epiteliales, linfoides, endoteliales y en varios tipos de células malignas. Alternativamente, puede estimular la proliferación de fibroblastos normales en células no epiteliales y cierto tipo de células mesenquimales. Es un fuerte estimulador de la síntesis y depósito de proteínas de matriz extracelular por

parte de fibroblastos, osteoblastos y células endoteliales; además, induce la expresión de integrinas y receptores que median las interacciones celulares con proteínas de matriz extracelular. Particularmente el TGF- β 1, también induce otros eventos intracelulares como la regulación de factores de crecimiento que intervienen en la diferenciación celular (38). En humanos se han descrito tres formas del TGF- β (- β 1, - β 2 y - β 3), las cuales residen en diferentes cromosomas (19q13, 1q41 y 14q24, respectivamente) (39).

El TGF- β es producido como un precursor dimérico de 25 kDa, secretado en forma latente (anclado a superficie celular o a la matriz extracelular), que posee 390 aminoácidos, en el cual la porción C-terminal de 112-114 aminoácidos posee nueve residuos de cisteína, y es la región activa después de que es cortada proteolíticamente en el aminoácido (40).

La activación del TGF- β es dada por varios factores, incluyendo pH extremo, altas temperaturas, proteólisis limitada o desglucosilación del péptido asociado a la latencia (LAP, por sus siglas en inglés) (41). También existe un mecanismo particular de activación, iniciado por la unión del complejo latente del TGF- β 1 a la glucoproteína de matriz extracelular llamada trombospondina 1 (TSP-1) (42).

Muchos tipos celulares expresan los TGF- β 1 y TGF- β 2 con 70% de homología en su secuencia de aminoácidos, mientras que el TGF- β 3 es sintetizado por células mesenquimales y posee 79% de homología con el TGF- β 2.

La estructura tridimensional de la proteína del TGF- β 1 comienza en el extremo N-terminal con una cadena α -hélice (α 1) seguida por una cadena β -plegada (β 1) y una cadena β -plegada antiparalela irregular. En segundo término, sigue una segunda cadena α -hélice (α 2) y un asa larga con numerosos contactos hidrofóbicos. Se continúa con una segunda cadena β -plegada (β 2), otra asa larga y una tercera cadena α -hélice (α 3), la cual termina con un giro β -tipo II y un asa larga. El extremo C-terminal de la molécula forma una estructura β -antiparalela extensa con un giro β tipo II. Las cadenas β 3, β 4, β 5, β 6 y β 7 plegadas se forman por apareamiento de residuos intercatenarios del extremo C-terminal de la proteína.(40)

Se han descrito tres tipos de receptores para que el TGF- β lleve a cabo su señalización (TGF- β RI de 53 a 65 kDa, TGF- β RII con 83 a 110 kDa y TGF- β RIII que va de 250 a 310 kDa.

Se presentan algunas diferencias entre los receptores tipo I y II que se basan en la conservación de los dominios con actividad de cinasa y la presencia de un dominio serina/treonina (dominio GS) que se encuentra anclado a la membrana en el receptor tipo I y el cual es crítico para su activación. Por otro lado, el receptor tipo III, también llamado β -glicano, no tiene dominio de señalización intracelular y puede ser anclado a la membrana o secretado en forma soluble (43).

Los complejos del receptor son heterotetraméricos y consisten de dos receptores tipo II a los cuales se une el ligando, y dos receptores tipo I, que transmiten la señal de

transducción, a los cuales, en muchas ocasiones, no puede unirse el ligando directamente. El ensamblaje del complejo heteromérico es iniciado por la unión del ligando y estabilizado por las interacciones entre los dominios citoplásmicos de los receptores tipo I y II.

Los efectos de las isoformas del TGF- β están asociados a su disponibilidad, a la combinación de los tipos de receptores y a la vía de señalización intracelular que inducen. Todas las células normales y la mayoría de las células neoplásicas tienen receptores en su superficie para el TGF- β 1. Los receptores I y II son los responsables de los efectos biológicos del TGF β 1 en las células.(40)

Algunos estudios enfocados en descubrir el papel del TGF- β indican una función en procesos inmunes e inflamatorios, ya que suprime el crecimiento y diferenciación de muchos linajes de células inmunes, incluyendo células T y B.1 El TGF- β es producido por todas y cada una de las células de linaje inmunológico y actúa de una manera autócrina y parácrina. Además de la regulación de la proliferación de células del sistema de defensa, regula la expresión de moléculas de adhesión, especialmente en la médula ósea y en el microambiente tímico. Este también actúa como un quimioatrayente para fibroblastos, monocitos y neutrófilos e inhibe la activación del sistema inmune por presentación antigénica o de interleucinas (IL). Además, las células T que entran en apoptosis normal son el mayor objetivo del TGF- β , con una acción inmunosupresora drástica, e *in vivo* aumenta las funciones efectoras y de memoria de los linfocitos T CD4+ antígeno-específicos, inhibe la secreción de IgG e IgM, suprime la hematopoyesis dependiente de IL-3. De manera importante y relevante, el TGF- β también controla la proliferación y maduración en células B y tiene un papel regulatorio crítico en la expresión de IgA (38). Se sabe que el TGF- β tiene un importante papel en la regulación del ciclo celular. En muchas células epiteliales, endoteliales y hematopoyéticas actúa inhibiendo la progresión de la fase G1 del ciclo mitótico, ya que estimula la producción de p15, un inhibidor de cinasas dependientes de ciclinas (CDC). Estos cambios resultan en un decremento en la fosforilación de la proteína Rb, la cual se une y secuestra miembros de la familia de factores de transcripción E2F e inhibe, de esta forma, la expresión de genes que regulan el ciclo celular como los c-myc y c-myb. (39-42)

Factores externos, ambientales y factores de riesgo vascular.

Homocisteína

Dos estudios demostraron una débil asociación (OR 1.33; IC del 95%; 1.04 a 1.70). En un subanálisis se encontró una fuerte asociación para concentraciones de homocisteína < de 12 micromoles/litro entre los casos (OR 11.02; IC del 95%; 2.25 a 44.23). Las deficiencias incluyen sesgo de selección, falta de análisis multivariado, inclusión de suficientes casos. (27, 30)

Migraña.

Tzorio et al encontraron una fuerte asociación (OR 3.6; IC 95%, 1.5 a 9.6) entre los casos con DACC comparados con los pacientes de infarto cerebral de otra causa.(44)

Infección.

Las infecciones recientes, principalmente respiratorias, fueron mas frecuentes entre pacientes con DACC en un estudio de casos y controles con un OR 3.0; IC del 95%, 1.1 a 8.2. Sin embargo no se evidenció asociación entre anticuerpos contra *chlamydia pneumoniae* y DACC en otro estudio.(14)

Edad.

Estudios muestran que la DACC ocurre con mayor frecuencia en pacientes jóvenes menores de 45 años, cuando los factores de aterosclerosis son mínimos.(45, 46)

Manifestaciones Clínicas.

Se pueden presentar una variedad de síntomas y signos dependiendo del territorio arterial afectado y la presencia o no de síntomas isquémicos. El espectro clínico puede ser tan amplio como:

1. Asintomática.
2. Síntomas locales como cefalea o dolor cervical.
3. Isquemia cerebral transitoria.
4. Infarto cerebral.
5. Hemorragia Subaracnoidea, la cual ocurre solamente en disecciones arteriales intracraneales principalmente en la circulación vertebrobasilar. (2, 3, 47)

La presentación convencional de la DACC es la triada de dolor en el cuello o cefalea, síndrome de Horner e isquemia cerebral. El dolor es el síntoma más común, llegándose a presentar hasta en el 70% de los casos. El dolor en el cuello ocurre hasta en el 26% de los casos y la cefalea en estallido puede indicar extensión intracraneal o la presencia de sangre subaracnoidea.(48)

Disección carotídea: Hasta en un 60% de los casos el dolor es el síntoma inicial. Puede ser aislado, asociado con el evento isquémico o asociado con síntomas focales, especialmente con síndrome de Horner. El dolor es usualmente unilateral, ipsilateral a la disección y descrito como pulsátil e intenso localizado en el cuello, mandíbula, faringe o cara, puede ser agudo e inclusive explosivo o puede simular migraña o hemicarnea continua.(49)

La isquemia cerebral u ocular se desarrolla cuando la luz de la arteria se compromete o contiene un trombo. La ceguera unilateral transitoria y la isquemia hemisférica son manifestaciones de hipoperfusión y se pueden presentar como ataques breves o

recurrentes. Los infarto cerebrales extensos son muy probablemente secundarios a embolismo.(50)

Dissección vertebral: Causan dolor en el cuello hasta en el 46% de los casos. Otros síntomas importantes pueden ser vértigo, náusea, vómito, sensación de adormecimiento facial ipsilateral a la dissección e inestabilidad a la marcha, que se reporta en el 50% de los casos.(51)

Las manifestaciones isquémicas son infarto cerebral en el 67% a 85%. Los síndromes vasculares del tallo cerebral que pueden presentarse incluyen: síndrome bulbar lateral, síndrome bulbar medial, así como síndrome pontinos y mesencefálicos, de la arteria cerebral posterior o incluso medulares.(12)

Diagnóstico.

La angiografía convencional ha sido el estándar de oro en el diagnóstico de las DACC, mediante la cual se puede mostrar el lumen arterial y caracterizar las dissecciones arteriales carotídeas y vertebrales. La dissección arterial se puede mostrar como una estenosis cónica alargada, imagen en doble lumen, oclusión o aneurisma disecante. La forma más común es la estenosis con el 48%, seguida del patrón oclusivo en 35% y la aneurismática en el 17%.

En la Imagen por resonancia magnética podemos observar un alargamiento arterial con un borde de señal hiperintensa, en media luna, alrededor del lumen arterial, este es el signo más típico y específico de dissección. Otros hallazgos son un colgajo luminal, falso lumen, estenosis acintada y aneurisma disecante. Una oclusión arterial carotídea o vertebral sin evidencia de hematoma mural no puede ser diagnosticada como dissección a menos que ésta recanalice completamente, y subsecuentemente revele un aneurisma disecante o una estenosis en flama por lo que un seguimiento por imagen es esencial.

Actualmente las características típicas de DACC pueden ser visualizadas por Angiografía, angiorresonancia o angiotomografía. (4, 9, 10)

Tratamiento.

Sigue siendo controversial y varía desde el uso de antiagregantes plaquetarios, anticoagulantes, trombolisis, cirugía y angioplastia con stent (11).

Pronóstico

Depende de la severidad del infarto cerebral y el riesgo de recurrencia. El estudio CADIPS que evaluó 928 pacientes con dissección arterial cervico-cerebral, reportó que a los tres meses de seguimiento el 74.7% de los pacientes con dissección arterial carotídea presentó un pronóstico favorable (IRm \leq 2) vs el 92.5% de la Dissección vertebral. Sólo el 2.1% presentó recurrencia (47, 52).

2. Planteamiento del Problema

La Enfermedad Vascul ar Cerebral (EVC) es un problema de salud pública. De acuerdo con la OMS, la EVC constituye la segunda causa global de muerte (9.7%). De no existir intervenciones de prevención adecuadas, se calcula que para el año 2030, su incidencia se incrementara hasta 44%. Datos de la secretaria de salud de México, muestran que en nuestro país, la tasa de mortalidad por EVC se ha incrementado a partir del año 2000, particularmente en menores de 65 años. Además es la primera causa de discapacidad adquirida en adultos.(53, 54)

El Infarto cerebral en adultos jóvenes (15-45 años) trae serias consecuencias sobre su vida laboral, social, educación y planificación familiar.

La DACC es la principal causas de IC en este grupo de edad y en nuestra serie hospitalaria corresponde hasta el 30% de los casos.(55)

Se ha formulado la hipótesis de que los pacientes con DACC (habitualmente jóvenes y sanos), pueden tener una constitución genéticamente determinada, que condicione debilidad de los vasos y que al interactuar con algunos factores ambientales, como una infección o un trauma menor, desencadenen disección vascular. Se han estudiado algunas variantes genéticas que se han asociado con incremento del riesgo a desarrollar DACC; actualmente las más promisorias son el polimorfismo C677T en el gen MTHFR y la mutación del gen TGFR β 2. Lo que enfatizó la importancia de considerar la caracterización molecular de estos genes en estos pacientes.

3. Preguntas de Investigación.

¿Es el polimorfismo C677T-MTHFR más frecuente en pacientes con Disección arterial cérvico cerebral respecto a controles sanos?

¿Es la mutación del gen del receptor del TGF β 2 más frecuente en pacientes con Disección arterial cérvico cerebral respecto a controles sanos?

4. Justificación.

Con este estudio se generó nuevo conocimiento sobre la susceptibilidad genética de la DACC para contribuir a una mejor comprensión de su fisiopatología.

La gran mayoría de los estudios de asociación genética son realizados en otras poblaciones, por lo que la información sobre la susceptibilidad genética en la población mexicana, es limitada.

Las variantes genéticas encontradas podrían tener importantes implicaciones clínicas respecto a consejería individual y familiar.

5. Hipótesis.

Existe asociación genética entre el polimorfismo C677T-MTHFR y/o la mutación del gen del receptor del TGFβ 2 con la disección arterial cerebro-cervical en la población mexicana.

6. Objetivos.

1. Determinar la frecuencia del polimorfismo C677T-MTHFR y la mutación del gen del receptor del TGFβ 2 en individuos con DACC y en un grupo de controles sanos.
2. Determinar si la presencia del polimorfismo C677T-MTHFR y/o la mutación del gen del receptor del TGFβ 2, condiciona mayor riesgo de presentar DACC.

7. Metodología.

Se realizó un estudio de casos y controles, reclutamos sujetos con DACC y un grupo de controles sanos, describimos las características de los casos y estimamos la fuerza de asociación entre las variables predictoras (polimorfismo C677T-MTHFR y/o la mutación del gen del receptor del TGFβ 2) y la presencia-ausencia de DACC.

Se determinó la muestra mediante la fórmula para calcular muestras en estudios de casos y controles:

$$n = \frac{\left[z_{1-\alpha/2} \sqrt{2p(1-p)} + z_{1-\beta} \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)} \right]^2}{(p_1 - p_2)^2}$$

Donde:

Frecuencia de exposición entre los casos	0.10
Frecuencia de exposición entre los controles	0.01
Odds ratio a detectar	2.00
Nivel de seguridad	0.95
Potencia	0.80
Número de controles por caso	1
p1	0.10
p2	0.01
OR	2.00
TAMAÑO MUESTRAL MÍNIMO	
Casos	100
Controles	100

Se recolectó DNA de 100 pacientes con DACC y 100 controles sanos. A todos se les tomó una muestra de sangre periférica para extracción de DNA por métodos convencionales, previo consentimiento informado. (ANEXO 1 Y 2)

Casos

Pacientes con diagnóstico confirmado de infarto cerebral secundario a DACC. El infarto cerebral debía ser confirmado por Tomografía de cráneo o Imagen por Resonancia magnética de encéfalo. Podían haber sido diagnosticados desde enero del 2000 hasta Marzo del 2013 por la clínica de enfermedad vascular cerebral del Instituto Nacional de Neurología de México.

En todos los casos se registraron los factores de riesgo vascular (Diabetes Mellitus, Hipertensión arterial, hipercolesterolemia, Tabaquismo), el reporte del examen físico y neurológico y ecocardiograma.

Todos los casos debían contar con al menos uno de los siguientes estudios: IRM con Angiorresonancia, Angiotomografía, o angiografía por sustracción digital de los vasos intra y de vasos de cuello.

Los siguientes hallazgos fueron considerados como diagnósticos de disección; a) imagen de doble lumen, b) estrechamiento de la luz del vaso, con signo de la cuerda, c) disminución gradual de la luz del vaso con terminación en oclusión (signo de la flama o terminación en punta de lápiz); y d) imagen de dilatación aneurismática (pseudoaneurisma).

Las disecciones fueron categorizadas de acuerdo al territorio afectado (carotideo o vertebral); y sitio afectado (extracraneal, intracraneal o extra/intracraneal); tipo de disección (oclusión, estenosis, y dilatación aneurismática y segmento disecado (vertebral V1 a V4 y carotideo C1 a C7).

Criterios de Inclusión.

1. Diagnóstico confirmado de infarto cerebral por TAC de cráneo o IRM de encéfalo.
2. Infarto cerebral secundario a DACC, diagnosticado por Angiorresonancia, Angiotomografía, o angiografía por sustracción digital.
3. Edad 18-60 años.
4. Sin alteraciones vasculares sugestivas de otras etiologías, tales como aterosclerosis, vasculitis o vasculopatía de grandes vasos de origen no ateroscleroso.

Criterios de Exclusión.

1. DACC causada por un procedimiento endovascular (angiografía, angioplastia, etc.)
2. Desorden del tejido conectivo que pueda predisponer a disección arterial.
3. Disección traumática.

Controles.

Se reclutaron 100 controles sanos, un control por caso, pareados por edad (edad y género). Los cuales fueron donadores sanos del banco de sangre del Instituto Nacional de Neurología.

Criterios de Inclusión:

1. Individuos sin historia de enfermedad vascular (infarto al miocardio, Enfermedad vascular cerebral y enfermedad vascular periférica).
2. Familiares no consanguíneo de los casos.
3. Ambos padres nacidos en México.
4. Sus cuatro abuelos nacidos en México.

Criterios de Exclusión.

1. Que padezcan un desorden del tejido conectivo que pueda predisponer a la disección arterial.

Marcadores de Ancestría.

Debido a que la población mexicana es resultado de una mezcla de población Europea (Española) y población Nativa Americana, fue necesario determinar si alguna asociación podría ser afectada por la estratificación de la población. Por lo tanto un panel de 10 marcadores informativos de ancestría (MIA) fue realizado tanto en los casos como en los controles (rs4884, rs2695, rs17203, rs2862, rs3340, rs722098, rs203096, rs223830, rs1800498, and rs2341823), los cuales distinguen principalmente ancestría Amerindia y Europea ($\delta > 0.44$). La genotipificación fue realizada usando sondas TaqMan (ABI Prism 7900HT Sequence Detection System; Applied Biosystems) and/or KASPAR assays (Kbioscience, U.K. <http://www.kbioscience.co.uk/>).

Identificación del polimorfismo C677T del gen MTHFR.

Se amplificó la región donde se encuentra la mutación C677T mediante PCR utilizando los primers diseñados por Frosst y cols. según la siguiente secuencia, forward 5'-GAAGCTGGACATGCTGGTGGC-3' y primer reverse 5'-CGCACAGCAGCCCCTCTTG-3', 100 ng de DNA y 0.5 unidades de Taq PCR Master Mix (Qiagen, Valencia, CA, U.S.A) en un volumen de 20 μ l en un termociclador Mastercycler gradient (Eppendorf, Hamburgo, Alemania). Las condiciones de reacción: 5 minutos de desnaturalización inicial a 95°C seguido por 35 ciclos de 1 min a 93°C, 1 min a 59°C y 2 min a 72°C, con una extensión final de 10 min a 72°C. Los productos de esta reacción se pusieron a digerir con la enzima de restricción Hinf I, y se analizó la restricción en geles de poliacrilamida al 10% no desnaturalizante, para finalmente visualizar con bromuro de etidio y luz ultravioleta. De la reacción de PCR se obtiene un fragmento de 197 pb. Si existe la

mutación esta genera un sitio de restricción que da origen a dos fragmentos correspondientes a una banda de 172 pb y otra de 25 pb (33).

Secuenciación del gen *TGFBR2*

Se llevo a cabo la secuenciación de los exones 3 y 4 de los 7 que contiene el gen, debido a que son los reportados por Pezinni (34) en 100 pacientes con DCA. Si se encuentra alguna mutación se analizarán 100 controles. La amplificación de los exones del gen *TGFBR2* se llevo a cabo utilizando los oligonucleótidos diseñados por ten Dijke P y Disabella (2008). La reacción de PCR se llevo a cabo utilizando 100ng de DNA y 0.5 unidades de Taq PCR Master Mix (Qiagen, Valencia, CA, U.S.A) en un volumen de 20 µl en un termociclador Mastercycler gradient (Eppendorf, Hamburgo, Alemania). La determinación de las mutaciones se llevo a cabo mediante secuenciación directa con un secuenciador ABI PRISM 3130 (Applied Biosystem, Foster City, CA).

Equilibrio de Hardy Weiberg.

Obtuvimos el Equilibrio de Hardy-Weinberg para asegurarnos que nuestra población está en “equilibrio genético”.

Definición Operacional de Variables.

Variable Dependiente

1. Disección arterial cérvico-cerebral.

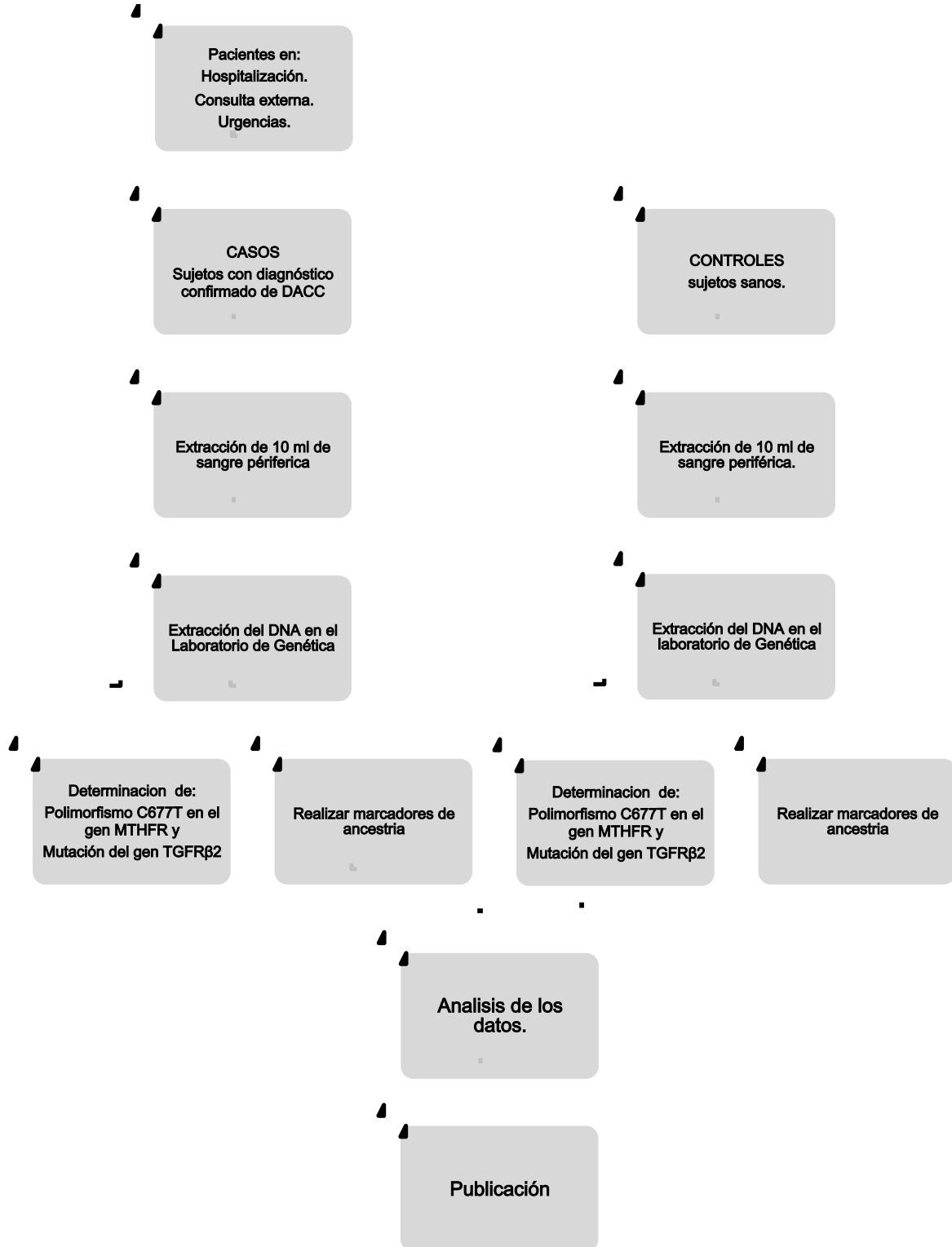
Variables Independientes.

1. Polimorfismo C677T en el gen MTHFR.
2. Mutación del gen TGFRβ2.

Variable	Definición Operacional	Definición conceptual	Instrumento de Medición	Tipo	Codificación, unidades de medición.
Disección arterial cérvico cerebral	<p>Presencia de los siguientes hallazgos por angiografía, angiorresonancia magnética o angioTAC. Tabla 1.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Imagen de doble lumen. • Estrechamiento de la luz del vaso, con signo de la cuerda. • Signo de la flama o terminación en punta de lápiz. • Oclusión. • Estenosis. • Dilatación aneurismática. 	Es el desgarre espontáneo de la pared de la arteria carótida o vertebral, lo que conduce a la formación de un hematoma intramural.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Angiografía. 2. Angiorresonancia magnética. 3. Angiotomografía 	Nominal. Dicotómica	<ol style="list-style-type: none"> 1. Con disección arterial. 2. Sin disección arterial.

Polimorfismo C677T en el gen MTHFR.	Sitio de restricción que da origen a dos fragmentos correspondientes a una banda de 172 pb y otra de 25 pb	Sustitución de citosina por timidina en la posición 677 de la secuencia de nucleótidos que codifican la MTHFR. Este cambio provoca la sustitución de alanina por valina en la posición 222 de la estructura proteica (ALA222VAL).	Amplificación y Reacción en cadena de polimerasa	Nominal. Dicotómica	1. Presencia. 2. Ausencia.
Mutación del gen TGFRβ2.	Sustitución pK372R afectando el dominio de la cinasa y la sustitución pC138R cayendo en el dominio extracelular de la proteína involucrado en la unión y señalización de TGFβ2	Son mutaciones que condicionan la sustitución pK372R afectando el dominio de la cinasa y la sustitución pC138R cayendo en el dominio extracelular de la proteína involucrado en la unión y señalización de TGFβ2.	Amplificación y secuenciación.	Nominal. Dicotómica	1. Presencia. 2. Ausencia.
Edad.	Años transcurridos desde el nacimiento hasta el momento de la disección arterial cervico-cerebral.	Número de años del sujeto.	Historia Clínica	Continua.	Años.
Género.	Género del paciente de acuerdo a su historia clínica.	Fenotipo sexual del sujeto	Historia Clínica	Nominal. Dicotómica	1. Hombre 2. Mujer.

Flujograma de Procedimientos.



8. Análisis Estadístico.

Evaluamos la asociación mediante un test de χ^2 . También se calcularon los Odds ratios (OR) y los Intervalos de confianza al 95%, de cada genotipo respecto a los controles para cuantificar la magnitud de asociación. Para el análisis se utilizó el software estadístico SPSS (versión 17, SPSS Inc., Chicago Ill., USA).

Las asociaciones de cada SNP con alguna variante genética de riesgo se sometieron a pruebas de análisis de regresión logística. El programa AdmixMap se utilizó para probar el posible efecto de la estratificación de la población sobre las asociaciones con alguna variante genética. Debido a que la población mexicana es derivada principalmente de las poblaciones amerindias y europeas (españolas), el modelo incluyó dos poblaciones parentales primarios. Admixmap realiza un modelo de regresión logística con las características de mezcla individual, y permite la inclusión de covariables como la edad y el sexo. Estas asociaciones se pusieron a prueba para el aditivo, dominante y recesivo, modelos de herencia, reportando los más significativos. Para evaluar el efecto combinado de alelos de riesgo, se calculó la puntuación de genotipo contando el número de alelos de riesgo a través de un modelo logístico ajustado por edad, sexo y mezcla.

9. Consideraciones Éticas.

Este estudio fue aprobado por el comité de Investigación y el comité de Bioética de la Institución. Todos los participantes (casos y controles) firmaron el consentimiento informado y el registro de los pacientes se manejó con estricta confidencialidad, de acuerdo a los principios éticos para la investigación médica sobre sujetos humanos de la Declaración de Helsinki, última reunión en Seúl Corea 2008.

10. Resultados.

Se extrajo el DNA de 100 casos y 100 controles (en total 200 muestras de sangre periférica). Los casos fueron pareados por género y edad (edad \pm 5 años). Se incluyeron 65 hombres y 35 mujeres por grupo. La media de edad fue de 38.08 (\pm 10.68) en los casos y de 38.11 (\pm 10.59), sin encontrar diferencia significativa entre los grupos, $p=0.92$.

Se incluyeron 37 pacientes con disección carotídea y 63 con disección vertebral. Al comparar los diferentes factores de riesgo vascular: Hipertensión arterial, Diabetes mellitus, Tabaquismo, hipercolesterolemia, alcoholismo y obesidad; entre los casos y los controles no hubo diferencia significativa. **Tabla 2.**

De los casos el 67% tuvo buen pronóstico, 32 mal pronóstico y un paciente falleció. Se manejaron con antiagregantes 56 pacientes, 36 con anticoagulantes, 1 con trombolisis y 7 pacientes ameritaron craneotomía descompresiva.

En la determinación del polimorfismo C677T del gen de la MTHFR, obtuvimos los siguientes genotipos: C/C en el 20% de los casos vs 28% de los controles, C/T 52% en casos y 60% controles y T/T, el cual es el polimorfismo c677TT, en 28% de los casos vs 12% de los controles. **Tabla 3.**

Se calculo el equilibrio de **Hardy-Weinberg** obteniendo $X^2= 3.44$, por lo que nuestra población esta en equilibrio.

Obteniendo OR 2.85, (IC 95%, 1.35-6.00), $p=0.012$. **Tabla 4.** Lo que nos muestra que existe diferencia significativa entre los casos y controles. Y que la presencia del polimorfismo C677T condiciona 2.85 veces mas de riesgo de presentar disección arterial

Realizamos un meta-análisis incluyendo nuestros resultados y seis estudios que han analizado la asociación entre el polimorfismo C677T de la MTHFR y la DACC (28, 30, 56-59), con 588 casos y 1416 controles. El cual muestra leve asociación, con un OR de 1.79 (IC 95% 1.34-2.39). **Figura 3**

Se llevo a cabo la secuenciación de los exones 3 y 4 de los 7 que contiene el gen TGFBR2 en 100 pacientes con DCA, donde previamente se habían detectado las mutaciones, sin encontrar ninguna mutación en los casos, por lo que no la realizamos la secuenciación en los controles.

La genotipificación de los marcadores de ancestría fue realizada usando sondasTaqMan (ABI Prism 7900HT Sequence Detection System; Applied Biosystems) y KASPAR assays (Kbioscience, U.K. <http://www.kbioscience.co.uk/>). La "Call rate" de cada marcador de ancestría excedio el 95% y no se observaron genotipos discordantes en el 10% de las muestras duplicadas. Todos los marcadores informativos de ancestría se mantuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p>0.05$).

11. Discusión.

Los resultados mas importantes de nuestro estudio son:

Encontramos asociación del polimorfismo C677T del gen de la MTHFR con la DACC. Tres estudios han encontrado asociación positiva entre el polimorfismo C677TT de la MTHFR con la DACC (28, 59, 60). Y otros tres estudios no han encontrado asociación significativa (56-58). Comparando estos resultados y los obtenidos en nuestro estudio apoyan la asociación entre el genotipo C677TT de la MTHFR con la DACC. Pero nosotros obtuvimos un OR mayor, 2.68, (IC 95% 1.24-5.80). Posiblemente esto se deba a los diferentes tipos de población estudiados. Ya que la población mexicana ancestralmente

es distinta a las poblaciones estudiadas en los otros estudios. Este es el estudio con mayor número de pacientes de población hispana para la determinación del polimorfismo C677TT del gen de la MTHFR.

Este genotipo se asocio con niveles elevados de Homocisteína (56, 57, 60). Estos niveles elevados de Homocisteína podrían contribuir a DACC por daño endotelial al alterar las propiedades elásticas de la pared arterial.

Aunque el papel del Factor transformador de crecimiento B y la patogénesis de la enfermedad arterial ha sido descrita. Nosotros no encontramos mutaciones en este gen. Este es el primer estudio realizado con mayor numero de casos de DACC y el primer estudio realizado en América. Quizá no encontramos presencia de mutaciones por la baja incidencia de las mismas. Pero cada vez se le esta dando mas peso a este gen, ya que sus mutaciones han sido encontradas en pacientes con enfermedades del tejido conectivo como el Síndrome de Loeyse-Dietz (SLD), presencia de aneurismas torácicos y disección torácica, el Síndrome de Furlon y el síndrome de Shprintzene-Goldberg. El espectro fenotípico de estos trastornos incluye: Afección cardiovascular generalizada y especialmente en SLD, una enfermedad vascular agresiva, con tortuosidad arterial y fuerte predisposición para aneurismas y disección arterial (61, 62), que se asocia con características cráneo-faciales y esqueléticas típicas (SLD de tipo I), o similar a lo observado en el Síndrome Ehlers-Danlos (LDS tipo II). Las mutaciones en los genes TGFBR han sido detectadas en pacientes con DACC (34, 63).

Una serie de análisis histológicos ha mostrado consistentemente un defecto grave en la elastogénesis con pérdida de el contenido de elastina y desarreglo de las fibras elásticas en pacientes con alteraciones en la regulación de la señalización TGFB, similar a la anomalías observadas en biopsias de piel y de pared arterial en pacientes con Disección arterial. Lo que sugeriría que las mutaciones del TGFRB2 pueden dar lugar a alteraciones estructurales en la matriz extracelular y de la pared arterial y por tanto ser causa de disección

Aunque las mutaciones en TGFBR2 parecen ser una causa poco frecuente de DACC, la identificación de los sujetos que presentan defectos en este gen tiene importantes implicaciones clínicas respecto a consejería individual y familiar. Debido a la agresiva naturaleza de su arteriopatía, Los portadores de la mutación requieren una estrecho monitoreo del árbol arterial y deben ser informado de los riesgos de otras manifestaciones que amenazan la vida, como la inestabilidad de la columna cervical y ruptura de órganos. cuando hay otros miembros de la familia afectados. Parece conveniente considerar la posibilidad de llevar a cabo la caracterización molecular en todos los pacientes con DACC, independientemente de la presencia de características clínicas.

Es el único estudio de casos y controles de DACC en todo el mundo, en el que se realizaron marcadores informativos de ancestría para evitar que alguna asociación encontrada pudiera ser afectada por la estartificación de la población. Lo que nos da

Sin embargo nuestro estudio también tiene debilidades:

No se tomaron niveles séricos de Homocisteína para realizar correlación entre casos y controles.

Aunque algunos estudios reportan que los niveles elevados de homocisteína son mas frecuentes en pacientes con DACC respecto a controles sanos.(28, 56, 57, 60). El estudio de Benninger (64), muestra que no hay diferencia significativa entre los casos y los controles. Por lo que los resultados son contradictorios.

Aunque tenemos un buen número de pacientes, sólo se pueden obtener datos definitivos de los estudios de rastreo genómico, en los cuales se realiza genotipificación de un gran número de nucleótidos distribuidos a través de todos los cromosomas sin requerir ninguna hipótesis a priori. Este enfoque recientemente ha aplicado a un número de enfermedades complejas con notable éxito.

Ya estamos en la planeación junto con el Instituto Nacional de Genómica para realizar un estudio de rastreo genómico en pacientes mexicanos con DACC.

12. Conclusiones.

Nuestro estudio apoya la asociación entre el polimorfismo C677TT del gen de la MTHFR con la DACC con un OR 2.85, (IC 95%, 1.35-6.00), $p=0.012$. De estos hallazgos se sustentan con los resultados del Meta-análisis de 5 estudios previos

A pesar del papel que se ha descrito de las mutaciones en el gen de TGFRB2, en la fisiopatología de la enfermedad vascular, no encontramos mutaciones en este gen en nuestros pacientes con DACC, posiblemente por la baja incidencia de estas mutaciones. Aunque nuestro estudio es el que tiene el mayor numero de casos.

Es el primer estudio de asociación genética y DACC en el que se realizan marcadores informativos de ascendencia para evitar que alguna asociación encontrada pudiera ser afectada por la estratificación de la población.

Tablas.

Tabla. 1 Hallazgos radiológicos diagnósticos de disección.


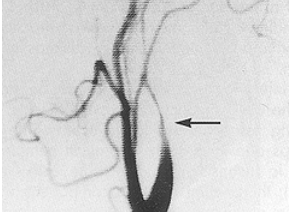

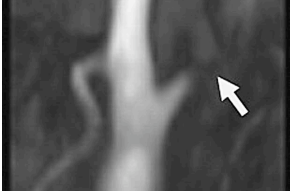


Hallazgo	Definición.	Imagen
Imagen de doble lumen	Solución de continuidad, con fractura y separación de la íntima (imagen lineal añadida a la luz arterial) y formación de una falsa luz arterial.	
Estrechamiento de la luz del vaso, con signo de la cuerda.	Consiste en la disminución progresiva e irregular de la luz de la arteria disecada.	
Signo de la flama o terminación en punta de lápiz	Disminución gradual de la luz del vaso con terminación en oclusión.	
Oclusión	Ausencia de flujo sanguíneo	
Estenosis	Se define como una reducción del calibre del vaso con estrechamiento segmentario del mismo.	
Dilatación aneurismática	Se define como la dilatación segmentaria de la arteria visible con la inyección del contraste en la luz arterial en la secuencia angiográfica	

Tabla 2. Características Epidemiológicas

	CASOS n=100	CONTROLES n=100	p
Hombres	65	65	1.00
Edad (μ)	38.08 (\pm 10.68)	38.11 (\pm 10.59)	0.92
Hipertensión arterial	11	7	0.34
Diabetes Mellitus 2	4	7	0.33
Tabaquismo	34	29	0.50
Hipercolesterolemia	4	5	0.71
Etilismo	19	12	0.19
Obesidad	5	4	0.75

Tabla 3. Genotipos

	C/C NORMAL	C/T HETEROCIGOTO	T/T HOMOCIGOTO Polimorfismo C677T	TOTAL
CASO	20(20%)	52 (52%)	28 (28%)	100
CONTROL	28 (28%)	60 (61%)	12 (12%)	100

Tabla 4. Odds Ratio

	P	OR	IC 95%
CASOS VS CONTROLES	0.012	2.85	1.35-6.00

Figuras.

Figura 1. Identificación del polimorfismo C677T del gen MTHFR.

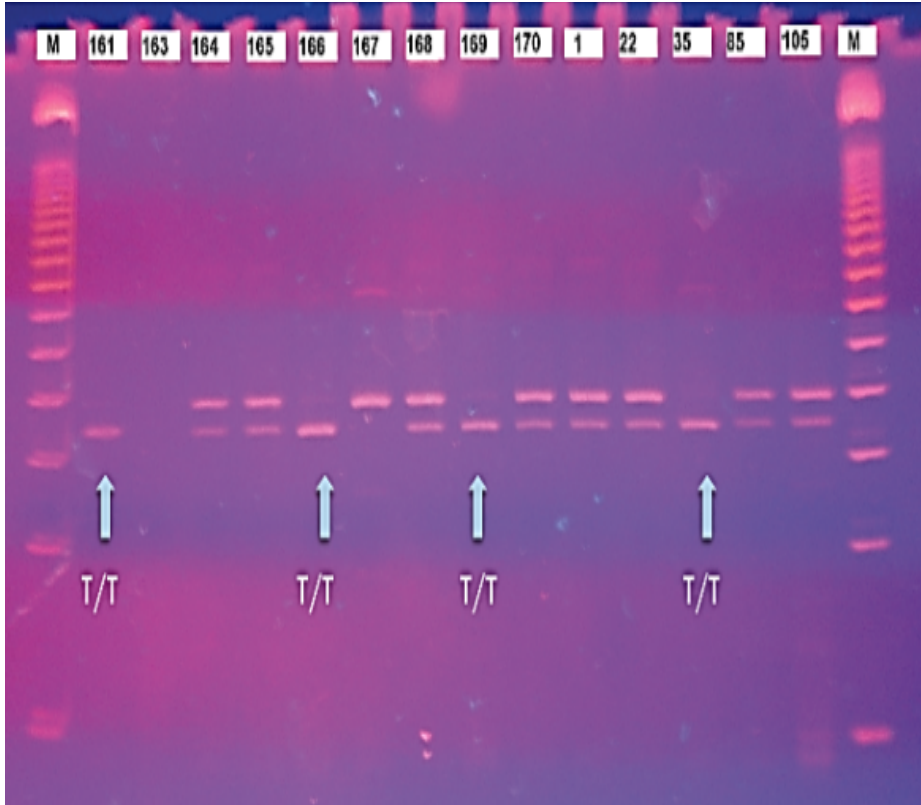


Figura 2. Meta-análisis de estudios de asociación de DACC y polimorfismo C677T de la MTHFR.

Study name	Con polimorfismo / Total		Statistics for each study			Odds ratio and 95% CI					Weight Relative
	Casos	Controles	Odds ratio	Lower limit	Upper limit	0,01	0,10	1,00	10,00	100,00	
Gallai 2001	7 / 26	3 / 30	3,316	0,759	14,484						3,85
Konrad 2004	7 / 95	9 / 95	0,760	0,271	2,132						7,87
Kloss 2006	24 / 174	89 / 832	1,336	0,823	2,167						35,78
Arauz 2007	4 / 39	4 / 76	2,057	0,486	8,713						4,02
Pezzini 2007	32 / 106	27 / 187	2,563	1,433	4,584						24,75
Jara-Prado 2010	8 / 48	11 / 96	1,545	0,577	4,139						8,63
Ruiz 2014	28 / 100	12 / 100	2,852	1,355	6,004						15,10
			1,797	1,345	2,399						

REFERENCIAS.

1. Schievink WI. Spontaneous dissection of the carotid and vertebral arteries. *The New England journal of medicine*. 2001;344(12):898-906. Epub 2001/03/22.
2. Arauz A, Hoyos L, Espinoza C, Cantu C, Barinagarrementeria F, Roman G. Dissection of cervical arteries: Long-term follow-up study of 130 consecutive cases. *Cerebrovasc Dis*. 2006;22(2-3):150-4. Epub 2006/05/13.
3. Fusco MR, Harrigan MR. Cerebrovascular dissections--a review part I: Spontaneous dissections. *Neurosurgery*. 2011;68(1):242-57; discussion 57. Epub 2010/12/15.
4. Kim YK, Schulman S. Cervical artery dissection: pathology, epidemiology and management. *Thrombosis research*. 2009;123(6):810-21. Epub 2009/03/10.
5. Fusco MR, Harrigan MR. Cerebrovascular dissections: a review. Part II: blunt cerebrovascular injury. *Neurosurgery*. 2011;68(2):517-30; discussion 30. Epub 2010/12/08.
6. Lee VH, Brown RD, Jr., Mandrekar JN, Mokri B. Incidence and outcome of cervical artery dissection: a population-based study. *Neurology*. 2006;67(10):1809-12. Epub 2006/11/30.
7. Norris JW, Beletsky V, Nadareishvili ZG. Sudden neck movement and cervical artery dissection. *The Canadian Stroke Consortium. CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*. 2000;163(1):38-40. Epub 2000/08/02.
8. Paciaroni M, Georgiadis D, Arnold M, Gandjour J, Keseru B, Fahrni G, et al. Seasonal variability in spontaneous cervical artery dissection. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 2006;77(5):677-9. Epub 2006/04/15.
9. Chandra A, Suliman A, Angle N. Spontaneous dissection of the carotid and vertebral arteries: the 10-year UCSD experience. *Annals of vascular surgery*. 2007;21(2):178-85. Epub 2007/03/14.
10. Pelkonen O, Tikkakoski T, Leinonen S, Pyhtinen J, Lepojarvi M, Sotaniemi K. Extracranial internal carotid and vertebral artery dissections: angiographic spectrum, course and prognosis. *Neuroradiology*. 2003;45(2):71-7. Epub 2003/02/20.
11. Chiras J, Marciano S, Vega Molina J, Touboul J, Poirier B, Bories J. Spontaneous dissecting aneurysm of the extracranial vertebral artery (20 cases). *Neuroradiology*. 1985;27(4):327-33. Epub 1985/01/01.
12. Arnold M, Bousser MG, Fahrni G, Fischer U, Georgiadis D, Gandjour J, et al. Vertebral artery dissection: presenting findings and predictors of outcome. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2006;37(10):2499-503. Epub 2006/09/09.
13. Brandt T, Orberk E, Weber R, Werner I, Busse O, Muller BT, et al. Pathogenesis of cervical artery dissections: association with connective tissue abnormalities. *Neurology*. 2001;57(1):24-30. Epub 2001/07/11.
14. Grau AJ, Brandt T, Buggle F, Orberk E, Mytilineos J, Werle E, et al. Association of cervical artery dissection with recent infection. *Archives of neurology*. 1999;56(7):851-6. Epub 1999/07/15.
15. Schievink WI. The treatment of spontaneous carotid and vertebral artery dissections. *Curr Opin Cardiol*. 2000;15(5):316-21. Epub 2000/12/29.

16. Touze E, Gauvrit JY, Moulin T, Meder JF, Bracard S, Mas JL. Risk of stroke and recurrent dissection after a cervical artery dissection: a multicenter study. *Neurology*. 2003;61(10):1347-51. Epub 2003/11/26.
17. Tzourio C, Cohen A, Lammise N, Biouesse V, Bousser MG. Aortic root dilatation in patients with spontaneous cervical artery dissection. *Circulation*. 1997;95(10):2351-3. Epub 1997/05/20.
18. Guillon B, Tzourio C, Biouesse V, Adrai V, Bousser MG, Touboul PJ. Arterial wall properties in carotid artery dissection: an ultrasound study. *Neurology*. 2000;55(5):663-6. Epub 2000/09/12.
19. Lucas C, Lecroart JL, Gautier C, Leclerc X, Dauzat M, Leys D, et al. Impairment of endothelial function in patients with spontaneous cervical artery dissection: evidence for a general arterial wall disease. *Cerebrovasc Dis*. 2004;17(2-3):170-4. Epub 2004/01/07.
20. Schievink WI, Mokri B, Piepgras DG. Angiographic frequency of saccular intracranial aneurysms in patients with spontaneous cervical artery dissection. *Journal of neurosurgery*. 1992;76(1):62-6. Epub 1992/01/01.
21. Volker W, Besselmann M, Dittrich R, Nabavi D, Konrad C, Dziewas R, et al. Generalized arteriopathy in patients with cervical artery dissection. *Neurology*. 2005;64(9):1508-13. Epub 2005/05/11.
22. Grond-Ginsbach C, Wigger F, Morcher M, von Pein F, Grau A, Hausser I, et al. Sequence analysis of the COL5A2 gene in patients with spontaneous cervical artery dissections. *Neurology*. 2002;58(7):1103-5. Epub 2002/04/10.
23. von Pein F, Valkkila M, Schwarz R, Morcher M, Klima B, Grau A, et al. Analysis of the COL3A1 gene in patients with spontaneous cervical artery dissections. *Journal of neurology*. 2002;249(7):862-6. Epub 2002/07/26.
24. Wiest T, Hyrenbach S, Bambul P, Erker B, Pezzini A, Hausser I, et al. Genetic analysis of familial connective tissue alterations associated with cervical artery dissections suggests locus heterogeneity. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2006;37(7):1697-702. Epub 2006/05/27.
25. Kuhlenthal G, Muller US, Besselmann M, Rauterberg J, Robenek H, Hunermund G, et al. Neither collagen 8A1 nor 8A2 mutations play a major role in cervical artery dissection. A mutation analysis and linkage study. *Journal of neurology*. 2004;251(3):357-9. Epub 2004/03/12.
26. Brandt T, Hausser I, Orberk E, Grau A, Hartschuh W, Anton-Lamprecht I, et al. Ultrastructural connective tissue abnormalities in patients with spontaneous cervicocerebral artery dissections. *Annals of neurology*. 1998;44(2):281-5. Epub 1998/08/26.
27. Debette S, Markus HS. The genetics of cervical artery dissection: a systematic review. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2009;40(6):e459-66. Epub 2009/04/25.
28. Arauz A, Hoyos L, Cantu C, Jara A, Martinez L, Garcia I, et al. Mild hyperhomocysteinemia and low folate concentrations as risk factors for cervical arterial dissection. *Cerebrovasc Dis*. 2007;24(2-3):210-4. Epub 2007/06/29.
29. Gaughan DJ, Barboux S, Kluijtmans LA, Whitehead AS. The human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genes: genomic organization, mRNA

structure and linkage to the CLCN6 gene. *Gene*. 2000;257(2):279-89. Epub 2000/11/18.

30. Jara-Prado A, Alonso ME, Martinez Ruano L, Guerrero Camacho J, Leyva A, Lopez M, et al. MTHFR C677T, FII G20210A, FV Leiden G1691A, NOS3 intron 4 VNTR, and APOE epsilon4 gene polymorphisms are not associated with spontaneous cervical artery dissection. *International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society*. 2010;5(2):80-5. Epub 2010/05/08.

31. Goyette P, Pai A, Milos R, Frosst P, Tran P, Chen Z, et al. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mammalian genome : official journal of the International Mammalian Genome Society*. 1998;9(8):652-6. Epub 1998/07/29.

32. Goyette P, Sumner JS, Milos R, Duncan AM, Rosenblatt DS, Matthews RG, et al. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA mapping and mutation identification. *Nature genetics*. 1994;7(4):551. Epub 1994/08/01.

33. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature genetics*. 1995;10(1):111-3. Epub 1995/05/01.

34. Pezzini A, Drera B, Del Zotto E, Ritelli M, Carletti M, Tomelleri G, et al. Mutations in TGFBR2 gene cause spontaneous cervical artery dissection. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 2011;82(12):1372-4. Epub 2011/01/29.

35. Sporn MB. TGF-beta: 20 years and counting. *Microbes and infection / Institut Pasteur*. 1999;1(15):1251-3. Epub 1999/12/28.

36. Blobel GA, Schiemann WP, Lodish HF. Role of transforming growth factor beta in human disease. *The New England journal of medicine*. 2000;342(18):1350-8. Epub 2000/05/04.

37. Zhu HJ, Burgess AW. Regulation of transforming growth factor-beta signaling. *Molecular cell biology research communications : MCBRC*. 2001;4(6):321-30. Epub 2001/11/13.

38. Miyazono K. Positive and negative regulation of TGF-beta signaling. *Journal of cell science*. 2000;113 (Pt 7):1101-9. Epub 2000/03/08.

39. Peralta-Zaragoza O, Lagunas-Martinez A, Madrid-Marina V. [Transforming growth factor beta-1: structure, function, and regulation mechanisms in cancer]. *Salud publica de Mexico*. 2001;43(4):340-51. Epub 2001/09/08. Factor de crecimiento transformante beta-1: estructura, funcion y mecanismos de regulacion en cancer.

40. Border WA, Noble NA. Targeting TGF-beta for treatment of disease. *Nature medicine*. 1995;1(10):1000-1. Epub 1995/10/01.

41. Bissell DM, Roulot D, George J. Transforming growth factor beta and the liver. *Hepatology*. 2001;34(5):859-67. Epub 2001/10/27.

42. Hernandez-Canaveral I, Gonzalez J, Lopez-Casillas F, Armendariz-Borunda J. Amplified expression of dominant-negative transforming growth factor-beta type II receptor inhibits collagen type I production via reduced Smad-3 activity. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2004;19(4):380-7. Epub 2004/03/12.

43. de Caestecker M. The transforming growth factor-beta superfamily of receptors. *Cytokine & growth factor reviews*. 2004;15(1):1-11. Epub 2004/01/30.

44. Tzourio C, Benslamia L, Guillon B, Aidi S, Bertrand M, Berthet K, et al. Migraine and the risk of cervical artery dissection: a case-control study. *Neurology*. 2002;59(3):435-7. Epub 2002/08/15.
45. Schievink WI, Mokri B, Piepgras DG. Spontaneous dissections of cervicocephalic arteries in childhood and adolescence. *Neurology*. 1994;44(9):1607-12. Epub 1994/09/01.
46. Schievink WI, Michels VV, Piepgras DG. Neurovascular manifestations of heritable connective tissue disorders. A review. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 1994;25(4):889-903. Epub 1994/04/01.
47. Debette S, Grond-Ginsbach C, Bodenart M, Kloss M, Engelter S, Metso T, et al. Differential features of carotid and vertebral artery dissections: the CADISP study. *Neurology*. 2011;77(12):1174-81. Epub 2011/09/09.
48. Silbert PL, Mokri B, Schievink WI. Headache and neck pain in spontaneous internal carotid and vertebral artery dissections. *Neurology*. 1995;45(8):1517-22. Epub 1995/08/01.
49. Arnold M, Cumurciuc R, Stapf C, Favrole P, Berthet K, Boussier MG. Pain as the only symptom of cervical artery dissection. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 2006;77(9):1021-4. Epub 2006/07/06.
50. Lucas C, Moulin T, Deplanque D, Tatu L, Chavot D. Stroke patterns of internal carotid artery dissection in 40 patients. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 1998;29(12):2646-8. Epub 1998/12/04.
51. Saeed AB, Shuaib A, Al-Sulaiti G, Emery D. Vertebral artery dissection: warning symptoms, clinical features and prognosis in 26 patients. *The Canadian journal of neurological sciences Le journal canadien des sciences neurologiques*. 2000;27(4):292-6. Epub 2000/11/30.
52. Debette S, Leys D. Cervical-artery dissections: predisposing factors, diagnosis, and outcome. *Lancet neurology*. 2009;8(7):668-78. Epub 2009/06/23.
53. Hachinski V. Stroke: a decade of evolution. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2010;41(5):833-5. Epub 2010/04/10.
54. Hachinski V, Donnan GA, Gorelick PB, Hacke W, Cramer SC, Kaste M, et al. Stroke: working toward a prioritized world agenda. *International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society*. 2010;5(4):238-56. Epub 2010/07/20.
55. Arauz A, Ruiz A, Pacheco G, Rojas P, Rodriguez-Armida M, Cantu C, et al. Aspirin versus anticoagulation in intra- and extracranial vertebral artery dissection. *European journal of neurology : the official journal of the European Federation of Neurological Societies*. 2013;20(1):167-72. Epub 2012/07/21.
56. Gallai V, Caso V, Paciaroni M, Cardaioli G, Arning E, Bottiglieri T, et al. Mild hyperhomocyst(e)inemia: a possible risk factor for cervical artery dissection. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2001;32(3):714-8. Epub 2001/03/10.
57. Konrad C, Muller GA, Langer C, Kuhlenthal G, Berger K, Nabavi DG, et al. Plasma homocysteine, MTHFR C677T, CBS 844ins68bp, and MTHFD1 G1958A polymorphisms in spontaneous cervical artery dissections. *Journal of neurology*. 2004;251(10):1242-8. Epub 2004/10/27.

58. Kloss M, Wiest T, Hyrenbach S, Werner I, Arnold ML, Lichy C, et al. MTHFR 677TT genotype increases the risk for cervical artery dissections. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 2006;77(8):951-2. Epub 2006/07/18.
59. Pezzini A, Grassi M, Del Zotto E, Giossi A, Monastero R, Dalla Volta G, et al. Migraine mediates the influence of C677T MTHFR genotypes on ischemic stroke risk with a stroke-subtype effect. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2007;38(12):3145-51. Epub 2007/10/27.
60. Pezzini A, Del Zotto E, Archetti S, Negrini R, Bani P, Albertini A, et al. Plasma homocysteine concentration, C677T MTHFR genotype, and 844ins68bp CBS genotype in young adults with spontaneous cervical artery dissection and atherothrombotic stroke. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2002;33(3):664-9. Epub 2002/03/02.
61. Loeys BL, Schwarze U, Holm T, Callewaert BL, Thomas GH, Pannu H, et al. Aneurysm syndromes caused by mutations in the TGF-beta receptor. *The New England journal of medicine*. 2006;355(8):788-98. Epub 2006/08/25.
62. Loeys BL, Chen J, Neptune ER, Judge DP, Podowski M, Holm T, et al. A syndrome of altered cardiovascular, craniofacial, neurocognitive and skeletal development caused by mutations in TGFBR1 or TGFBR2. *Nature genetics*. 2005;37(3):275-81. Epub 2005/02/26.
63. Tran-Fadulu V, Pannu H, Kim DH, Vick GW, 3rd, Lonsford CM, Lafont AL, et al. Analysis of multigenerational families with thoracic aortic aneurysms and dissections due to TGFBR1 or TGFBR2 mutations. *Journal of medical genetics*. 2009;46(9):607-13. Epub 2009/06/23.
64. Benninger DH, Herrmann FR, Georgiadis D, Kretschmer R, Sarikaya H, Schiller A, et al. Increased prevalence of hyperhomocysteinemia in cervical artery dissection causing stroke: a case-control study. *Cerebrovasc Dis*. 2009;27(3):241-6. Epub 2009/01/30.

Anexo 1.



INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA MANUEL VELASCO SUÁREZ

Insurgentes Sur 3877
Col. La Fama, C.P. 14269
México, D.F., Tel. 56-06-14-07
www.innn.salud.gob.mx

DETECCION DE LA MUTACIÓN DEL GEN TGFRB2 Y DEL POLIMORFISMO C677T EN EL GEN MTHFR EN PACIENTES MEXICANOS CON DISECCIÓN ARTERIAL CERVICO- CEREBRAL.

FORMA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO CASOS

1. He sido informado(a) que he sufrido un evento vascular cerebral (EVC) a causa de una disección arterial cerebro-cervical (DACC) y que en el departamento de Clínica de Vascular y en el departamento de Genética y Biología molecular se está realizando un estudio para conocer los genes que pueden producir mayor riesgo para desarrollar una disección arterial.
2. Los genes son las unidades de herencia y contienen el ácido desoxirribonucleico (ADN) que es el material hereditario. En este estudio se investigarán genes que han sido relacionados a un mayor riesgo de presentar una disección arterial cerebro cervical, como es el gen MTHFR y el TGF β R 2.
3. Estos genes tienen funciones específicas en nuestro organismo, normalmente tienen variantes y algunas de ellas se han asociado a mayor riesgo de tener Disección arterial cerebro cervical.
4. Si aceptó participar en el estudio, los médicos me realizarán algunas preguntas acerca de mi enfermedad, me elaborarán una historia familiar y me tomarán 20 ml de sangre periférica.
5. He sido informado(a) que puedo sufrir enrojecimiento o ardor en la zona de punción (para la toma de la sangre).
6. Toda la información obtenida será confidencial y estará disponible solo para los investigadores. Mi muestra será codificada con una combinación de letras y números para proteger mi identidad.
7. He sido informado(a) que mi participación es **VOLUNTARIA** y no tiene costo para mí, ni recibiré remuneración alguna.

8. Si no acepto, esto no afectará de ninguna forma mi atención médica como paciente del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez.
9. Los resultados de los estudios que se realicen a mi muestra no me serán entregados, a menos que se encuentre información relevante para mi salud o la de mis familiares. En dicho caso seré contactado por los investigadores para saber si deseo conocer la información y si deseo participar en otros estudios que contribuyan a un diagnóstico y manejo adecuado.
10. Para cualquier duda o aclaración puedo dirigirme al departamento de enfermedad vascular cerebral o al departamento de Neurogenética y Biología molecular de este Instituto o hablar al teléfono 56063822 extensión 4466 con la Dra. Angélica Ruiz Franco o con el Dr. Antonio Arauz, con la Dra. María Elisa Alonso a la extensión 2022 o con el Dr. Aurelio Jara a la extensión 2018 o con el comité de bioética.
11. Este protocolo sigue los lineamientos de la declaración de Helsinki, última reunión Seúl Corea, 2008.

FIRMA DEL SUJETO DE INVESTIGACIÓN O RESPONSABLE LEGAL

AL FIRMAR ESTA FORMA, ACEPTO PARTICIPAR VOLUNTARIAMENTE EN LA INVESTIGACIÓN DESCRITA.

Nombre del participante y/o responsable legal:

Firma: _____ **Fecha:** _____ **Teléfono:** _____

Nombre del testigo 1: _____

Firma: _____ **Parentesco:** _____

Nombre del testigo 2: _____

Firma: _____ **Parentesco:** _____

Nombre del investigador que obtuvo el consentimiento:

_____ **Firma:** _____

Anexo 2



INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIROGÍA
MANUEL VELASCO SUÁREZ

Insurgentes Sur 3877
Col. La Fama, C.P. 14269
México, D.F., Tel. 56-06-14-07
www.innn.salud.gob.mx

DETECCION DE LA MUTACIÓN DEL GEN TGFRB2 Y DEL POLIMORFISMO C677T EN EL GEN MTHFR EN PACIENTES MEXICANOS CON DISECCIÓN ARTERIAL CERVICO-CEREBRAL.

FORMA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO CONTROLES

1. He sido informado(a) que el departamento de Enfermedad Vasculare y el departamento de Neurogenética y Biología molecular de este instituto están realizando un estudio para determinar las variaciones de genes en personas de la población mexicana.
2. Los genes son las unidades de herencia y contienen el ácido desoxirribonucleico (ADN) que es el material hereditario. En este estudio se investigarán genes que han sido relacionados a un mayor riesgo de presentar una disección arterial cerebro cervical, como es el gen MTHFR y el TGF β R 2.
3. Estos genes tienen funciones específicas en nuestro organismo, normalmente tienen variantes y algunas de ellas se han asociado a mayor riesgo de tener Disección arterial cerebro cervical.
4. Si aceptó participar en el estudio, los médicos me realizarán una historia familiar y me tomarán 20 ml de sangre periférica.
5. He sido informado(a) que puedo sufrir enrojecimiento o ardor en la zona de punción (para la toma de la sangre).
6. Toda la información obtenida será confidencial y estará disponible sólo para los investigadores. Mi muestra será codificada con una combinación de letras y números para proteger mi identidad.
7. He sido informado(a) que mi participación es **VOLUNTARIA** y no tiene costo para mí, ni recibiré remuneración alguna.

8. Si no acepto, esto no afectará de ninguna forma mi atención médica como paciente del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez.
9. Los resultados de los estudios que se realicen a mi muestra no me serán entregados, a menos que se encuentre información relevante para mi salud o la de mis familiares. En dicho caso seré contactado por los investigadores para saber si deseo conocer la información y si deseo participar en otros estudios que contribuyan a un diagnóstico y manejo adecuado.
10. Para cualquier duda o aclaración puedo dirigirme al departamento de enfermedad vascular cerebral o al departamento de Neurogenética y Biología molecular de este instituto o hablar al teléfono 56063822 extensión 4466 con la Dra. Angélica Ruiz Franco o con el Dr. Antonio Arauz, con la Dra. María Elisa Alonso a la extensión 2022 o con el Dr. Aurelio Jara a la extensión 2018 o con el comité de bioética.
11. Este protocolo sigue los lineamientos de la declaración de Helsinki, última reunión Seúl Corea, 2008.

FIRMA DEL SUJETO DE INVESTIGACIÓN O RESPONSABLE LEGAL

AL FIRMAR ESTA FORMA, ACEPTO PARTICIPAR VOLUNTARIAMENTE EN LA INVESTIGACIÓN DESCRITA.

Nombre del participante y/o responsable legal:

Firma: _____ **Fecha:** _____ **Teléfono:** _____

Nombre del testigo 1: _____

Firma: _____ **Parentesco:** _____

Nombre del testigo 2: _____

Firma: _____ **Parentesco:** _____

Nombre del investigador que obtuvo el consentimiento:

_____ **Firma:** _____

Anexo 3. Aprobación del comité de investigación.

□



INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA
MANUEL VELASCO SUÁREZ




México, D. F. a 24 de Abril del 2012
OFICIO N° DIC/160/12


DR. ÁNGEL ANTONIO ARAUZ GÓNGORA
SUBDIRECCIÓN DE NEUROLOGÍA
P R E S E N T E

La presente es para informarle que su protocolo de investigación No. 21/12 intitulado: **“GENÉTICA DE LA DISECCIÓN ARTERIAL CERVICO CEREBRAL”**, ha sido **APROBADO** por el Comité Científico. No obstante, el desarrollo del protocolo queda sujeto a la aprobación por el Comité de Bioética.

ATENTAMENTE



DRA. M. LUCINDA AGUIRRE CRUZ
DIRECTORA DE INVESTIGACIÓN



C.c.p. Expediente.

México, D. F. a 24 de Abril del 2012

Insurgentes Sur # 3877 Col. La Fama 14269 México, D.F. Tel. (55) 5606-3822 ext. 2527

Anexo 4. Aprobación del comité de bioética.



INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIROLOGÍA MANUEL VELASCO SUÁREZ



Comité de Bioética

Dra. Teresa Corona
Presidenta Ex Oficio

Dr. Antonio Torres Ruiz
Presidente

Dra. Ma. Elisa Alonso Viatela
Vicepresidente

M.en C. Adriana Ochoa
Secretaria

Vocales:

Titular
Dr. Fernando Zermeño Pohls
Suplente
Dr. Juan Manuel Calleja Castillo

Titular
Dr. Ricardo Colin Piana
Suplente
Dra. Helgi Helene Jung Cook

Titular
Dr. Camilo Rios Castañeda
Suplente
Lic. Alejandra Sánchez Guzmán

Titular
Dra. Mariana Espinola Nadurille
Suplente
Dr. Tirso Zúñiga Santamaría

Titular
M.R.N. Rocio Valdez Labastida
Suplente
Enf. Patricia Zamora Ruiz

Titular
Dr. Daniel San Juan Orta
Suplente
Dra. Zoila Trujillo de los Santos

Titular
Lic. Claudia García Pastrana
Suplente
Lic. T.S. Georgina Volkens Gaussman

Consejo Consultivo:

Dra. Asunción Álvarez del Río
Dr. Horacio García Romero
Dr. José Antonio Sánchez Barroso

México, D.F., 7 de Mayo de 2012.

OFICIO N° CB/ 082/12
ASUNTO: PROTOCOLO NO. 21/12.

**DRA. ANGÉLICA RUIZ FRANCO
INVESTIGADORA PRINCIPAL
CLINICA DE ENFERMEDAD VASCULAR CEREBRAL
INNn MVS
PRESENTE.**

Estimada Dra. Ruiz Franco:

En este Comité se recibió oficio No. DIC/161/12 el día 2 de Mayo del presente año, firmado por la Dra. Lucinda Aguirre Cruz Directora de Investigación en el cual nos menciona que el Protocolo de Investigación No. 21/12 Titulado: "GENÉTICA DE LA DISECCIÓN ARTERIAL CÉRVICO CEREBRAL". Ha sido aprobado por el Comité Científico y se somete a la consideración de este Comité para su dictaminación respectiva.

Este Comité le comunica que:

1. Desde la perspectiva social el estudio tiene importancia y pertinencia.
2. La Validez Científica es apropiada.
3. El Consentimiento Informado cumple con los requisitos mínimos indispensables requeridos.
4. El Riesgo – Beneficio no representa impedimento alguno.
5. La Selección de la Muestra nos parece equitativa.

Por las razones expresadas este Comité emite su **APROBACIÓN** para los efectos a que haya lugar.

Con un saludo cordial,

CORDIALMENTE


**DR. ANTONIO TORRES RUIZ
PRESIDENTE**


**M. en C. ADRIANA OCHOA MORALES
SECRETARIA**

c.p. Dra. Ma. Lucinda Aguirre Cruz – Directora de Investigación
c.p. Dra. Ma. Elisa Alonso Viatelas - Jefa del Depto. de Genética
c.p. Dr. Antonio Arauz Góngora- Jefe de la Clínica de Enfermedad Vascular Cerebral
c.c. Archivo ATR/mitch

