



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

FRANCISCO JAVIER PADILLA DEL TORO
DIRECTOR MEDICO DE HGR1 "DR. CARLOS MAC GREGOR SANCHEZ
NAVARRO"

DR. FELIPE ORTIZ CONTRERAS.
COORDINADOR CLINICO DE EDUCACION
E INVESTIGACION EN SALUD.

DR.JORGE ESCOBEDO DE LA PEÑA.
DIRECTOR DE TESIS.

DRA.GABRIELA LICEAGA CRAVIOTTO.
PROFESORA TITULAR DEL CURSO

DR.HUMBERTO ESTRADA RODRIGUEZ
MEDICO RESIDENTE MEDICINA INTERNA
PRESENTA.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por bendecirme de manera eterna, por poner a personas que me inspiran, mis padres, Teresa Rodríguez López y Humberto Estrada García, sin su apoyo nada es posible, Mi Tía Isabel Rodríguez López, tu apoyo y paciencia conmigo ha sido y será fundamental.

A Mi Novia Nashielly Gutiérrez Sánchez, sin tu inspiración, paciencia y apoyo a esta etapa de mi vida, y de las que continúan, sin tu amor no es posible. Gracias por ser el Regalo del Creador.

Este trabajo se realizó en el Hospital No. 1 Dr. Carlos MacGregor Sánchez Navarro” en el piso del servicio de Medicina Interna, bajo la dirección del Dr. Jorge Escobedo de la Peña Jefe de la Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica, adscrito a esta unidad, el trabajo de estudios genéticos bajo la dirección del Dr. Miguel Cruz jefe del laboratorio de bioquímica de investigación adscrito al Centro Medico Nacional Siglo XXI.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| I. Resumen..... | 5 |
| II. Marco Teórico..... | 6 |
| 1. Definición..... | 5 |
| 2. Epidemiología..... | 5 |
| 3. Factores de riesgos para EVC..... | 6 |
| 4. Influencia genética..... | 7 |
| 5. Oxido nitrico Sintasa..... | 8 |
| 6. Polimorfismos G894T eNOS para EVC..... | 10 |
| III. Justificación..... | 13 |
| IV. Planteamiento del problema..... | 13 |
| V. Objetivos..... | 14 |
| VI. Hipótesis..... | 14 |
| VII. Material y métodos..... | 15 |
| VIII. Aspecto éticos..... | 24 |
| IX. consideraciones estadísticas | 24 |
| X. Recursos..... | 25 |
| XI Resultados..... | 25 |
| XII Discusión..... | 30 |
| XIII Conclusiones..... | 33 |
| XIV. Bibliografía | 34 |
| XV Cronograma de Actividades | 40 |
| XI Anexos | 42 |

I. Resumen

La Enfermedad Vascul ar Cerebral tipo isquemica (EVC) es un problema de salud pública en el mundo, es la primera causa de discapacidad en población adulta, la segunda causa de demencia y es la segunda causa mas comun de mortalidad en el mundo, en Mexico es la tercera causas de muerte, generando mas de 30,000 defunciones, en el IMSS es la tercera causa de ingresos intrahospitalarios. Los componentes de la varianza, genética y ambiental, pueden, no ser independientes y estar sujetos a interacciones dentro de un componente o entre ellos. Por su parte, la varianza genética puede ser aditiva por efecto de alelos individuales, dominante por efecto de pares de alelos homólogos por la acción de genes que afectan la expresión de otros genes. Se ha relacionado la presencia de polimorfismo de la enzima (eNOS3) oxido nitrico endotelial tipo 3 con la presencia de eventos aterotromboticos cerebrales y cardiacos. En este estudio el objetivo es demostrar la presencia de polimorfismo G894T con el desarrollo de EVC en población Mexicana para lo que se realizará un estudio no experimental tipo casos y controles, en el que se incluirán pacientes del Hospital General Regional No.1, con diagnóstico de ingreso de EVC, tomando muestras sanguíneas para análisis de ADN y variables de confusión comparado con un grupo control de pacientes sin EVC ni enfermedad aterotrombótica reciente, pareados por edad y sexo hospitalizados en el servicio de cirugía general. Se realizará la determinación del polimorfismo G894T mediante técnica de reacción de cadena de la polimerasa-restricción de fragmentos polimórficos (PCR-RFLP). En ambos grupos y se realizará análisis estadístico y demostrar su asociación con EVC en ambos grupos. El grupo de trabajo, estará bajo la asesoria metologica a travez de la unidad de Vigilancia Epidemiologia de nuestra unidad con el Respaldo del Dr. Jorge Escobedo de la Peña, en lo correspondiente a, el analisis Genetico se realizará bajo la supervision del Dr. Miguel Cruz Titular D, SNI II Unidad de Investigación Medica en Bioquímica Hospital de Especialidades, Centro Medico Nacional Siglo XXI, IMSS con amplia experiencia en la materia.

II. Marco teórico

1.DEFINICION.

La enfermedad vascular cerebral tipo isquémico se define como la presencia de síntomas neurológicos, como déficit motor o sensitivo, disartria, afasia, vértigo, alteraciones visuales como amaurosis, con más de 24 horas de duración, corroborada con estudio de imagen mediante tomografía computarizada de cráneo o resonancia magnética.

2.LOS NUMEROS DE LA EPIDEMIOLOGIA

La Enfermedad Vascular Cerebral tipo isquémica (EVC) es uno de los problemas más importantes de salud pública en el mundo, por las implicaciones económicas, sociales y de salud, es la tercera causa de muerte en Estados Unidos de América, con una mortalidad anual de 36.7 por cada 100 000 mujeres y de 46.6 por cada 100 000 hombres, con una declinación de 60 % de la mortalidad entre 1960 y 1990.(1) En el mundo, la enfermedad vascular cerebral representa la primera causa de discapacidad en población adulta y la segunda causa de demencia.(2,3) Se estima que el costo de la atención de la enfermedad vascular cerebral es alrededor de siete billones de euros por año en países europeos como Inglaterra.(4) Esto comprende costos directos al sistema de salud de 2.8 billones de euros y 2.4 billones de euros en cuidados informales; además, se agregan los costos relacionados con la pérdida de productividad y la discapacidad, de 1.8 billones de euros.(5) De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, en 1990, la enfermedad vascular cerebral fue la segunda causa de morbilidad y la tercera causa de mortalidad en países desarrollados, causando alrededor de 4.4 millones de muertes en todo el mundo. (6,7,8) En México el EVC ha pasado de ser la cuarta causa de mortalidad general en el año 2000, con poco más de 25,000 muertes, a ser en el año 2008 la tercera causa de muerte, generando mas de 30,000 defunciones.(9) Mientras que en países desarrollados la mortalidad por EVC ha mostrado un patrón descendente, en países como México se

aprecia el fenómeno opuesto (10,11,12). Es muy difícil establecer estadísticas en nuestro país sobre esta patología por lo que hay pocos trabajos al respecto, en el 2012 se realizó un estudio a través del sistema automatizado de egresos hospitalarios (SAEH), a cargo de la Dirección General de Información en Salud, agrupa a la mayoría de las instituciones públicas en México, se consultó la base de datos del SAEH, Secretaría de Salud, Gobierno Federal de México, provista por el Sistema Nacional de Información en Salud (SINAIS). Las instituciones del sector público de salud que son representadas en la base de datos SAEH son: Secretaría de Salud, IMSS, IMSS Oportunidades, ISSSTE, PEMEX, SEMAR y SEDENA, con los siguientes resultados para el 2010 se registraron 5,314,132 egresos del sector público sanitario mexicano. De éstos, 46,247 (0.9%) fueron registros de EVC agudo: EVC isquémica 20,298 (43.9%; ICT: 6.8%, IC: 37.1%) y EVC no especificada 17,095 (37.0%). Este registro mostró mayor incidencia en población de sexo femenino y una mayor proporción en pacientes menores de 40 años. A una mediana de estancia hospitalaria de cinco días (rango 1 a 89 días), la tasa global de mortalidad fue de 19.3%. A 30 días, la mortalidad global fue de 17.1% (13). En países en desarrollo, como el nuestro, se estima que el costo de atención por la enfermedad vascular cerebral es de 6000 a 8000 euros, además de los costos sociales como los cuidados informales y las alteraciones en la dinámica familiar en torno a los pacientes. No encontramos trabajo que sobre la prevalencia en el IMSS, mas sin embargo en nuestra unidad Hospitalaria el Hospital General Regional Numero 1 Dr. Carlos Macgregor Sanchez Navarro, representa la cuarta cuasa, mas comun de ingreso hospitalaria en el servicio de Medicina Interna. Por lo tanto, la atención de la enfermedad vascular cerebral deberá enfocarse en la prevención, ante el alto impacto en población menor de 40 años, en donde los factores de riesgos convencionales por si mismos, son insuficientes para explicar las causas.

3.FACTORES DE RIESGOS PARA EVENTO VASCULAR CEREBRAL ISQUEMICO

Los factores de riesgos convenciones descritos para EVC están descritos, entre ellos la hipertensión arterial es el factor de riesgo más importante; se estima que 50 millones de americanos tiene hipertensión. Se ha establecido una asociación directa entre aumento de la presión sistólica y diastólica y el riesgo de enfermedad vascular cerebral, del mismo modo se estima que la diabetes mellitus afecta a 8 % de la población, que hasta 33 % de los pacientes tiene riesgo de presentar enfermedad vascular cerebral isquémica y que es un factor de riesgo para la recurrencia (14). Sin embargo estos factores de riesgo

convencionales por si mismos son insuficientes para explicar la alta incidencia de EVC sobre todo en pacientes jovenes considerados menores de 40 años, sobre todo en la poblacion femenina. Si bien es sabido ya desde los años sesenta que el EVC, y en general toda la patología aterosclerosa, tiene un componente hereditario importante. Así se desprende numerosos estudios realizados en familias y en gemelos, que han descrito el riesgo que comporta tener un hermano gemelo o un pariente afectado de enfermedad coronaria o cerebral, de tal forma que el EVC resultada de una compleja combinación de factores ambientales y factores genéticos (15).

4.INFLUENCIA GENÉTICA EN EL EVC

La identificación de los genes responsables del aumento del riesgo para EVC ha sido un proceso lento y difícil, acelerado en la última década gracias a los avances de la biotecnología, que han facilitado la detección de los cambios en la secuencia del ADN que pueden tener un efecto patógeno. Estudios en modelos animales sugieren un componente genético asociado a EVC (16). Hay mayor prevalencia de accidentes cerebrovasculares entre los gemelos monocigóticos en comparación con las parejas de gemelos dicigóticos, lo que sugieren una contribución sustancial de la genética en el riesgo de accidente cerebrovascular (17). Estos cambios, que llamamos mutaciones o polimorfismos, pueden ser muy sutiles: unas veces se trata de la sustitución de un simple nucleótido (un simple aminoácido en la proteína codificada) entre miles (SNP o *single nucleotide polimorphism*); en otras se produce la inserción o delección de un segmento, o la repetición de unas secuencias en tándem (VNTR, número variable de *tandem repeats*). Puede ocurrir en el exón o segmento codificante, en el intrón o en la zona del promotor del gen. Mutaciones y polimorfismos son en realidad palabras sinónimas. Ambos se caracterizan por la coexistencia de dos variedades o alelos del mismo gen, el alelo natural o silvestre y el alelo mutante. Pero suele reservarse el término de mutaciones para los cambios que alteran gravemente la función de la proteína o enzima codificada y basta un gen para provocar una enfermedad (enfermedad monogénica o mendeliana). Son raras y siguen las leyes de la herencia mendeliana, dominante o recesiva. En cambio, se denominan polimorfismos si las variaciones son comunes (por definición ocurren en más del 1% de la población) y la afectación funcional es modesta o mínima, pero supone una minusvalía (un factor de riesgo genético) cuando el organismo debe enfrentarse con un mayor

esfuerzo metabólico o un problema ambiental, como el polimorfismo G894T en el gene de la Enzima Sintasa del Oxido Nítrico Endotelial (eNos) junto con la hipertensión arterial sistémica, diabetes mellitus, tabaquismo y obesidad contribuye al EVC. La contribución genética al EVC puede ocurrir a diferentes niveles, los diferentes estudios en regiones étnicas del mundo principalmente asiáticas han sido reportadas con resultados muy variables, tristemente hay pocos trabajos en Nuestro país, y los que existen son, sobre la contribución genética a la aterosclerosis tiene un enfoque cardiocentrico. Las alteraciones genéticas involucradas a través de SNP en el EVC descritas actualmente pueden ser a diferentes niveles: Apoproteína A(APOE), Metiltetrahidrofolato reductasa (MTHFR), Oxido Nítrico Sintetasa (ENOS3), factor V de Leiden (F5), Citocromo P4504F2 (CYP4F2), beta fibrinógeno y fosfodiesterasa 4D (PDE4D) (18). Por lo que respecta a la presente tesis, nos enfocaremos en la alteraciones del metabolismo del oxido nítrico esencialmente en la Oxido Nitrico Sintetasa (ENOS3).

5.OXIDO NITRICO SINTETASA (ENOS3)

El endotelio es una línea de células endoteliales que cubre la superficie de numerosos vasos y otras estructuras; la localización estratégica que ocupa a lo largo de éstos, le permite actuar como un sensor y modulador en el vaso (19,20,21). El endotelio sano trabaja para evitar el desarrollo de aterosclerosis y sus complicaciones. La función del endotelio humano involucra respuestas vasomotoras y además incluye marcadores fisiológicos, bioquímicos y genéticos que lo involucran con las plaquetas leucocitos y el sistema de coagulación. El endotelio tiene un papel clave en la homeostasis mediante la producción de numerosos mediadores bioquímicos paracrinos y autocrinos, con propiedades vasodilatadores y vasoconstrictoras como el oxido nítrico (NO) llamado inicialmente Factor relajante derivado del endotelio (EDRF), que es el que mejor se ha caracterizado. El NO se genera por la conversión de L-arginina a L- citrulina por la acción de la enzima óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) (22,23). Existen tres isoformas de la enzima oxido nítrico sintasa (NOS): oxido nítrico sintasa neuronal: nNOS (NOS1), oxido nítrico sintasa inducible: iNOS (NOS2) y oxido nítrico sintasa endotelial: eNOS (NOS3). El endotelio sintetiza eNOS, codificada por el exón 26 q35-q36 localizado en el cromosoma 7(24), eNOS se expresa constitutivamente en células endoteliales e interviene en la síntesis de NO que penetra a las células musculares lisas vasculares que permiten mantener la relajación vascular, inhibir la agregación plaquetaria (25) y la adhesión de leucocitos y plaquetas al endotelio vascular (26). Además, NO inhibe la proliferación de

las células musculares lisas, por lo que una disminución de su producción promueve la proliferación de la neointima endotelial. nNOS se encuentra en las terminales nerviosas que liberan norepinefrina. En respuesta a la inflamación iNOS es expresada y genera grandes cantidades de NO independiente de la estimulación con agonistas y Ca^{++} .

En los últimos veinte años, se ha vuelto evidente la disfunción endotelial, donde la disminución de la biodisponibilidad de óxido nítrico endotelial (NO) producido por la sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS), tiene un papel crucial en el desarrollo y progresión de aterosclerosis. Los progresos hechos para conocer los mecanismos que disminuyen la biodisponibilidad de NO, son: 1.- a nivel de la regulación de la expresión del gene de eNOS, 2.- la actividad enzimática de eNOS y 3.-la inactivación de NO. Así, los estudios recientes de investigación están dirigidos a mejorar la función endotelial sobre I.- la regulación de la actividad enzimática de eNOS y II.-la inactivación de NO por el estrés oxidativo (27). El NO derivado del endotelio, es sintetizado del sustrato L-arginina, vía la eNOS y juega un papel crucial en la función de un amplio espectro de funciones en el sistema cardiovascular, incluyendo relajación vascular, inhibición de la adhesión leucocitos-endotelio, migración y proliferación de células del músculo liso (SMC), así como, la agregación plaquetaria. Las lesiones físicas o bioquímicas del endotelio, deteriora la función de mediadores de protección vasculares, derivados del endotelio, como el NO, produciendo un incremento de contracciones vasculares, vía vasoconstrictores tales como endotelina-1, tromboxanos y serotonina, que refuerzan la formación del trombo y exacerban la producción y migración de SMC. No es sorprendente que la pérdida de la función endotelial está asociada con algunas alteraciones cardiovasculares, incluyendo aterosclerosis, la cual se produce debido a un incremento de la producción ó al incremento de la degradación de NO. Se ha demostrado que defectos en la función endotelial de NO (disfunción endotelial), asociada con los principales factores de riesgo cardiovasculares (Dislipidemias, DM2, HAS y tabaquismo), tiene un alto valor de predicción para la progresión de la aterosclerosis. Las células del endotelio que revisten la superficie interna de los vasos sanguíneos producen NO en respuesta a Acetilcolina liberada por los nervios autónomos que inervan los vasos periféricos. La unión de la acetilcolina a su receptor en la membrana de la célula endotelial produce un incremento de la concentración del ión Ca^{++} intracelular, lo que activa a NOS para producir NO a partir de L-arginina el cuál difunde a través de la membrana plasmática a las células del músculo liso adyacente donde estimula a la

guanilato ciclasa para producir GMPc a partir de GTP, El GMPc desencadena la respuesta que conduce a la relajación de la célula muscular y la dilatación subsecuente del vaso sanguíneo. Comparados con la actividad basal de un sujeto sano, se ha demostrado que la actividad del endotelio se encuentra disminuida en sujetos con aterosclerosis. El NO tiene un papel clave en la función de las plaquetas y leucocitos humanos, el uso de inhibidores de NOS produce una disminución de GMPc en las plaquetas obtenidas de seno coronario, la liberación de NO está disminuido en las plaquetas de sujetos con angina inestable comparados contra los que tienen angina estable. La actividad de NO es el resultado de un balance entre la producción de NO y su desactivación por radicales libres de oxígeno. La atenuación del efecto del NO, se puede considerar como una disfunción endotelial, lo que puede ocurrir en respuesta a la aterosclerosis o factores de riesgo, alteraciones genéticas (28). Sin embargo, en aproximadamente un 50 % de los pacientes, los eventos trombóticos arteriales ocurren sin asociación a factores de riesgo conocidos. Actualmente se conocen diversas alteraciones genéticas que afectan al sistema hemostático y al endotelio.

6.POLIMORFISMO G894T DEL GEN eNOS EN EVC.

La enzima óxido nítrico sintasa humana es codificado por un gene de 26 exones en el cromosoma 7. Algunos estudios genético clínicos identificaron diferentes polimorfismos de gene eNOS, que podrían estar asociados a enfermedad arterial coronaria aterosclerótica (29,30). Algunos de los polimorfismos identificados son la sustitución el G894T en el exón 7, resultado de la conversión de glutamato a aspartato en la posición 298 (variante Glu298Asp), es uno de los más estudiados y se ha asociado con enfermedad vascular cerebral isquémica (31). Diversos estudios han demostrado que la presencia del polimorfismo en el gene de enzima eNOS, producido por el cambio de una base de guanina por una de timina (G894T), lo que se traduce por una substitución de un aminoácido de glutamina por una asparagina a la posición 298 en la molécula de dicha proteína. Dicha substitución promueve el rompimiento de la enzima en esta posición disminuyendo su función consecuentemente la función de NOS con incremento del Riesgo cardiovascular (32). Este polimorfismo está asociado con disfunción endotelial en pacientes con enfermedad arterial coronaria (33), Hipertensión Arterial sistémica(34). Se estima que el 5% de los pacientes con hipertensión arterial sistémica, tienen resistencia a

la terapia antihipertensiva convencional, con una fuerte asociación con este polimorfismo (variante Glu298Asp) (35). La asociación ya clásicamente descrita con infarto agudo al Miocárdico (36,37,38,39) esta misma se extiende a pacientes con Nefropatía diabética, se revisa un meta análisis de 22 estudios encontrándose una asociación importante OR = 1.13, CI: 1.04-1.37(40). Encontramos la misma relación con cáncer de mama, un metanálisis que incluye 11 estudio mostro que había una asociación significativa con el riesgo de cáncer de mama en comparación con TT vs GG (OR = 1,22, IC 95% = 1,02 a 1,44, P = 0,272) y el modelo recesivo TT frente GG / GT (OR = 1.21, 95% CI = 1,02-1,42, P = 0,223 (41).

La principal hipótesis que individuos homocigotos para eNOS Asp298, se asocia con incremento de Riesgo cardiovascular, en un meta análisis se analizaron 9867 casos y 13161 controles de 26 estudios. Los individuos homocigotos, para el polimorfismo de Asp298 se asoció con incremento de riesgo para la EVC (OR, 1,31; 95% IC, 1.13 a 1.51). aunque fue significativo los estudios fueron muy heterogéneos (P_{Het} 0.0002). concluyendo que individuos homocigotos para Asp298 se asocia con moderado incremento del riesgo para EVC, tales variaciones en el gen que contribuye a eNOS tienen susceptibilidad a aterosclerosis(42). Elbas y cols analizaron 460 casos con evento vascular cerebral isquémica y 460 controles sanos pareados por edad y sexo, la distribución de los genotipos fue significativamente diferente entre los casos y los controles (P 0.008); el genotipo GG fue mas frecuente en los casos (46,1%) que en los controles (35.4%; OR, 1.56; 95% CI, 1.19 a 2.04) para enfermedad vascular cerebral isquémica, en tanto para infarto lacular la frecuencia del genotipo GG fue significativa mas alto en los casos que en los controles en el subtipo de infarto lacular (OR, 2.00; 95% CI, 1.05 a 3.80) encontrándose una asociación para homocigotos de alelos G del polimorfismo Glu298Asp en la eNOS3. (43) Hay otros estudios que contradicen esta asociación. Guldiken y cols realizaron un estudio en Turquía, incluyendo 146 casos y 133 controles, no se encontró asociación (44). Un meta análisis realizado en población Asiática, incluyeron un total de 31 estudios de casos y controles, con 8,547 pacientes con evento vascular cerebral isquémico y 9,117 controles; los resultados indican que el genotipo TT fue asociado con un incremento de riesgo, comparada con el alelo G (OR y 95 % CI 1.25 (1.09–1.42) para TT vs GT?GG, P \ 0.001) (45). Encontramos un estudio en una población de Norte americana donde se analizaron 377, comparado con 502 controles. Se encontró una asociación del polimorfismo G894T con EVC (p <0,01).

Aunque es un estudio limitado por ser relativamente pequeño en el tamaño de la muestra, sugiere un papel potencialmente importante del alelo 4c intrón como marcador genético de accidente cerebrovascular isquémico en población afroamericana (46).

Encontramos una fuerte asociación de este polimorfismo con: enfermedad vascular cerebral isquémica, la cardiopatía isquémica, nefropatía diabética e hipertensión arterial sistémica, todas comparten en común un solo sustrato, la disfunción endotelial. Al revisar la literatura medica es extensa, la información a nivel mundial y contrasta con el panorama nacional en la cual, solo encontramos algunos trabajos con enfoque cardiocentrico, lo que ha motivado por parte nuestra, un trabajo de investigación en esta área, ante la alta incidencia, mortalidad y costos del EVC en nuestra población. La identificación y manejo temprano de los nuevos factores de riesgos mejorará la implementación de estrategias y a si reducir el alto costo del impacto económico y de la reducción de la calidad de vida en pacientes con EVC (47). Por lo que presentamos este trabajo a nuestra población Mexicana tan diversa.

III. Justificación

En este Hospital, el EVC isquémico es una de las 5 principales causas de ingreso. Y representa la segunda causa de mortalidad en pacientes adultos en nuestro país, por lo que se deben identificar factores de riesgo para disminuir su incidencia. Se sabe que pacientes con múltiples factores de riesgo cardiovascular posiblemente desarrollen una enfermedad aterotrombotica que sea la causa de muerte, sin embargo en pacientes mas jóvenes con un solo factor de riesgo no justica el daño endoteial, por lo que identificar factores genéticos representa un campo de estudio importante. Los estudios previos de la variante G894T del gen de la eNOS se ha realizado en poblacion mexicana en relacion a cardiopatia isquemica, pero no hay ningun estudio en el contexto de enfermedad vascular cerebral, por otro lado tal variante en este contexto encontramos trabajos en poblaciones asiaticas, Germanicas, con características genéticas diferentes de nuestra población, por lo que se requieren más estudios que confirmen la asociación en nuestro país.

IV. Planteamiento del problema.

La enfermedad vascular cerebral es una de las causas más importantes de

morbimortalidad en el mundo y en México, constituyendo uno de los problemas más importantes de salud pública. Aunque existen factores de riesgo ampliamente aceptados, la mitad de los pacientes no tienen factores de riesgo conocido.

Si el óxido nítrico es clave en el adecuado funcionamiento endotelial y si la reducción en la enzima eNOS ocasiona disminución en su producción debido al polimorfismo G894T (eNOS), entonces la presencia del polimorfismo G894T (eNOS) se asociará a incremento de la prevalencia de enfermedad vascular cerebral isquémica.

Se ha determinado este polimorfismo en algunas razas, con resultados contradictorios, aunque en México se ha determinado ya el polimorfismo G894T (eNOS) en algunas poblaciones de indígenas sanos, y se han realizados trabajo asociados a cardiopatía isquémica en la confiere un factor de riesgo adicional a los clásicos factores ya conocidos, no hay ningún estudio en relación con la enfermedad vascular cerebral isquémica.

Por lo tanto se plantea la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es la asociación de la presencia del polimorfismo G894T de la enzima sintasa del oxido nítrico endotelial (eNOS), y Evento vascular cerebral isquémico en pacientes del Hospital General Regional No.1?

V. Objetivos

1. General:

Determinar si existe asociación entre el polimorfismo G894T en el gen de la enzima sintasa del óxido nítrico endotelial (eNOS) con el Evento Vascular Isquémico.

2. Objetivos específicos:

- Identificar pacientes con Evento Vascular Cerebral Isquémico.
- Analizar material genético de pacientes con EVC isquémico y controles pareados por edad y sexo.
- Determinar el polimorfismo G894T en el gene de la enzima sintasa del óxido nítrico endotelial (eNOS) entre casos y controles.

- Analizar variables de confusión asociadas al estudio tales como LDL (colesterol de baja densidad) HDL (colesterol de alta densidad), triglicéridos, y hemoglobina,

VI. Hipótesis

H1: La presencia de polimorfismo G894T de la eNOS3 se asocia con incremento en la incidencia de evento vascular cerebral isquémico

H0: La presencia de polimorfismo G894T de la eNOS3 no asocia con incremento en la incidencia de evento vascular cerebral isquémico.

VII. Material y métodos

Se realizará un estudio Observacional,

Método de observación: transversal.

Tipo de análisis: Comparativo

Temporalidad: Retrospectivo

Tipo de Diseño: Casos y controles.

Universo de trabajo: Población derechohabiente del IMSS, adscrita al Hospital General Regional 1

Criterios de selección:

Criterios de inclusión

Casos: Pacientes que ingresen al servicio de urgencias del Hospital General Regional 1 y se realice el diagnóstico de Evento vascular cerebral isquémico, durante el periodo de tiempo del estudio.

Que acepte participar en el estudio

Mayores de 18 años

Ambos sexos

Controles: pacientes hospitalizados en el servicio de cirugía general.

Que acepte participar en el estudio

Mayores de 18 años

Ambos sexos

Criterios de exclusión

Casos: EVC hemorrágico (antecedente o reciente) cardiopatía isquémica con Historia de SICA reciente. Controles: EVC de cualquier tipo e historia de SICA reciente.

CRITERIOS DE NO INCLUSION PARA AMBOS GRUPOS

Pacientes con antecedentes de abuso de drogas, como cocaína

Pacientes que empleen medicamentos como esteroides y AINES

Pacientes con enfermedades inmunológicas como Síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, primario ó secundario. Trombofilias, síndromes de hipercoagulabilidad, neoplasias. Pacientes con antecedentes de cardiomiopatía en cualquiera de sus variantes.

Variables de estudio

I. Dependiente: Evento vascular cerebral isquémico.

II. Independientes :

Presencia del polimorfismo G894T de le eNOS3

Tabaquismo

Edad

Sexo

Diabetes Mellitus

Hipertensión Arterial Sistémica

Dislipidemia

Cardiopatía Isquémica

Obesidad

Tamaño de la muestra

Cálculo de la Muestra:

$$n = (z\alpha\sqrt{pq} + z\beta\sqrt{p_1q_1} + \sqrt{p_0q_0})^2 \div (p_1 - p_0)^2$$

$$p_1 = \frac{p_0R}{1 + p_0(R - 1)}$$

$$p = \frac{1}{2(p_1 + p_0)}$$

$$q = 1 - p$$

$$q_1 = 1 - p_1$$

$$q_0 = 1 - p_0$$

α : .05

β :0.20

$p = .15$

$q = .04$

OR=1.5

Definición de variables

| Nombre | Definición | Escala | Indicador |
|--------------------------------|--|---------------|----------------------|
| Polimorfismo G894T de la eNOS3 | La presencia de SNPs de G894T de la eNOS3 | Nominal | Presencia o ausencia |
| Evento Vascular | Desarrollo de síntomas y signos clínicos de alteración | nominal | Presencia o ausencia |

| | | | |
|---------------------|--|---------|-------------------------|
| Cerebral Isquémico: | focal o global de la función cerebral, con una duración de una hora o más, o que progresan hacia la muerte y no tienen otra causa aparente que un origen vascular por disminución en el aporte sanguíneo. Ó presencia de Hipodensidad compatible con infarto o signos tempranos demostrados en la tomografía de cráneo simple con signos y síntomas acompañantes. (Alteraciones tempranas del EVC por tomografía: reforzamiento de la arteria cerebral media, edema localizado, disminución de la relación sustancia gris-blanca, disminución de la visualización de los ganglios de la base). | | |
| Tabaquismo | Consumo de cigarrillos en la vida del sujeto, expresado por el tiempo de duración y el número promedio de cigarrillos consumidos. Se evaluará también en función del consumo en el último año y en los últimos cinco años | Nominal | FUMA 2 NO FUMA 1 |

| | | | |
|-----------------------|--|---------|---|
| Obesidad | IMC mayor de 27 | Nominal | Obesidad grado 1 Obesidad grado 2 Obesidad grado 3 |
| Género | Característica biológica que distingue al hombre de la mujer | Nominal | 1. femenino 2. masculino |
| Edad | Número de años cumplidos al momento del estudio | Razón | Número de años |
| Cardiopatía isquémica | Antecedente de infarto agudo de miocardio, angina inestable o angina estable con o sin tratamiento médico farmacológico. | Nominal | Con cardiopatía isquémica 1 Sin cardiopatía isquémica 2 |
| Hipertensión arterial | Aumento de las cifras tensionales de acuerdo a la clasificación del 8º informe del Comité Nacional Conjunto de Hipertensión arterial de los Estados Unidos | Nominal | Normotenso Hipertensocontrolado Hipertensodescontrolado |
| Diabetes Mellitus | Diagnóstico previo de Diabetes Mellitus; Ingesta de fármacos hipoglucemiantes o uso de insulina; Glucemia | Nominal | sin Diabetes 1 Diabetes controlada 2 |

| | | | |
|--|---|---------|--|
| | central mayor de 126 en dos o mas determinaciones a partir de su ingreso; Glucemia mayor de 200 más síntomas clásicos de la Diabetes Mellitus; Hemoglobina glucosilada mayor de 6.5 % | | Diabetes Descontrolada 3 |
| Dislipidemia | Diagnóstico previo de dislipidemia; Colesterol mayor de 200 mg/dl; Triglicéridos mayores de 150 mg/dl; Ingesta de fármacos hipolipemiantes. | Nominal | Con dislipidemia 1 Sin dislipidemia 2 |
| Niveles séricos de: glucosa Colesterol total LDL (colesterol de baja densidad) HDL(colesterol de alta densidad) Triglicéridos | Son los niveles en sangre periférica de los diferentes parámetros bioquímicos considerados como factores de riesgo | Razón | Niveles en mg/dl. |

Operación de variables

Evento vascular cerebral isquémico: se realizará diagnóstico con la presencia de síntomas y signos clínicos de alteración focal o global de la función cerebral, con una duración de una hora o más, o que progresan hacia la muerte y no tienen otra causa aparente que un origen vascular por disminución en el aporte sanguíneo. Ó presencia de Hipodensidad compatible con infarto o signos tempranos demostrados en la tomografía de cráneo simple con signos y síntomas acompañantes. (Alteraciones tempranas del EVC por tomografía: reforzamiento de la arteria cerebral media, edema localizado, disminución de la relación sustancia gris-blanca, disminución de la visualización de los ganglios de la base).

Polimorfismo G894T de la eNOD3 oxido nítrico sintetada endotelial 3, Variación en la secuencia de ADN en el gen de la eNOS, el cual consiste en una substitución de un Guanina por Timina en el nucleótido 894 en el cromosoma 7 exon 7

Extracción, cuantificación e integridad del DNA: El aislamiento del DNA de las células mononucleares se realizará por el método basado en la separación en columnas (QIAamp DNA BloodMidi/ Kit, Quiagen, Alemania). La pureza y concentración se evaluarán en el espectrofotómetro a 260/280 nm, y la integridad mediante electroforesis en geles de agarosa al 0.9%. Se realizará en el laboratorio de bioquímica del Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Análisis de los SNPs de los genes candidato. El análisis de los polimorfismos de los genes candidato se realizará mediante amplificación de las regiones conocidas por PCR para la detección de los SNPs con el equipo PCR tiempo real. El método consiste en el empleo y diseño de la enzima TaqMan con dos fluorocromos diferentes (rojo y verde) que se unen a los sitios polimorficos de cada alelo. Los "primers" o iniciadores al amplificar el gen liberan a la enzima y se libera el color que es detectado por un sistema electrónico que convierte las señales en números que mediante un programa de la computadora se pueden identificar aquellos individuos que posean el polimorfismo, que no sean polimorficos o a los homocigotos. Además, el método ofrece la gran ventaja que ya no es necesario correr genes para corroborar el producto amplificado, el uso de enzimas de restricción para ubicar los sitios polimorficos y su comprobación del cambio por secuenciación directa. La otra ventaja es que se pueden analizar hasta 384 muestras por corrida, lo que significa un ahorro importante de tiempo y reactivos. Se tiene ya disponible la sonda

TaqMan para el RS:1498373 identificada como: TaqMan® SNP Assays MTO, Human SM TaqMan® Pre-Designed SNP Genotyping Assays-Human-Small Scale, 40X -1,500 reactions of 5uL

Presión Arterial- Hipertensión arterial. Se realizará la determinación de la presión arterial con un esfigmomanómetro de mercurio. El manómetro se colocará sobre una superficie horizontal, la persona se sentará con el brazo derecho descubierto, se ajustará el brazalete, se localizará el pulso braquial, se colocará el estetoscopio sobre la arteria, se insuflará rápidamente por encima de la presión que ya no pueda percibirse el tacto del pulso, se desinflará paulatinamente a una velocidad uniforme, observando la columna de mercurio, se determinará la presión sistólica cuando se ausculte el primer ruido arterial; el punto en que desaparezca el último ruido arterial determinará la presión diastólica. Se considerará hipertensión arterial cuando la presión sistólica sanguínea sea mayor de 140 mm de Hg. o presión diastólica sanguínea mayor de 90 mmHg, o que tome medicamentos antihipertensivos.

Diabetes Mellitus. Se interrogará al paciente sobre antecedente de diagnóstico de DM, se realizará diagnóstico de la enfermedad si tiene glucosa en ayuno mayor de 126, o al azar mayor de 200 con síntomas sugestivos.

Cardiopatía isquémica: se interrogará sobre antecedente de diagnóstico de infarto agudo de miocardio, angina inestable o angina estable con o sin tratamiento farmacológico o de reperfusión miocárdica..

Tabaquismo. Para determinación de tabaquismo se interrogará sobre si fuma o no, tipo: cigarro, pipa, puro, si usa filtro o no, frecuencia con la que fuma, cantidad de cigarros fumados al día, cuanto tiempo lleva fumando. Se determinará un índice de acuerdo a los resultados obtenidos.

Dislipidemia: se interrogará al paciente sobre antecedente de Diagnóstico de dislipidemia tratamiento utilizado, se realizará diagnóstico de la enfermedad si se cuenta con estudios de laboratorio con colesterol mayor de 200, LDL mayor de 170, HLD menor de 40 y/ ó triglicéridos mayor de 150

Obesidad: se tomará por interrogatorio directo el peso y la talla del paciente en kg y cm respectivamente, para sacar índice de masa corporal y se clasificará como obesidad un índice mayor de 27.

Niveles séricos de parámetros bioquímicos. se tomará una muestra sanguínea, de aproximadamente 15 ml., con el fin de medir los niveles séricos de:

- Colesterol total
- glucosa
- HDL
- LDL
- Triglicéridos
- Ácido úrico

El colesterol total y sus fracciones HDL y LDL, los triglicéridos y el ácido úrico, se medirán con equipo automatizado IL-2000 en el laboratorio del Hospital General Regional Número 1.

Edad. Se interrogará la edad en años cumplidos

Género: Se consignará el sexo aparente: hombre o mujer

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:

Se incluyeron pacientes Hospitalizados en HGR 1 del Instituto Mexicano del Seguro Social, en el servicio de urgencias o en el servicio de Medicina Interna, con diagnóstico de ingreso de Evento vascular cerebral isquémico, definido previamente, se leyó consentimiento informado y se solicitó autorización para obtener información sobre datos personales y antecedentes personales patológicos, en caso de que el paciente no estuvo en disposición de condiciones de firmar, se obtuvo autorización por parte del familiar. Se realizó toma de muestra de 15 ml de sangre venosa. Se registrarán los datos en la hoja de recolección anexada. Posteriormente se tomó una muestra de sangre venosa, se realizó punción de vena periférica, con limpieza de la zona a puncionar con alcohol, tomando muestras sanguíneas para análisis de ADN y variables de confusión descritas, obteniendo 15 ml aproximadamente para 3 tubos con EDTA. Las muestras fueron inmediatamente procesadas, separando plasma de capa leucocitaria, obteniendo 3 tubos de plasma y 3 de capa leucocitaria por cada paciente. La centrífuga se encuentra en un

consultorio dentro del mismo hospital, el cual pertenece a la unidad de Investigación en Epidemiología Clínica. Se mantubieron bajo congelación dichas muestras. Cada muestra lleva el folio con el que se ha identificado a cada paciente, mismo que se ubica en la hoja de recolección de datos. Las muestras se transportaron al laboratorio de bioquímica del CMN Siglo XXI para la el análisis genético del polimorfismo. Para el caso de los pacientes control se llevó a cabo el mismo procedimiento, identificando pacientes pareados por edad y sexo de acuerdo al paciente caso obtenido, en servicio de Cirugía General del mismo hospital de marzo de 2014 a enero de 2015. Se realizó la determinación del polimorfismo en ambos grupos.

La genotipificación del polimorfismo Glu298Asp de la sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS) de cada individuo se analizará por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La secuencia de los iniciadores que se usaron para la amplificación será: Sentido: 5'-CATGAGGCTCAGCCCCAGAAC-3' y Contrasentido: 5'-AGTCAATCCCTTTGGTGGTCAC-3'. dicho procedimiento se llevó a cabo en el laboratorio de investigación bioquímica de la Unidad de Investigación del Centro Médico Nacional Siglo XXI. Para el uso de la sonda se extrajo DNA de cada muestra de sangre, este procedimiento se llevó a cabo en el Banco Nacional de ADN de CMN Siglo XXI, con ayuda del personal que ahí labora posteriormente se realizaron diluciones correspondientes para la siembra el material genético y análisis con la sonda Taqman.

VIII. Aspectos éticos

De acuerdo al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación, el protocolo se considera como una investigación con riesgo mínimo, ya que contempla la realización de examen físico, interrogatorio y toma de muestras de sangre. El estudio no contempla la participación de menores de edad, mujeres embarazadas o grupos subordinados.

Los procedimientos de estudio se apegaron a las normas éticas, al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación y a la Declaración de Helsinki vigente.

La información que se maneja es de forma confidencial, de tal forma que se eliminó el nombre del paciente y su cédula de identificación en todas las bases de datos y solo se vinculará con el número de folio. Solo el investigador principal tiene acceso a esta

información. El análisis se realizó siempre en forma grupal, de forma tal que no es posible identificar a los individuos participantes en el análisis.

IX CONSIDERACIONES ESTADÍSTICAS

Las variables cuantitativas se expresan como media \pm desviación estándar y las cualitativas como porcentajes. Se evaluó la distribución de las variables continuas mediante pruebas de normalidad. Se realizó un análisis descriptivo de la información mediante frecuencias simples, porcentajes, medidas de tendencia central y de dispersión.

Se realizó cálculo de las prevalencias por grupo de edad, sexo y los intervalos de confianza al 95%, valor alfa al 0.05, para valorar asociación la prueba de Ji de MH, con valor alfa al 0.05. La medida de efecto: Razón de momios de la prevalencia, con IC al 95%, valor alfa al 0.05.

Se realizó modelo de regresión logística no condicional para las variables de confusión.

El nivel de significación estadística se establecerá en los diferentes test empleados para un valor de $p < 0,05$ en sentido bilateral.

X Recursos, financiamiento y Factibilidad del Estudio.

X.1 RESPONSABILIDADES DE LOS INVESTIGADORES

Los investigadores responsables realizarán el estudio basado en las Buenas Prácticas Clínicas y los requisitos regulatorios aplicables.

El investigador principal se encargó del cumplimiento del cronograma de trabajo, y los procedimientos requeridos para el protocolo. El investigador está de acuerdo en suministrar toda la información solicitada de manera exacta y legible, de acuerdo con las instrucciones suministradas y asegurar el acceso directo a los documentos fuente a los representantes del comité local de investigación

La captación de la información se llevó a cabo en el servicio de Medicina Interna de acuerdo a la hoja de captación de datos por el investigador quien realizó las variables estipuladas en cada paciente de acuerdo a la forma de recolección de datos.

X.2 RECURSOS FINANCIEROS

En cuanto a los gastos del presente estudio, se contó con el apoyo para los gastos de papelería, así como computadoras del área de enseñanza del Hospital donde se realizó el estudio, apoyo del personal médico del servicio de Medicina interna del Hospital Dr. Carlos Mac Gregor Sánchez Navarro. El resto de los gastos fueron solventados por los investigadores involucrados.

X RESULTADOS

Se analizaron 504 pacientes, de los cuales se dividieron en 2 grupos para el presente estudio, 252 casos y 252 controles, pareados por edad y sexo, con las características que se muestran en la tabla 1, de la cual 238 son mujeres, y 226 hombres, se dividieron para su análisis en 3 grupos de edad, el primero de ellos de 35 años a 69 años en donde se ubica el 31.8% de la población, segundo grupo, 70 a 80 años, en donde se encuentra el 33.7% de la población, en el tercer grupo, para mayores de 81 años, en este último grupo se ubica el 34.5%. Encontrando el antecedente tabaquismo en un 41% de los casos y en un 40.5% de los controles, sin encontrar una relevancia estadísticamente significativa, en cuanto a dislipidemia: encontramos el antecedente en un 31.4% en los casos y un 30.6% en los controles encontrando una OR: 1.10 (IC 95% 0.7 -1.6) una p 0.8 sin impacto estadístico, en cuanto a diabetes mellitus como antecedente encontramos 45.6% en los casos vs, 40.1% en los controles, con un OR 1.28 (IC 95 0.9 -1.9) una p 0.2, los antecedentes más importantes recabados es el de Hipertensión Arterial Sistémica, encontrando en un 59.1% en los casos vs un 47.32% en los controles, este antecedente le confiere un riesgo del 60% con un OR 1.6 (IC 95, 1.6 -2.3) una p 0.009, con un impacto estadístico significativo, en cuanto al antecedente de Cardiopatía Isquémica se encontró en el 30% de los casos y en 30.6% en los controles sin significancia estadística.

Tabla 1. Descripción de la Población Estudiada

| Variable | Casos | % | Controles | % |
|---|-------|-------|-----------|-------|
| Sexo | | | | |
| Mujer | 119 | 45% | 119 | 47% |
| Hombre | 113 | 55% | 133 | 53% |
| Grupos de Edad | | | | |
| 35 a 69 años | 82 | 31.8% | 82 | 31.8% |
| 70 a 80 años | 86 | 33.7% | 86 | 33.7% |
| >81 años | 84 | 34.5% | 84 | 34.5% |
| Fuma actualmente | | | | |
| Si | 104 | 41.3% | 102 | 40.5% |
| No | 148 | 58.7% | 150 | 59.5% |
| Le han diagnosticado DM T2 | | | | |
| Si | 115 | 45.6% | 101 | 40.1% |
| No | 137 | 54.4% | 151 | 60.0% |
| Tiene dislipidemia | | | | |
| Si | 79 | 31.4% | 77 | 30.6% |
| No | 173 | 68.7% | 175 | 69.4% |
| Le han diagnosticado Hipertensión Arterial | | | | |
| Si | 149 | 59.1% | 119 | 47.2% |
| No | 103 | 41.0% | 133 | 53.0% |
| Cardiopatía Isquémica | | | | |
| Si | 75 | 30.0% | 81 | 32.1% |
| No | 177 | 70.2% | 171 | 68.0% |
| Hipertensión Sistólica mm Hg | | | | |
| <120 | 74 | 29.4% | 124 | 49.4% |
| 121 a 140 | 117 | 46.4% | 109 | 43.4% |
| >140 | 61 | 24.2% | 18 | 7.2% |

Entre los datos recabados de los casos, se registró la presión Arterial Sistólica (TAS), en los pacientes con EVC, (tabla 2) de igual modo en los controles, este dato se dividió la TAS en 3 grupos: < 120mmHg, en la cual no encontramos significancia estadística, 121-140mmHg OR 1.8 (IC 95,1.2-2.8) con un valor de P 0.005 y en el grupo de > 140 mmHg, encontramos un incremento de riesgo de 5 veces mayor en los casos comparados con los controles OR 5.1 (IC 95 2.8 a 9.30), P < 0.0001. Se registró Índice Masa Corporal (kg/m²) en ambos grupos sin impacto estadístico (tabla 2).

| Descripción de la población estudiada | | | | |
|---------------------------------------|-------|-------|-----------|-------|
| Variable | Casos | % | Controles | % |
| Hemoglobina gr/dL | | | | |
| 6.5 a 9 | 9 | 4.0% | 4 | 2.0% |
| 9 a 10.9 | 93 | 37.0% | 53 | 21.0% |
| >11 | 150 | 59.5% | 195 | 77.4% |
| IMC (kg/m2) | | | | |
| 18 a 27 | 161 | 64.0% | 143 | 57% |
| 27 a 29 | 36 | 14.3% | 59 | 23.4% |
| >30 | 55 | 22.0% | 50 | 20% |
| Triglicéridos mg/dL | | | | |
| <150 | 125 | 50.0% | 115 | 46% |
| 151 a 200 | 72 | 29.0% | 102 | 41% |
| >200 | 55 | 21.8% | 35 | 13.9% |
| Colesterol mg/dL | | | | |
| <159 | 120 | 48.0% | 85 | 34% |
| 160 a 200 | 62 | 25.0% | 105 | 42% |
| >200 | 69 | 27.4% | 62 | 25% |
| SNP G894T | | | | |
| Ancestro | 171 | 74.0% | 174 | 76.3% |
| Heterocigoto | 56 | 24.1% | 50 | 22% |
| Homocigoto a la variante | 5 | 2.2% | 4 | 1.8% |

Se Realizo determinación de polimorfismo G894T en el gen de la enzima sintasa del oxido nítrico endotelial (enos), en ambos grupos, sin embargo por cuestiones tecnicas solo se obtuvo DNA, en 232 y 228 controles, con las siguiente distribucion, (tabla 3) predominante en genotipo ancestral GG en 171 casos (74 %), 174 controles (76.3), encontramos la variable heterocigota (GT) discretamente mayor en los casos 56 (24.1%), y 50 controles (22%), en cuanto a la homocigoto a la variante (TT) encontramos 5 casos (2.2%) y 4(1.8%) controles, cuando hacemos el analisis de la influencia del polimorfismos y el incremento de riesgo, reportamos para la variante heterocigoto, OR 1.23 (IC 95%, 0.8 -1.9) con un valor de P 0.04, y para los homocigotos a la variante (TT) hay un incremento de riesgo con, OR 4.3 (IC 95%, 0.5 -37.4) con un Valor de P, 0.2.

Tabla 3. Factores de riesgo sin ajustar

| | RM | IC95% | | p |
|--|------|-------|------|---------|
| Tabaquismo | | | | |
| Si | 1.04 | 0.7 | 1.60 | 0.8 |
| No | 1 | | | |
| Le han diagnosticado DM T2 | | | | |
| Si | 1.28 | 0.9 | 1.90 | 0.2 |
| No | 1 | | | |
| Tiene dislipidemia | | | | |
| Si | 1.10 | 0.7 | 1.60 | 0.8 |
| No | 1 | | | |
| Le han diagnosticado Hipertensión Arterial | | | | |
| Si | 1.6 | 1.1 | 2.30 | 0.009 |
| No | 1 | | | |
| Cardiopatía Isquémica | | | | |
| Si | 0.8 | 0.4 | 1.40 | 0.4 |
| No | 1 | | | |
| Hipertensión Sistólica | | | | |
| <120 | 1 | | | |
| 121 a 140 | 1.8 | 1.2 | 2.80 | 0.005 |
| >140 | 5.1 | 2.8 | 9.30 | <0.0001 |
| Hemoglobina gr/L | | | | |
| 6.5 a 9 | 0.70 | 0.2 | 2.90 | 0.67 |
| 9 a 10.9 | 0.30 | 0.08 | 1.20 | 0.09 |
| >11 | 1 | | | |
| IMC (kg/m2) | | | | |
| 18 a 27 | 1 | | | |
| 27 a 29 | 0.50 | 0.3 | 0.90 | 0.013 |
| >30 | 0.90 | 0.5 | 1.50 | 0.7 |

Tabla 4. Factores de Riesgo Sin ajustar

| Factores de riesgo sin ajustar | | | | |
|--------------------------------|------|-------|------|---------|
| Variable | RM | IC95% | | p |
| Triglicéridos | | | | |
| <150 | 1 | | | |
| 151 a 200 | 0.6 | 0.4 | 1 | 0.036 |
| >200 | 1.5 | 0.9 | 2.5 | 0.2 |
| Colesterol | | | | |
| <159 | 1 | | | |
| 160 a 200 | 0.5 | 0.3 | 0.7 | <0.0001 |
| >200 | 0.8 | 0.5 | 1.3 | 0.4 |
| SNP G894T | | | | |
| Ancestro | 1 | | | |
| Heterocigoto | 1.23 | 0.8 | 1.9 | 0.04 |
| Homocigoto a la variante | 4.2 | 0.5 | 37.4 | 0.2 |

Al realizar el análisis multivariado logístico condicional (tabla 5) para la variable homocigoto, el riesgo persiste, incluso se incrementa, confiriendo 8 veces más riesgo OR 8.0 (IC 95%, 0.6 -115), mientras para la población heterocigoto a la variable el OR se incrementa a 1.5 (IC 95%, 0.8 -2.5), para las otras variables: Diabetes mellitus, con un OR de 1.5 (IC 95%, 0.9-1.9), Hipertensión Arterial Sistólica, para el segundo Grupo (TAS 121-140 mmHg) OR 2.8 (IC 95%, 1.15-3.09), para el Tercer Grupo (TAS) > 140 mmHg, OR 9.3 (IC 95% 2.8-10.7).

Tabla 6. Modelo Multivariado Logístico Condicional.

| Modelo multivariado logístico condicional | | | | | | |
|---|-----------------|-------|------|--------------|-------|-------|
| | Razón de momios | IC95% | | Razón Momios | IC95% | |
| SNP G894T | | | | | | |
| Ancestro | 1 | | | 1 | | |
| Heterocigoto | 1.2 | 0.8 | 1.9 | 1.5 | 0.8 | 2.5 |
| Homocigoto a la Variante | 4.2 | 0.5 | 37.4 | 8.0 | 0.6 | 115.4 |
| DMT2 | | | | | | |
| Si | 1.28 | 0.9 | 1.9 | 1.4 | 0.9 | 2.3 |
| No | 1 | | | 1 | | |
| TA SISTOLICA | | | | | | |
| <120 | 1 | | | 1 | | |
| 121 a 140 | 1.8 | 1.2 | 2.8 | 1.8 | 1.15 | 3.09 |
| >140 | 5.1 | 2.8 | 9.3 | 5.4 | 2.8 | 10.7 |
| IMC | | | | | | |
| 18 a 27 | 1 | | | 1 | | |
| 27 a 29 | 0.5 | 0.3 | 0.9 | 1.6 | 0.96 | 2.85 |
| >30 | 0.9 | 0.5 | 1.5 | 0.35 | 0.187 | 0.66 |
| TABAQUISMO | | | | | | |
| Si | 1.04 | 0.7 | 1.6 | 0.76 | 0.88 | 1.5 |
| No | 1 | | | 1 | | |
| Loglikelihood | | | | | | |
| | 117.9 | | | | | |
| R2 | | | | | | |
| | 0.18 | | | | | |
| p | | | | | | |
| | <0.00001 | | | | | |

XII DISCUSION

La enfermedad vascular cerebral tipo isquémico es una enfermedad multifactorial que resulta de la interacción entre factores genéticos, ambientales y / o

características de comportamiento. Se ha propuesto que los factores asociados con el accidente cerebrovascular isquémico son diferentes entre los individuos más jóvenes y de más edad. Los factores genéticos podrían influir en la expresión a una edad temprana debido a antecedentes familiares de enfermedad vascular cerebral, en el medio ambiente los factores de riesgo son menos comunes, y si están presentes, han afectado a la persona sólo por un período más corto del tiempo. Por lo tanto, una combinación genotipo-ambiental específica puede determinar varios fenotipos posibles en diferentes momentos de la vida. Por otra parte, la influencia específica de una anomalía genética conocida asociada con enfermedad vascular cerebral puede no ser el mismo para todas las razas. Por lo tanto, es conveniente establecer la contribución específica de cada anomalía genética o factor de riesgo ambiental en las personas con diferentes antecedentes genéticos (12,14,15,16).

La sustitución del G894T en el exón 7, resultado de la conversión de glutamato a aspartato en la posición 298 (variante Glu298Asp), es uno de los más estudiados y se ha asociado con enfermedad vascular cerebral isquémica (31). Diversos estudios han demostrado que la presencia del polimorfismo en el gene de enzima eNOS, producido por el cambio de una base de guanina por una de timina (G894T), lo que se traduce por una substitución de un aminoácido de glutamina por una asparagina a la posición 298 en la molécula de dicha proteína. Dicha substitución promueve el rompimiento de la enzima en esta posición disminuyendo su función consecuentemente la función de NOS con incremento del Riesgo cardiovascular (32). En nuestro estudio encontramos que la Frecuencia alélica SNP G894T en población Mexicana HR.1 CMSN (Hospital Carlos Macgregor Sánchez Navarro) es del 76.3% (CT+ TT.) la cual es muy similar a los hallazgos reportados por otros estudios en población mexicana. En cuando a la variante homocigota encontramos más en los casos, confirmando nuestra hipótesis inicial, en comparación que los controles (2.2% vs 1.8%), la presencia de la variable homocigota, confiere por sí mismo 23% mayor de riesgo, con OR 1.23 (IC 95%, IC 0.8-1.9)P, 0.04, dicho riesgo se mantiene cuando analizamos a todas las variables, incluye incrementa a OR 1.5 (IC 95%, IC 0.8-1.9)P, 0.04.

El Hallazgo mas importante es que la presencia de la variable Homocigota, por si mismo sin el analisis de las otras variables, confiere un riesgo de 4 veces mas, OR 4.2 (IC 95%, IC 0.5-37.4)P, 0.02, al realizar el analisis multivariado el riesgo se incrementa, OR 8.0 (IC 95%, IC 0.6-115.4). comparando con otros estudios internacionales, se analizaron 9867 casos y 13161 controles de 26 estudios. Los individuos homocigotos, para el polimorfismo de Asp298 se asoció con incremento de riesgo para la EVC (OR,1,31;95%IC,1.13 a1.51). aunque fue significativo, los estudios fueron muy heterogéneos (P_{Het} 0.0002). Elbas y cols analizaron 460 casos con evento vascular cerebral isquémica y 460 controles sanos pareados por edad y sexo, la distribución de los genotipos fue significativamente diferente entre los casos y los controles (P 0.008); el genotipo GG fue mas frecuente en los casos (46,1%) que en los controles (35.4%; OR, 1.56; 95% CI, 1.19 a 2.04) para enfermedad vascular cerebral isquémica, en tanto para infarto lacular la frecuencia del genotipo GG fue significativa mas alto en los casos que en los controles en el subtipo de infarto lacular (OR, 2.00; 95% CI, 1.05 a 3.80) encontrándose una asociación para homocigotos de alelos G del polimorfismo Glu298Asp en la eNOS3. (43).

La aleteracion genética de dicho polimorfismos, se asocia a una alteración de función del ENOS 3, consiguientemente disfunción del NO, lo que lleva alteraciones en la relajación y vasodilatación endotelial, y por consiguiente, un incremento de las resistencia periféricas, llevando un incremento de la TAS, para el grupo de Grupo con (TAS)> 140 mmHg, OR 9.3 (IC 95% 2.8-10.7), este mismo se mantiene elevado cuando analisamos junto con las otras variables, OR, 5.00; 95% CI, 2.8 a 10.7), encontando un significancia estadísticamente significativa. Este polimorfismo está asociado con disfunción endotelial en pacientes con enfermedad arterial coronaria (33), Hipertensión Arterial sistémica(34). Mas sin embargo en nuestros hallazgos no encontramos relacion de este polimorfismos con el antecedente de cardiopatia isquemica, encontrando OR 1.10 (IC 95%, IC 0.7 -1.60) p. 0.8, Al igual que en estudios previos en individuos jóvenes, la hipertensión y hipertrigliceridemia se asociaron con accidente cerebrovascular tipo isquémico y persistiendo como factores de riesgo

independientes después del ajuste para otras variables, por ejemplo: el antecedente de Diabetes mellitus se relacionó con OR 1.28 (IC 95%, IC 0.9 -1.90) p. 0.2, al ajustarse con las otras variables, se incrementa a OR 1.4 (IC 95%, IC 0.9-2.3). Hipertensión Arterial Sistémica OR 1.6 (IC 95%, IC 1.1 -2.30) p 0.009. Encontramos una fuerte asociación de este polimorfismo con: enfermedad vascular cerebral isquémica, e hipertensión arterial sistémica, todas comparten en común un solo sustrato, la disfunción endotelial. Al revisar la literatura médica es extensa, la información a nivel mundial y contrasta con el panorama nacional en la cual, solo encontramos algunos trabajos con enfoque cardiocéntrico, lo que ha motivado por parte nuestra, un trabajo de investigación en esta área, ante la alta incidencia, mortalidad y costos del EVC en nuestra población. La identificación y manejo temprano de los nuevos factores de riesgos mejorará la implementación de estrategias y a si reducir el alto costo del impacto económico y de la reducción de la calidad de vida en pacientes con EVC (47). Por lo que presentamos este trabajo a nuestra población Mexicana tan diversa.

XIII CONCLUSIONES

1. La presencia de la variante G894T, resultado de la conversión de glutamato a aspartato en la posición 298 (variante Glu298Asp), se relaciono con el desarrollo de enfermedad vascular cerebral tipo isquémico.
2. El genotipo TT es un factor de riesgo independiente para enfermedad vascular cerebral tipo isquémico.
3. La hipertensión arterial sistémica es el factor de riesgo independiente mas importante en nuestro estudio para el desarrollo de de enfermedad vascular cerebral tipo isquémico.
4. El antecedente de diabetes mellitus, Tabaquismos, trigliceridos, son factores de riesgo, con significancia estadística en este estudio en el desarrollo de enfermedad vascular cerebral tipo isquémico.

5. En presencia de factores aterotrombóticos específicos, el polimorfismo G894T, puede ser un factor de riesgo para enfermedad cerebrovascular tipo isquémico en nuestra población, explicando casi el 40% de los casos en nuestro estudio.
6. Debe realizarse más estudios para confirmar esta asociación de enfermedad vascular cerebral tipo isquémico con el genotipo TT en población mexicana.
7. Deberían realizarse estudios de polimorfismos G894T, en pacientes con Hipertensión Arterial Sistólica, asociada a Evento Vascular cerebral isquémico.

XIV. BIBLIOGRAFIA

1. Bravata DM, Wells CK, Lo AC, Nadeau SE, Melillo J, Chodkowski D, et al. Processes of care associated with acute stroke outcomes. *Arch Intern Med* 2010;170(9): 804-810.
2. Carandang R, Seshadri S, Beiser A, Kelly-Hayes M, Kase CS, Kannel WB, Wolf PA. Trends in incidence, lifetime risk, severity, and 30- day mortality of stroke over the past 50 years. *JAMA* 2006;296(24):2939-2946.
3. Mar J, Sainz-Ezkerra M, Moler-Cuiral JA. Calculation of prevalence estimates through differential equations: application to stroke-related disability. *Neuroepidemiology* 2008;31(1):57-66
4. Luengo-Fernández R, Leal J, Gray A, Petersen S, Rayner M. Cost of cardiovascular diseases in the United Kingdom. *Heart* 2006;92(10):1384-1389. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1861058/?tool=pubmed>
5. Cruz-Flores S, Rabinstein A, Biller J, Elkind MS, Griffith P, Gorelick PB, et al. Racial-ethnic disparities in stroke care: the American experience: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 2011;42(7):2091–2116.
6. Sarti C, Rastenyte D, Cepaitis Z, Tuomilehto J. International trends in mortality from stroke, 1968 to 1994. *Stroke* 2000;31(7):1588-1601. Disponible en <http://stroke.ahajournals.org/content/31/7/1588.long>
7. Murray CJ, López AD. Mortality by cause for eight regions of the world: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997;349(9061):1269-1276.
8. WHO. The world health report 2000. Geneva: WHO; 2000.
9. Chiquete E, Ruiz-Sandoval JL, Murillo-Bonilla LM, Arauz A, Villarreal-Careaga J, Barinagarrementería F, Cantú-Brito C, para los miembros de

- AMEVASC. Mortalidad por enfermedad vascular cerebral en México, 2000-2008: Una exhortación a la acción. *Rev Mex Neuroci* 2011; 12: 235-41.
10. Johnston SC, Mendis S, Mathers CD. Global variation in stroke burden and mortality: estimates from monitoring, surveillance, and modelling. *Lancet Neurol* 2009; 8: 345-54.
 11. Feigin VL, Lawes CM, Bennett DA, Barker-Collo SL, Parag V. Worldwide stroke incidence and early case fatality reported in 56 population-based studies: A systematic review. *Lancet Neurol* 2009; 8: 355-69.
 12. Grau AJ, Weimar Ch, Buggle F, Heinrich A, Goertler M, Neumaier S, et al. Risk factors, outcome, and treatment in subtypes of ischemic stroke. The German Stroke Data Bank. *Stroke* 2001; 32: 2559-66.
 13. Chiquete E, Ruiz-Sandoval JL, Murillo-Bonilla LM, Arauz A, Villarreal-Careaga J, Barinagarrementeria F, Cantú-Brito C, para los miembros de AMEVASC. Egresos por enfermedad vascular cerebral aguda en instituciones públicas del sector salud de México: Un análisis de 5.3 millones de hospitalizaciones en 2010. *Rev Mex Neuroci* 2012; 13(5): 252-258
 14. Wolfe CD, Tilling K, Beech R, Rudd AG. Variations in case fatality and dependency from stroke in Western and Central Europe. The European BIOMED Study of Stroke Care Group. *Stroke* 1999;30(2):350-356. Disponible en <http://stroke.ahajournals.org/content/30/2/350.long>.
 15. Della-Morte D, Guadagni F, Palmirotta R, Testa G, Caso V, Paciaroni M, et al: Genetics of ischemic stroke, stroke-related risk factors, stroke precursors and treatments. *Pharmacogenomics* 2012, 13(5):595–613.
 16. Hassan A, Markus HS: Genetics and ischaemic stroke. *Brain* 2000, 123(Pt 9):1784–1812.
 17. Brass LM, Isaacsohn JL, Merikangas KR, Robinette CD: A study of twins and stroke. *Stroke* 1992, 23(2):221–223.
 18. Amit Kumar, Ram Sagar, Pradeep Kumar, Jitendra K Sahu, Ashoo Grover, Achal K Srivastava, S Vivekanandhan and Kameshwar Prasad identification of genetic contribution to ischemic stroke by screening of single nucleotide

- polymorphisms in stroke patients by using a case control study design. *BMC Neurology* 2013, 13:136
19. Cooke JP, Dzau VJ. Nitric oxide synthase. Role in the genesis of vascular disease. *Ann Rev Med.* 1997; 48:489-509.
 20. "Nitric oxide, atherosclerosis and the clinical relevance of endothelium dysfunction". *Heart Failure Reviews*, 2003;8:71-86.
 21. Marsden PA, Heng HH, Sherer SW, Stewart RJ, Hall AV, Shi XM; Tsui LC, Schappert KT. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial endothelial nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem.* 1993;268: 17478-17488
 22. Cooke JP, Dzau VJ. Nitric oxide synthase. Role in the genesis of vascular disease. *Ann Rev Med.* 1997; 48:489-509.
 23. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 1991;43: 109.
 24. Giacobbe DJ, Murray MJ, Vascular disease and inflammation. *Anesthesiology Clin. NAM.*2004;22:183-197
 25. Furlong B, Henderson AH, Lewis MJ, Smith JA. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet aggregation.. *Br J Pharmacol.*1987; 90: 687-692
 26. Radomki MW, Palamer RM, Moncada S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet.* 1987; 2: 1057-1058.
 27. Zhihong Y, MD and Xiu-Fen Ming, MD,PhD. "Recent Advances in Understanding Endothelial Dysfunction in Atherosclerosis". *Clin Med Res;*2006;4(1):53-65
 28. Antoniades C, Tousoulis D, Vasiliadou C, Pitsavos C, Chrysochoou C, Panagiotakos D, Tentolouris C, Marinou K, Koumallos N, Stefanadis C. Genetic polymorphism on endothelial nitric oxide synthase affects endothelial activation and inflammatory response during the acute phase of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2005; 46:1101- 1109.
 29. Gardemann A, Lohre J, Cayci S. Et. Al. The Allele of the missense Glu298Asp endothelial nitric oxide synthase polymorphism is associated

- with coronary heart disease in younger individuals with atherosclerotic risk profile. *Atherosclerosis*. 2002;160:167-175
30. Jones L C, Hingorani. Genetic regulation of endothelial function. *Heart*. 2005;91:1275-77
31. Rossi GP, Taddei S, Virdis A, Cavallin M, Ghiadoni L, Favilla S, Versari D, Sudano I, Pessina AC, Salvetti A. The T786C and Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide gene affect the forearm blood flow blood flow response of Caucasian hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:938-945.
32. Kerkeni, Addad F, chauffert M, Myara A, Ben Farhat M, maaroufi K, Trivin F. Hyperhomocysteinemia, endothelial nitric oxide synthase polymorphism, and risk of coronary artery disease. *Clin Chem* 2006;52: 53-58
33. Miyamoto Y, Saito Y, Kajiyama N, Yoshimura M, Shimasaki Y, Nakayama M, Kamitani S, Harada M, Ishikawa M, Kuwahara K, Ogawa E, Hamanaka, Takahashi N, Kaneshige T, Teraoka H, Akamizu T, Azuma N, Yoshimasa T, Itoh H, Masuda I, Yasue H, Nakao K. Endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with essential hypertension. *Hypertension*. 1998; 32: 3-8
34. Rossi GP, Taddei S, Virdis A, Cavallin M, Ghiadoni L, Favilla S, Versari D, Sudano I, Pessina AC, Salvetti A. The T786C and Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide gene affect the forearm blood flow blood flow response of Caucasian hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:938-945
35. Association between -T786C NOS3 polymorphism and resistant hypertension: a prospective cohort study. Gonzalez I, Corral E, Ledesma M, et al. *BMC Cardiovascular Disorders* 2009, 9:35 doi:10.1186/1471-2261-9-35.
36. Cai H, Wilcken DEL, Wang XL. The Glu298Asp (894G-T) mutation at exon 7 of the endothelial nitric oxide synthase gene and coronary artery disease. *J Molec Med*. 1999; 77: 511-514.
37. Hingorani Ad, Lianf CF, Fatibene J. A common variant of endothelial nitric

- oxide synthase (Glu298Asp) is a major risk factor for coronary artery .
Circulation. 1999; 100: 1515-1520.
38. Shimasaki Y, Yasue H, Yoshimura M, Nakayama M, Kugiyama K, Ogawa H, Harada E, Masuda T, Koyama W, Saito Y, Miyamoto Y, Ogawa H, Nakao K. Association of the missense Glu298Asp variant of the endothelial nitric oxide synthase gene with myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:1506-1510.
 39. Suzuki T, Okumura K, Sone T, Kosokabe T, Tsuboi H, Kondo J, Maka H, Kamiya H, Tomida T, Imai H, Matsui H, Hayakawa T. The Glu298Asp polymorphism in endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary in-stent restenosis. *Int J Cardiol*. 2002; 39: 919-922.
 40. Dellamea et al.: Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of diabetic nephropathy: a systematic review and meta-analysis. *BMC Medical Genetics* 2014 15:9.
 41. Youjin Hao, Rafael Montiel, Yongsheng Huang. Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) 894 G>T polymorphism is associated with breast cancer risk: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* (2010) 124:809–813.
 42. Casas JP, Bautista LE, Humphries, et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase Genotype and Ischemic Heart Disease Meta-Analysis of 26 Studies Involving 23028 Subjects. *Circulation*. 2004;109:1359-1365.
 43. Elbaz A, Poirier O, Moulin, et al. Association Between the Glu298Asp Polymorphism in the Endothelial Constitutive Nitric Oxide Synthase Gene and Brain Infarction. *Stroke*. 2000;31:1634-1639
 44. Guldiken B, Sipahi T, Guldiken S, et al. Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene in Turkish patients with ischemic stroke. *Mol Biol Rep*; 36(6): 1539-43, 2009 Jul.
 45. Endothelial nitric oxide (eNOS) gene G894T and VNTR polymorphisms are closely associated with the risk of ischemic stroke development for Asians: meta-analysis of epidemiological studies. Xiaolong Guo. *Mol Biol Rep* (2014) 41:2571–2583.

46. RP Grewal¹, AVC Dutra¹, Yi C Liao, Et al. The intron 4c allele of the NOS3 gene is associated with ischemic stroke in African Americans. *BMC Medical Genetics* 2007, 8:76 doi:10.1186/1471-2350-8-76.

XV ANEXOS

XVII. ABREVIATURAS.

- ADN:** Acido desoxirribonucleico
- DM2:** Diabetes mellitus tipo 2
- EVC:** Evento vascular cerebral
- Fem:** Femenino
- HAS:** Hipertensión arterial sistémica
- HGR1:** Hospital general regional numero 1
- IAM:** Infarto agudo al miocardio
- IMC:** Índice de masa corporal
- IMSS:** Instituto Mexicano del Seguro Social
- LES:** Lupus Eritematoso sistémico
- Mas:** Masculino
- MS:** Metionina sintetasa
- OMS:** Organización Mundial de la salud
- PCR:** Reacción en cadena de polimerasa
- RM:** Resonancia Magnética
- TAC:** Tomografía axial computarizada
- TAD:** Presión arterial diastólica

TAS: Presión arterial sistólica

XVI CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES:

2013

2014

2015

| | OCT | NOV | DIC | ENE | FEB | MAR | ABR | MAY | JUN | JUL | AGO | SEP | OCT | NOV | DIC | ENE | FEB |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Realización proyecto | | | | X | X | X | X | | | | | | | | | | |
| Revisión asesores | | | | | | X | X | X | | | | | | | | | |
| Revisión y autorización del protocolo por el CLIS | | | | | | | | X | X | | | | | | | | |
| Trabajo de campo | | | | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | | | |
| Vaciado de datos | | | | | | | | | | | | | | X | | | |
| Análisis de datos | | | | | | | | | | | | | | X | | | |
| Interpretación de resultados | | | | | | | | | | | | | | X | | | |
| Redacción del documento | | | | | | | | | | | | | | | X | | |
| Presentación de resultados | | | | | | | | | | | | | | | | X | |

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los beneficios derivados de mi participación en el estudio, que son los siguientes:

Dado que se desconoce la relación real entre el polimorfismo y la presencia de la enfermedad el resultado de la presencia o ausencia de dicha alteración en este momento no representa un beneficio directo para el paciente.

A los familiares que así lo soliciten se entregara el resultado del polimorfismo, al finalizar este estudio. El resultado de este, ya sea negativo o positivo, no representa en este momento una justificación suficiente para modificar el tratamiento establecido en el paciente. Dado que no se cuenta con información suficiente sobre el tratamiento de esta alteración.

El Investigador Responsable se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con mi tratamiento.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto.

El Investigador Responsable me ha dado seguridad de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque esta pudiera cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo.

Colección de material biológico:

- No autorizo que se tome la muestra.
- Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.
- Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.

En caso de que el paciente presente efectos secundarios asociados a su participación en este estudio, será atendido en la unidad hospitalaria donde se lleva a cabo el mismo, proporcionándole el tratamiento necesario para la resolución de las complicaciones que se presenten.

En caso de emergencias, dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio, comunicarse con:

Investigador Responsable: Dr. Jorge Escobedo de la Peña. Matrícula 3497658. Adscrito a la Unidad de Investigación en epidemiología clínica del Hospital General No.1 "Carlos Macgregor Sánchez Navarro" del IMSS. Teléfonos: (55) 5639-4688 ó (55) 5597-8857.

Colaboradore. *Medico Residente Adcrito a Hospital General Regional No. 1"Carlos Macgregor Sánchez Navarro" IMSS. Telefono:(55) 5548114298.*

Dr. Miguel Cruz López. Matrícula 6357032. Adscrito a la unidad de Investigación en bioquímica del Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. Teléfono: (55) 5761- 2358.

Dra. Evangelina González Figueroa. Matrícula 7607636. Adscrito a la Unidad de Investigación en epidemiología clínica del Hospital General No.1 "Carlos Macgregor Sánchez Navarro" del IMSS. Teléfono: (55) 5639-4688.

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx

Nombre y firma del paciente y/o familiar responsable.

Dr. Humberto Estrada Rodriguez Matricula 98373234

Testigo 1.

Testigo 2.

Nombre, dirección, relación y firma.

Nombre, dirección, relación y firma.

2810-009-013

□ Folio:

Anexo 3. Hoja de Recolección de datos

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL GENERAL REGIONAL 1: DR CARLOS MACGREGOR SANCHEZ NAVARRO
MEDICINA INTERNA
ASOCIACIÓN DE EVENTO VASCULAR CEREBRAL ISQUÉMICO CON LA PRESENCIA DE
POLIMORFISMO G894T EN EL GEN DE LA ENZIMA SINTASA DEL OXIDO NÍTRICO
ENDOTELIAL (ENOS)
IN Hoja de recolección de datos.

| | | | |
|-------------|----------------------|----------------|----------------------|
| Caso | <input type="text"/> | Control | <input type="text"/> |
|-------------|----------------------|----------------|----------------------|

Nombre: _____ Tel: _____
Afiliación: _____
Edad: _____
Sexo: _____
Fecha: _____
IMC: _____ T/A: _____ Peso: _____ Talla: _____

| Antecedentes | | |
|--|----|----|
| Tabaquismo | Si | No |
| Diabetes Mellitus | Si | No |
| Dislipidemia | Si | No |
| Hipertensión Arterial Sistémica | Si | No |
| Cardiopatía isquémica | Si | No |

Laboratorios:

| | |
|----------------------|--------------------------------|
| Glucosa | mg/dl |
| Colesterol | mg/dl |
| Triglicéridos | mg/dl |
| Polimorfismo | Alelo G T Genotipo GG GT TT |

