



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
FACULTAD DE MEDICINA**

**ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO 4G/5G EN EL INHIBIDOR DEL
ACTIVADOR DEL PLASMINOGENO TIPO-1 (PAI-1) Y SU CORRELACIÓN
CON LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA EN PACIENTES CON SÍNDROME
METABÓLICO**

T É S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA:

ELSA ABURTO MEJÍA

TUTOR

Dra. EN C. IRMA ISORDIA SALAS

**UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN TROMBOSIS, HEMOSTASIA Y
ATEROGÉNESIS HGR NO. 1 "DR. CARLOS MAC GREGOR SÁNCHEZ NAVARRO"
IMSS**

Ciudad de México

OCTUBRE 2017



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.

El trabajo experimental de esta tesis se llevó a cabo en el Laboratorio de la Unidad de Investigación en Trombosis, Hemostasia y Aterogénesis del Hospital General Regional No.1 “Dr. Carlos Mac Gregor Sánchez Navarro” del Instituto Mexicano del Seguro Social bajo la dirección de la Dr. en C. Irma Isordia Salas.

El presente estudio fue realizado con el apoyo económico del El Fondo de Investigación en Salud IMSS: (FIS/IMSS/PROT/G14/1302); CONACyT Consolidación de Grupos de Investigación modalidad repatriación (No. 050232) y Apoyo Complementario para Investigadores Nivel 1 No. (118254), y de la Fundación IMSS, AC. A la Dra. Irma Isordia Salas.



"2013, Año de la Lealtad Institucional y Centenario del Ejército Mexicano"

Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 3609
H GRAL REGIONAL NUM 1, D.F. SUR

FECHA 28/08/2013

DRA. IRMA ISORDIA SALAS

P R E S E N T E


Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO 4G/5G EN EL INHIBIDOR DEL ACTIVADOR DEL PLASMINOGENO TIPO-1 (PAI-1) Y SU CORRELACION CON LA CONCENTRACION PLASMÁTICA EN PACIENTES CON SÍNDROME METABÓLICO

que usted sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
R-2013-3609-43

ATENTAMENTE


DR. (A). CARLOS ERNESTO CASTILLO HERRERA
Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3609

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

FIRMAS AUTORIZACION DE PROYECTO DE TESIS

TUTOR

**D. EN C. IRMA ISORDIA SALAS
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN TROMBOSIS, HEMOSTASIA Y
ATEROGÉNESIS HGR NO. 1 “DR. CARLOS MAC GREGOR SÁNCHEZ
NAVARRO” IMSS**

**DR. FABIO A. SALAMANCA GOMEZ
RESPONSABLE DE LA SEDE ACADEMICA
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI**

INDICE

Página	
Resumen	6
Abstract	7
Introducción	8
Justificación	15
Planteamiento del problema	16
Preguntas de investigación	17
Objetivos	18
Hipótesis	19
Metodología	20
• Lugar donde se realizó el estudio	
• Diseño del estudio	
• Diseño de la muestra	
• Criterios de inclusión	
• Criterios de exclusión	
• Tamaño de la muestra	
• Variables	
Aspectos éticos	26
Infraestructura	27
Análisis estadístico	28
Resultados	29
Discusión	35
Conclusiones	40
Referencias bibliográficas	41
Anexos	52

RESUMEN

Antecedentes: El síndrome metabólico (SM) incluye un conjunto de condiciones: hipertensión arterial, hiperglucemia/diabetes mellitus tipo 2, dislipidemias y obesidad. Cuando se presentan juntas incrementa el riesgo de enfermedad cardiovascular (infarto agudo al miocardio (IAM) y/o enfermedad vascular cerebral tipo isquémico). Un incremento en el inhibidor-1 activador del plasminógeno (PAI-1) y una disminución de la actividad del plasminógeno podrían ser considerados parte del SM, asociado a un incremento de riesgo cardiovascular (RCV) y anomalías fibrinolíticas. Niveles altos de PAI-1 disminuyen la fibrinólisis y promueven la aterotrombosis.⁸⁶

Objetivo: Evaluar la expresión fenotípica (niveles de antígenos PAI-1) entre los sujetos con diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y síndrome metabólico (SM) antes de las manifestaciones clínicas de aterotrombosis y su relación con el polimorfismo 4G / 5G del gen PAI-1.

Métodos: Se realizó un ensayo observacional y transversal en un hospital de la Ciudad de México de mayo de 2010 a septiembre de 2011. SM fue definido por los criterios de la Federación Internacional de Diabetes. Los niveles de PAI-1 y el polimorfismo 4G / 5G se determinaron por análisis ELISA y PCR-RFLP.

Resultados: Se inscribieron 215 sujetos con DM2 más SM, y 307 sujetos controles. Los sujetos con DM2 más SM tuvieron mayores niveles de PAI-1 que el grupo de referencia ($58,4 \pm 21$ vs $49,9 \pm 16$ ng / mL, $p = 0,026$). El modelo con componentes de SM explicó sólo el 12% de la variabilidad en los niveles de PAI-1 ($R^2 = 0,12$, $p = 0,001$), con un $\beta = 0,18$ ($p = 0,03$) para la hipertensión, $\beta = -0,16$ ($p = 0,05$) para NL HDL-c, y $\beta = 0,15$ ($p = 0,05$) para los triglicéridos NL.

Conclusión: Los sujetos con DM2 más SM tienen niveles elevados de PAI-1 antes de las manifestaciones clínicas de la enfermedad aterotrombótica. Los factores metabólicos tienen una contribución más importante que el polimorfismo 4G / 5G en la variabilidad plasmática de PAI-1.

Palabras clave: Fibrinólisis, PAI-1, diabetes mellitus tipo 2, síndrome metabólico, aterotrombosis.

ABSTRACT

Background: metabolic and genetic factors induce plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1) overexpression; higher PAI-1 levels decrease fibrinolysis and promote atherothrombosis. **Aim:** to assess PAI-1 antigen levels among subjects with type 2 diabetes mellitus (T2DM) plus Metabolic Syndrome (MetS) before clinical manifestations of atherothrombosis, and the contribution of metabolic factors and 4G/5G polymorphism of PAI-1 gene in PAI-1 plasma variability. **Methods:** we conducted an observational, cross-sectional assay in a Mexico City's hospital from May 2010 to September 2011. MetS was defined by the International Diabetes Federation criteria. PAI-1 levels and 4G/5G polymorphism were determined by ELISA and PCR-RFLP analysis. **Results:** we enrolled 215 subjects with T2DM plus MetS, and 307 controls. Subjects with T2DM plus MetS had higher PAI-1 levels than the reference group (58.4 ± 21 vs. 49.9 ± 16 ng/mL, $p=0.026$). A model with components of MetS explained only 12% of variability in PAI-1 levels ($R^2 = 0.12$, $p=0.001$), with a $\beta=0.18$ ($p=0.03$) for hypertension, $\beta=-0.16$ ($p=0.05$) for NL HDL-c, and $\beta=0.15$ ($p=0.05$) for NL triglycerides. **Conclusion:** subjects with T2DM plus MetS have elevated PAI-1 levels before clinical manifestations of atherothrombotic disease. Metabolic factors have a more important contribution than 4G/5G polymorphism in PAI-1 plasma variability. **Keywords:** fibrinolysis, PAI-1, type 2 diabetes mellitus, the Metabolic Syndrome, atherothrombosis.

INTRODUCCIÓN

El Síndrome Metabólico (SM) se caracteriza por un conjunto de factores, los cuales predisponen al individuo a desarrollar enfermedad aterosclerótica vascular ^{1,2}. El SM fue descrito por primera vez por Raven en 1988, y puede estar conformado por dos o más componentes como la hiperinsulinemia, dislipidemia, hipertensión, obesidad abdominal e intolerancia a la glucosa o diabetes tipo 2 (no insulino-dependiente)³. Los individuos con SM tienen un incremento en el riesgo de desarrollar Diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares. En 1999 la Organización Mundial de la Salud (OMS)⁴, utiliza el nombre de “Síndrome Metabólico” para formalizar el conjunto de factores como una entidad clínica. El SM afecta aproximadamente un 25% del total de la población adulta de los estados Unidos de Norteamérica, lo que representa más de 70 millones de residentes americanos⁵.

Aunque es más frecuente en el género femenino, poblaciones Africana-Americana, hindú, hispanos y del Sur de Asia. Diversos estudios han demostrado que existe una prevalencia similar entre las poblaciones a nivel mundial⁵⁻¹³. En países como Finlandia y Suecia ⁸, la presencia del SM es del 10 al 15% en mujeres y hombres. Se ha observado un incremento en el desarrollo del SM en las poblaciones hispanos, árabes, chinos y del Sur de Asia ^{14,15} en las cuales existe un cambio de vida caracterizado por una disminución en la actividad física y un incremento en la ingesta de alimentos con alto contenido calórico. En nuestro país, un estudio multicéntrico identificó que la presencia de factores de riesgo cardiovascular como el sobrepeso e hipertensión se encuentran en un 71.9% y un 26.5% respectivamente del total de la población estudiada, constituyendo dos componentes del síndrome metabólico en los Mexicanos¹⁶. En el estudio CARMELA llevado a cabo en seis países latinoamericanos se identificó que la prevalencia de hipertensión es similar entre los participantes, mientras que la hipercolesterolemia, fue el componente más frecuente entre los países participantes¹⁷.

Una de las características principales del SM es la diabetes mellitus (DM), intolerancia a la glucosa, o resistencia a la insulina. Sin embargo existen

condiciones adicionales en este síndrome, las cuales no son incluidas en la definición por la OMS como son: marcadores que caracterizan un estado de inflamación, anormalidades en la coagulación sanguínea como un incremento en el inhibidor del activador del plasminógeno tipo-1 (PAI-1), elevación de la concentración de fibrinógeno, incremento en los niveles de las lipoproteínas de baja densidad y ácido úrico ¹⁸. Los niveles de de PAI-1 correlacionan significativamente con los componentes del síndrome metabólico y con el grosor de íntima de la carótida, lo que explica en parte el incremento del riesgo cardiovascular. ³³

El Inhibidor del activador del Plasminógeno tipo-1 (PAI-1) como componente del Síndrome Metabólico.

El PAI-1 es una glicoproteína que está compuesta por 379 aa., con un peso molecular de 50 kDa ¹⁹, con actividad enzimática, el cual se une al activador del plasminógeno tisular (tPA) de una y dos cadenas, pero no reacciona con el activador del plasminógeno tipo urocinasa (uPA) de cadena sencilla. De igual manera que otras serpinas, el PAI-1 lleva a cabo su acción inhibitoria sobre el t-PA mediante la formación de un complejo reversible estequiométrico 1:1 ²⁰ (Fig. 1). El PAI-1 es eliminado de la circulación por las células hepáticas ²¹. El PAI-1 es sintetizado por diversos tipos celulares como son: las células endoteliales, plaquetas, adipocitos, placenta, hepatocitos, células del músculo liso vascular y monocitos/macrófagos ²². El PAI-1 se almacena únicamente en la plaqueta, sin embargo es secretado en forma rápida posterior a su síntesis. Se ha demostrado que exhibe un ritmo circadiano por lo que la concentración plasmática es mayor en la mañana y más baja durante la tarde o noche. PAI-1 circula en su forma activa formando un complejo con la glicoproteína vitronectina, la cual estabiliza su conformación activa e incrementa su vida media ²³.

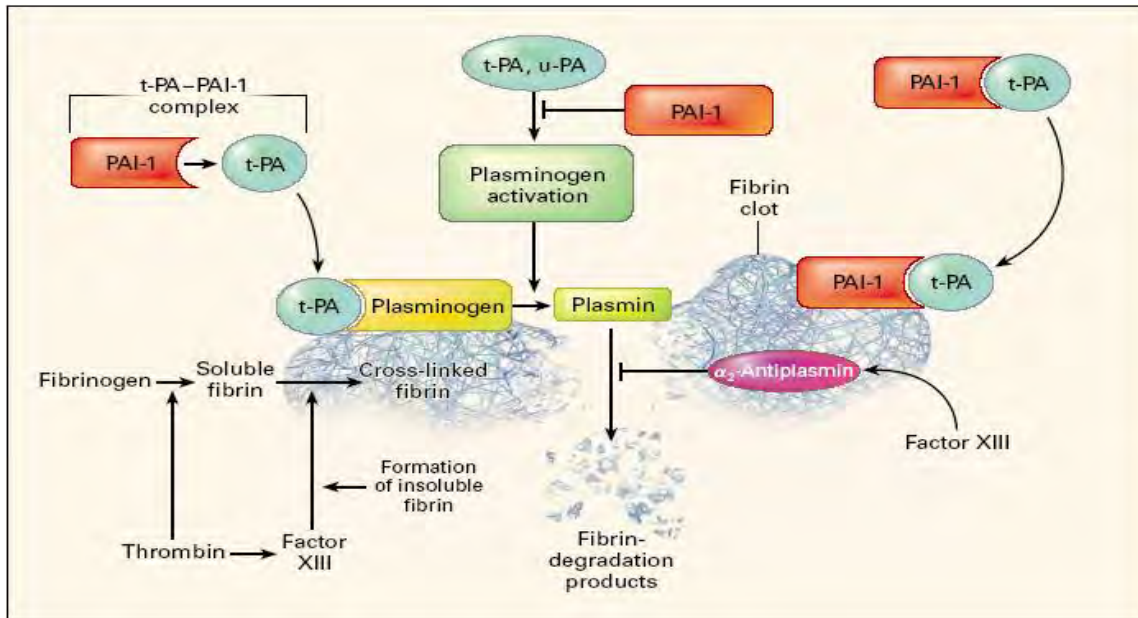


Figura 1. Esquema de la activación e inhibición del sistema fibrinolítico. Normalmente el activador del plasminógeno tisular (t-PA) circula en el plasma como un complejo con el inhibidor del activador del plasminógeno tisular (PAI-1) en forma estequiométrica 1:1. Las reacciones son llevadas a cabo sobre la superficie del coagulo de fibrina. El plasminógeno es activado por el activador tipo tisular (t-PA) o tipo urocinasa (u-PA). El complejo plasminógeno, t-PA y fibrina promueven la formación de plasmina y la subsecuente lisis de la malla de fibrina en fragmentos de bajo peso molecular denominados productos de degradación de la fibrina. El PAI-1 también se une a la fibrina logrando retener su actividad inhibitoria sobre t-PA. (Blood 1987; 69: 381-387).

La concentración plasmática de PAI-1 esta incrementada en los pacientes con enfermedad arterial coronaria ²⁴⁻²⁶, y es factor de riesgo para eventos coronarios en sujetos con angina ²⁷ y para un segundo episodio de Infarto Miocárdico en sujetos quienes lo han presentado previamente ²⁸. Las concentraciones plasmáticas de PAI-1 se correlaciona con componentes del síndrome de resistencia a la insulina como el Índice de masa Corporal (IMC) ²⁹⁻³², presión arterial ³³, triglicéridos plasmáticos e insulina ³⁴⁻³⁶. El incremento en los niveles de PAI-1 es un factor de riesgo independiente para el desarrollo de diabetes tipo 2 en sujetos sanos como se demostró en el estudio IRAS, sugiriendo que podría considerarse como un marcador de riesgo temprano para el desarrollo de SM y diabetes tipo 2. ^{34,39}

El mecanismo por medio del cual PAI-1 se asocia con el desarrollo de SM fue descrito por primera vez en 1986 por un grupo de investigadores y en la actualidad esta perfectamente establecido ³⁷⁻³⁸. En los sujetos obesos existe un incremento de PAI-1 circulante, así como en los pacientes con Diabetes tipo II. Entre más severo sea el SM mayor es la concentración de PAI-1 ³⁹. La concentración plasmática de PAI-1 disminuye cuando existe una mejoría en la respuesta a la insulina⁴⁰. Además, se ha demostrado que los medicamentos hipoglucemiantes como metformina disminuyen los niveles plasmáticos de PAI-1 en sujetos con diabetes tipo II y en sujetos obesos normales ⁴¹⁻⁴². Por lo anterior se considera que el incremento en los niveles de PAI-1 es un componente fundamental en el desarrollo del SM ⁴³⁻⁴⁴.

Posibles mecanismos que condicionan una sobreexpresión de PAI-1.

El proceso por el cual se sobre expresa PAI-1 es complejo e incluye diferentes factores inductores, los cuales están involucrados al mismo tiempo y en diferentes sitios de la síntesis de la proteína, incluyendo la pared de los vasos sanguíneos ⁴⁵⁻⁴⁶.

El incremento en la concentración de PAI-1 no está asociados a Interleucina 6 (IL-6), fibrinógeno o Proteína C reactiva (PCR), como se podría esperar debido a que se considera un reactante de fase aguda ⁴⁷⁻⁴⁸, sino que esta asociado al tejido adiposo y depósitos de grasa ectópica como sitios moduladores de la sobreexpresión de PAI-1 ⁴⁹⁻⁵⁰.

Diversos grupos de investigadores han identificado la habilidad de la célula adiposa para sintetizar PAI-1 ⁵¹⁻⁵³ en respuesta a un estímulo crónico a factor de necrosis tumoral (FNT), insulina y factor de crecimiento transformador beta (FCT)-beta ⁵⁴.

Asociación del polimorfismo 4G/5G en el gen del Inhibidor del Activador del Plasminógeno tipo-1 (PAI-1) y el Síndrome Metabólico.

Diversos estudios han identificado un polimorfismo en la región promotora del gen del PAI-1, el cual está asociado con un incremento en la concentración plasmática de PAI-1. En el humano el gen del PAI-1 se localiza en el cromosoma 7 y contiene 9 exones y 8 intrones. Se han descrito diversos polimorfismos en dicho gen. El

polimorfismo más importante se encuentra localizado en la región promotora 675 bp corriente arriba del sitio de inicio de la transcripción (4G/5G). El incremento en la transcripción genética del PAI-1 se asocia con la variante de 4 bases de guanina (el alelo 4 G), lo cual da como resultado la unión a una proteína del activador de transcripción del PAI-1, mientras que la variante de 5 bases de guanina (el alelo 5 G), se une a una proteína receptora que disminuye la unión del activador (Fig. 2). Los individuos homocigotos para el alelo 4G (genotipo 4G/4G) tienen concentraciones 25% más altas de PAI-1 que los sujetos que son homocigotos para el alelo 5G (genotipo 5G/5G).^{59, 60, 61,62}

Los estudios llevados a cabo *in vitro*, han permitido identificar diferencias en la capacidad de unión a este sitio de las proteínas reguladoras de la transcripción.

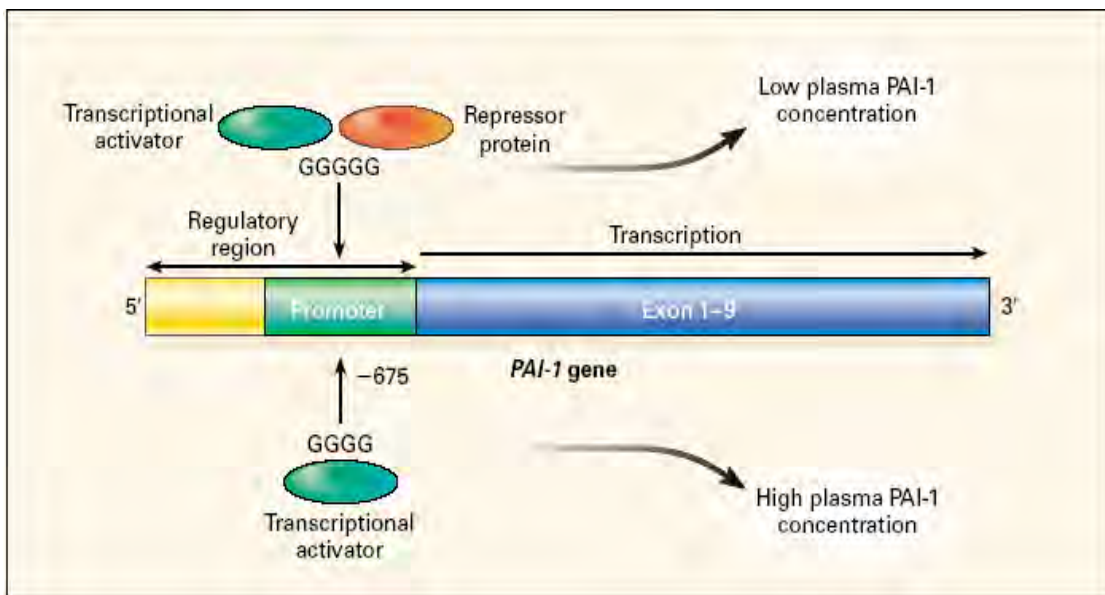


Figura 2. Estructura del gen del inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1) y el sitio de el polimorfismo 4G/5G, localizado en la región del promotor. El polimorfismo 4G/5G localizado en la posición -675 incrementa la transcripción de PAI-1 y por lo tanto la concentración plasmática de PAI-1. Lo anterior es debido a que existe una diferencia en la capacidad de unión a proteínas reguladoras. La secuencia de 4 bases de guanina (alelo 4 G) se une a una proteína facilitadora y a una represora de la transcripción, por lo que se asocia con un incremento en la concentración plasmática de PAI-1, mientras que la secuencia de cinco bases de guanina (alelo 5G) solo se une a una proteína represora por lo que la concentración plasmática de PAI-1 es menor. (Arterioscler Thromb Vasc Biol 1998; 18:20-26.)

Además, se ha demostrado que el incremento en la concentración de PAI-1 es aún mayor en presencia de hipertrigliceridemia ^{55, 56}. También se ha observado que las proteínas de muy baja densidad (VLDL) inducen un aumento en los niveles de la transcripción del promotor del PAI-1 a nivel de las células endoteliales, cuyo mecanismo se debe a la existencia de un elemento de respuesta de las VLDL denominado (VLDLRE), localizado en la región promotora del gen y su actividad se incrementa por la presencia del polimorfismo 4G/5G, debido a su localización en un sitio adyacente a la región corriente arriba del sitio de unión del factor de transcripción de inducción de las VLDL. Estos hallazgos dan una explicación molecular entre la asociación de las VLDL y el incremento en la actividad plasmática de PAI-1, así como para la interacción entre el polimorfismo 4G/5G y los niveles plasmáticos de triglicéridos ⁵⁷ (Fig.3).

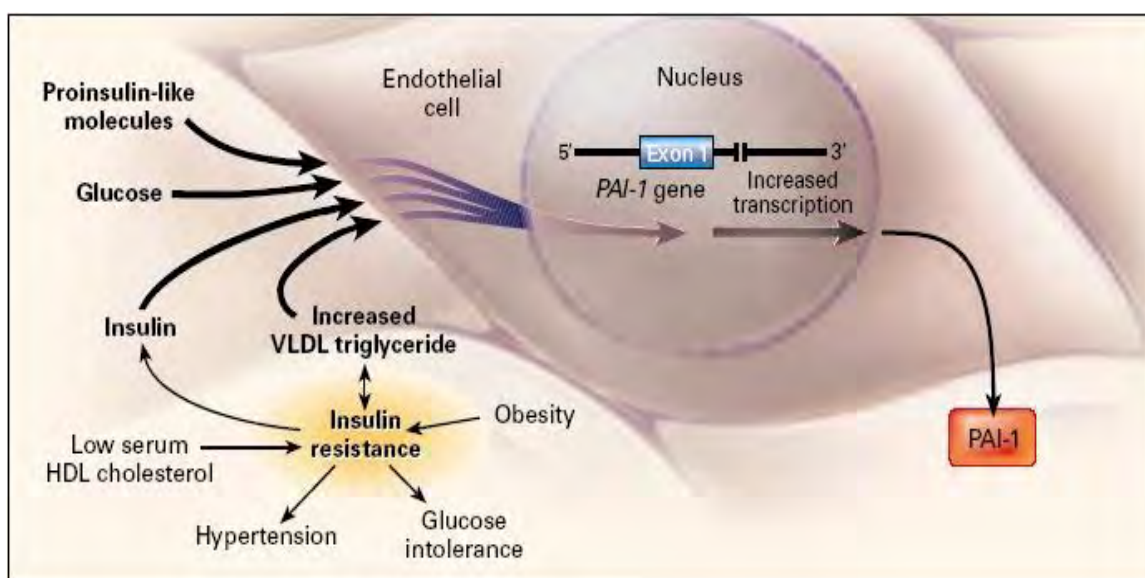


Figura 3. Relación entre la síntesis del inhibidor del plasminógeno tisular tipo1 (PAI-1) y el Síndrome Metabólico. La característica principal del dicho Síndrome es la hiperinsulinemia, anomalías en el metabolismo de la glucosa, hipertrigliceridemia, baja concentración sérica de las lipoproteínas de alta densidad (HDL), hipertensión y obesidad. La insulina, las moléculas tipo proinsulina, y las lipoproteínas de muy baja densidad, directamente estimulan la transcripción y secreción del PAI-1 por las células endoteliales. (JAMA. 2002; 283: 221-28)

Existen diversos estudios que demuestran una asociación entre la presencia del polimorfismo 4G/5G y el incremento en la concentración de PAI-1 en pacientes con SM o alguna de sus complicaciones microvasculares. Funk y cols., demostraron en una cohorte de 147 pacientes con diabetes mellitus, un incremento en el riesgo para el desarrollo de retinopatía diabética en los sujetos portadores del alelo 4G⁵⁸. Algunos medicamentos hipoglucemiantes producen una disminución en la expresión del PAI-1 en las células adiposas, protegiéndolas a la resistencia a la insulina promoviendo la diferenciación del adipocito mediante un decremento en la expresión del receptor gamma perioxosomal activado⁶³. Algunos estudios han demostrado una fuerte asociación entre la concentración plasmática de PAI-1 y el ser portador del alelo homocigotos para el alelo 4G⁶⁴.

Como se ha mencionado en condiciones fisiológicas el PAI-1 es secretado a la circulación o espacio extracelular por diferentes células, sin embargo en condiciones patológicas la secreción de PAI-1 es inducida por factores proinflamatorios y pro-oxidativos por ejemplo TNF- α , factor de crecimiento- β (TGF- β), angiotensina II, glucocorticoides, hiper insulinismo, aumento del tejido adiposo etc.

La asociación entre PAI-1 y SM se establece al encontrar relación directamente proporcional entre la severidad del SM y los niveles de PAI-1. Se han planteado diversas intervenciones para disminuir los niveles de PAI-1⁴¹ Pero existe poca información sobre los niveles de PAI-1 y el polimorfismo 4G/5G.

JUSTIFICACIÓN

EL SM afecta aproximadamente un 25% del total de la población adulta de los Estados Unidos de Norteamérica, lo que representa más cerca de 70 millones de residentes americanos. En México en forma conjunta con la diabetes representa una de las primeras causas de morbi-mortalidad.

En el servicio de urgencias el descontrol hipertensivo se sitúa en un 7% de la prevalencia total de las urgencias atendidas. En un estudio llevado a cabo en Hospital General del Centro Médico Nacional La Raza del IMSS, por el servicio de urgencias médicas; se elaboró el diagnóstico de Síndrome metabólico en un 67.2% de 110 pacientes con Diagnóstico inicial de Síndrome Coronario Agudo (SICA), de los cuales 59.4% son hombres y 40.5% son mujeres.

La evaluación del riesgo individual para enfermedad cardiovascular esta cambiando en vista de la lista creciente de factores de riesgo involucrados. En este marco, el inhibidor del activador del plasminógeno tipo -1 (PAI-1) es el principal inhibidor de la fibrinólisis.⁴²

Los niveles plasmáticos de PAI-1 tienen una base de regulación genética. La síntesis del PAI-1 esta inducida por varios factores que afectan la transcripción o la estabilidad del ARNm. Niveles elevados de PAI-1 se han encontrado en una variante polimórfica en el número de bases de guanina (4G en vez de 5G) en la posición 675, se han encontrado niveles elevados de PAI-1 en homocigotos para el alelo 4G, aún mayor en diabéticos tipo 2, enfermedad coronaria e hipertrigliceridemia.

Existen diversas variantes en los genes que codifican para dichas proteínas genotípicas que condicionan alteración de dichos elementos, los cuales no han sido estudiados en nuestra población como probables factores de riesgo para el desarrollo del SM, por lo que consideramos importante su estudio.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En estudios previos se ha demostrado que existe una disminución en la actividad del sistema fibrinolítico debido a un decremento en la concentración plasmática de PAI-1, produciendo un estado hipofibrinolítico, lo que favorece el desarrollo de un evento trombótico agudo en territorio cerebral o coronario. Debido a lo anterior se propuso lo siguiente para determinar:

- 1) Asociación entre el genotipo 4G/5G de PAI-1 y el Síndrome Metabólico.
- 2) Asociación entre el genotipo 4G/5G de PAI-1 y la concentración plasmática de PAI (Fenotipo).
- 3) Asociación entre la concentración de PAI-1 y el Síndrome Metabólico.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1. ¿Cuál es la asociación entre el polimorfismo 4G/5G de PAI-1 y el Síndrome Metabólico?
2. ¿Cuál es la asociación entre el genotipo 4G/5G de PAI-1 y la concentración plasmática de PAI-1 (expresión fenotípica)?
3. ¿Cuál es la asociación entre la concentración PAI-1 y el síndrome metabólico?

OBJETIVOS

1. Determinar la asociación del polimorfismo 4G/5G de PAI-1 y el Síndrome Metabólico.
2. Determinar la asociación entre el genotipo 4G/5G de PAI-1 y la concentración plasmática de PAI-1 (expresión fenotípica)
3. Determinar la asociación entre la concentración de PAI-1 y el síndrome metabólico?

HIPÓTESIS GENERALES

1. El polimorfismo 4G/5G de PAI-1 se asocia al desarrollo del síndrome metabólico.
2. El genotipo 4G/5G se asocia con la concentración plasmática de PAI-1 (expresión fenotípica)
3. Existe asociación entre la concentración de PAI-1 y el síndrome metabólico.

METODOLOGIA

1.- LUGAR DONDE SE REALIZÓ EL ESTUDIO.

El estudio se llevó a cabo en el servicio de Urgencias del Hospital General Regional No. 1 Carlos Mac Gregor Sánchez Navarro y en la Unidad de Investigación Médica en Trombosis Hemostasia y Aterogénesis del H.G.R. No 1 Dr. Carlos Mac Gregor Sánchez Navarro.

2.- DISEÑO DE LA INVESTIGACION

Observacional, transversal

3.- DISEÑO DE LA MUESTRA

3.1 UNIVERSO DE TRABAJO

A) CASOS

Pacientes con diagnóstico de Síndrome Metabólico ingresados al servicio de urgencias del Hospital Carlos Mac Gregor Sánchez Navarro del IMSS en el periodo comprendido de agosto a noviembre del 2013.

B) CONTROLES

Individuos aparentemente sanos que acudan al Banco de Sangre del hospital Dr. Carlos Mac Gregor Sánchez Navarro del IMSS.

3.2. GRUPOS DE ESTUDIO:

A) Casos:

Pacientes con diagnóstico de síndrome Metabólico. (Anexo 4)

B) Controles:

Sujetos sanos sin diagnóstico de síndrome Metabólico.

3.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Casos:

- 1.- Pacientes de cualquier género.
- 2.- Mayores de 18 años y menores de 60 años.
- 3.- Diagnóstico de síndrome metabólico.

Controles:

1. Pacientes de cualquier género
2. Mayores de 18 años y menores de 60 años

3.4 CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN

1. Que no aceptaron participar en el estudio
2. Antecedentes de enfermedades trombóticas previas.
3. Que ingieren medicamentos que modifiquen los factores que modificadores de la expresión de los PAI-1 (anexo 5)

3.5 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Pacientes a los que no fue posible tomarles la muestra de sangre.
2. Pacientes que habiendo aceptado participar en el estudio no se presentaron a la toma de la muestra.

VARIABLES

INDEPENDIENTE

Presencia del polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno tipo-1.

Definición conceptual: Polimorfismo. El termino Polimorfismo genético, se refiere a la presencia de múltiples alelos en un determinado locus en una frecuencia de 1% en una población determinada.

Tipo de variable: Cualitativa

Escala de medición: Nominal/ dicotómica

Unidad de medición: Presente/ausente

DEPENDIENTE

Presencia de Síndrome Metabólico

Definición conceptual:

Se diagnosticaron con Síndrome Metabólico los sujetos que cumplieron 2 o más de los 5 siguientes criterios. (anexo 5)

CRITERIOS ACORDE A LA NCRP ATP III PARA EL DIAGNÓSTICO DE SINDROME METABOLICO

1. Perímetro abdominal (medida de la cintura) en hombres (>102 cm) y mujeres (>88 cm).
2. Concentración de triglicéridos (≥ 150 mg/dL)
3. Lipoproteínas de alta densidad (hombre<40 mg/dL y mujeres <50mg/dL)
4. Presión arterial ($\geq 130/85$ mmHg)
5. Nivel de glucosa en ayunas (≥ 110 mg/dL)

NCEP ATP III = National Cholesterol Education Programme's Adult Treatment Panel III. JAMA. 2001; 285: 2486-97

Tipo de variable: Cualitativa

Escala de medición: Nominal/ dicotómica

Unidad de medición: Presente/ausente

METODOLOGIA

Se realizó un ensayo observacional, transversal en un Hospital de atención secundaria en la Ciudad de México desde mayo 2010 a septiembre de 2011. Se realizaron pruebas consecutivas a sujetos aparentemente sanos, personal médico, familiares de pacientes ambulatorios que acudieron a consultas médicas, y los que fueron a seguimiento de rutina de la diabetes mellitus. El reclutamiento fue hecho por invitación a través de anuncios impresos e invitación personal a las personas para participar, todos aquellos interesados en conocer su estado de tolerancia a la glucosa y factores de riesgo cardiovascular. Se incluyeron todos los individuos ≥ 18 -60 años de edad que aceptaron participar. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los sujetos antes de su inclusión. Criterios de exclusión: Sujetos con diagnóstico establecido de enfermedad aterotrombótica (es decir, infarto al miocardio, angina, accidente cerebrovascular, ataque isquémico transitorio y enfermedad arterial periférica), cáncer, trastornos autoinmunes, enfermedades infecciosas agudas y crónicas y enfermedades hepáticas o renal, los que reciben tratamiento inmunosupresor y receptores de trasplantes.

Los datos demográficos y clínicos se recopilaron usando un cuestionario en una entrevista privada realizada por un médico; la información contenida en la encuesta incluyó edad, género, antecedente de tabaquismo, enfermedades previas, historia familiar de diabetes mellitus y enfermedades cardiovasculares. Los parámetros antropométricos fueron tomados a todos los participantes por el mismo médico. Circunferencia de cintura (CC) se midió en el punto medio entre la última costilla y la cresta ilíaca con los sujetos de pie y usando sólo ropa interior. El peso corporal se midió con báscula de precisión en ropa interior y sin zapatos. La altura se midió en posición de pie sin zapatos utilizando cinta métrica, mientras que los hombros estaban en un estado normal. El índice de masa corporal (IMC) se calculó como el peso en kilogramos dividido por la altura en metros al cuadrado. La presión arterial fue medida después de un descanso de 5 minutos en posición sentada se tomaron dos lecturas en intervalos de 5 minutos, la media entre las dos de fue considerada como la presión sanguínea. Se obtuvieron muestras de sangre de los participantes por punción de la vena antecubital por la mañana (Entre las 8:00 y las 10:00)

después de un ayuno nocturno de al menos 8 horas. Las mediciones bioquímicas incluyeron glucosa plasmática de ayuno (FPG), hemoglobina glicosilada (HbA1c), colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) y triglicéridos. La capa leucocitaria y plasma fueron congelados a -70°C para el posterior análisis bioquímico y genético. PAI - 1 y el polimorfismo 4G / 5G del gen PAI-1 se determinaron en todos los sujetos con DM2 más síndrome metabólico de acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes (IDF) y el grupo de referencia.

La DM2 se definió como FPG ≥ 126 mg / dL o HbA1c $\geq 6.5\%$ o diagnóstico previo [79]. El síndrome metabólico se definió como obesidad central (una circunferencia de cintura ≥ 90 cm para los hombres y ≥ 80 cm para las mujeres de acuerdo con los criterios IDF para la población hispana) más cualquiera de los siguientes factores: (1) triglicéridos elevados ≥ 150 mg / dL o tratamiento farmacológico; (2) reducción de HDL-c < 40 mg / dl en los hombres y < 50 mg / dl en mujeres o bajo tratamiento farmacológico específico; y (3) una presión arterial sistólica ≥ 130 mm Hg o presión arterial diastólica ≥ 85 mmHg o uso de tratamiento antihipertensivo. Los sujetos eran considerados fumadores si fumaban (regularmente u ocasionalmente, incluyendo también ex fumadores definidos como personas que dejaron de fumar en menos un año antes del examen). Una historia familiar con enfermedad cardiovascular se definió como infarto agudo al miocardio, accidente cerebrovascular, muerte súbita en hombre familiar de primer grado menor de 55 años o mujer menor de 65 años, Sujetos sin DM2 ni Síndrome metabólico fueron considerados como grupo control o de referencia.

Determinación de los niveles plasmáticos del antígeno PAI-1. PAI-1. Las concentraciones plasmáticas se determinaron a partir de muestras de sangre entre las 8:00 y las 10:00 am para evitar variaciones debidas al ritmo circadiano se almacenaron en tubos con citrato como anticoagulante. Las muestras se centrifugaron a 3000g por 25 min a las 4°C para evitar la contaminación del plasma con plaquetas. A continuación, se almacenaron en alícuotas de 0.5 ml a -70°C hasta su análisis. La concentración plasmática de PAI-1 se determinó por inmuno ensayo (ELISA) (Coaliza PAI - 1, Chromogenix, Milán, Italia).

Extracción de ácido desoxirribonucleico y genotipado. Se obtuvo ácido desoxirribonucleico genómico (ADN) del concentrado leucocitario de sangre periférica utilizando Comercial QIAamp ADN Mini Kit de Sangre (QIAGEN, Hilden, Alemania) de acuerdo con las instrucciones. Genotipificación del polimorfismo 4G / 5G en la región promotora de PAI - 1 se realizó mediante reacción en cadena polimerasa (PCR) usando los siguientes oligonucleótidos-: 5'-CACAGAGAGAGTCTGGCCACGT-3' (Sentido) y 5' -CCAACAGAGGACTCTTGGTCT-3' (Antisentido) [17]. Las condiciones de reacción fueron las siguientes: Desnaturalización inicial a 94°C 3 min seguido por 30 ciclos de desnaturalización a 94°C 30 s, alineación a 60°C durante 30 s, y una extensión paso a 72°C durante 30 s, seguido de un paso de extensión lineal final a las 72°C durante 1 min. Se obtuvieron los productos de amplificación de 99 pb (5G) y 98 pb (4G). Los productos de PCR fueron sometidos a la digestión con la enzima de restricción específica *BsII* (New Inglaterra Biolabs, Beverly, Massachusetts, EE.UU.) a los 55°C. Los fragmentos de ADN se separaron por electroforesis en el 3% de gel de agarosa (Bio - Rad Laboratories, Hercules, California, USA) y visualizado usando SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen). Todas las muestras se procesaron por duplicado. Algunas de las muestras fueron sujetas a secuenciación.

ASPECTOS ÉTICOS

A todos los pacientes se les entregó hoja de consentimiento informado de acuerdo a la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, sobre los Principios Éticos para la Investigación Médica que involucra sujetos humanos, adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki Finlandia 1964, modificada en Tokio, Japón 1975.

Los datos personales y los resultados obtenidos de todos los participantes son estrictamente confidenciales. Solo se conocieron por el investigador.

Se hizo invitación a participar en el protocolo a cada uno de los sujetos incluidos. Se explicó a cada uno de ellos en forma detallada el procedimiento y que no afectaría o modificará su tratamiento en caso de no aceptar su inclusión.

Se les entregó para su lectura y firma en caso de haber aceptado la carta de consentimiento informado.

El Protocolo del fue revisado y aprobado por el Comité de Ética y Consejo de Investigación Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS)

INFRAESTRUCTURA FISICA Y HUMANA DISPONIBLES

La Unidad de Investigación Médica en Trombosis, Hemostasia y Aterogénesis (UIMTHA), está situada en el sótano del Hospital General Regional Gabriel Mancera (HGR GM), del Instituto Mexicano del Seguro Social cuenta con la infraestructura requerida para llevar a cabo la genotipificación del polimorfismo PAI-1, así como la determinación de la concentración plasmática de dicha proteína.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Análisis estadístico. Las variables continuas con distribución normal se expresaron como media \pm desviación estándar. Aquellas con distribución no paramétrica se expresaron como mediana y rango intercuartil. Los datos categóricos fueron expresados como número total y porcentaje. Datos continuos fueron sometidos a pruebas de normalidad; Variables no normalmente distribuidas se transformaron a logaritmo natural (NL) antes de cualquier análisis estadístico. Las variables continuas fueron comparadas entre los sujetos con DM2 más síndrome metabólico y el grupo de referencia por el *t*-de student. Las variables categóricas se compararon entre ambos grupos por la prueba de X^2 . La frecuencia de los alelos del polimorfismo 4G / 5G De acuerdo con las proporciones de equilibrio de Hardy-Weinberg usando la prueba X^2 . Los niveles plasmáticos de antígeno PAI-1 fueron comparados entre homocigóticos 4G / 4G homocigoto, 5G / 5G y heterocigotos 4G / 5G en sujetos diabéticos más síndrome metabólico y el grupo de referencia utilizando análisis unidireccional de varianza (ANOVA). Un análisis de correlación de Pearson fue utilizado para evaluar la asociación entre variables continuas (tales como edad, perímetro de cintura, HDL-c, triglicéridos, y FPG) y los niveles plasmáticos de PAI-1. Un análisis de correlación de Spearman se realizó para evaluar la relación entre variables categóricas (como género, presión arterial, tabaquismo y genotipo) y niveles plasmáticos de PAI-1. Un análisis multivariado de regresión lineal se realizó para desarrollar un modelo que incluyó solo variables de correlación lineal en el análisis bivariado (como las variables explicativas) con los niveles de PAI-1 (como variable de respuesta) para estimar la contribución independiente de cada característica a la variación en las concentraciones plasmáticas de PAI-1. Se consideró estadísticamente significativo un valor $p \leq 0,05$ (bilateral). Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando SPSS (Paquete Estadístico para las Ciencias Sociales) software estadístico (Versión 15: SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.).

RESULTADOS

Se reclutó una muestra total de 215 sujetos con DM2 y síndrome metabólico en población urbana de la Ciudad de México entre mayo de 2010 y septiembre de 2011 y se incluyeron 307 sujetos control, las características clínicas y bioquímicas entre los dos grupos se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Comparación de las características clínicas y bioquímicas entre sujetos diabéticos con el Síndrome Metabólico y el grupo de referencia.

Características	SM n=215	Grupo de referencia n=307	Valor p
Edad (años)	56 ± 10	48.5 ± 13.7	< 0.0001
Mujeres, n (%)	138 (64.2)	206 (67.1)	0.55
GA (mg/dL)	136 [112-181]	90 [85-95]	< 0.0001
HbA1c (%)	5.4 [4.4-7.5]	3.9 [3.6-4.2]	< 0.0001
IMC (kg/m ²)	30.8 ± 5	26.5 ± 4.2	< 0.0001
PA (cm)	100 ± 9.9	87.4 ± 11.9	< 0.0001
-Hombres ≥ 90 cm, n (%)	77 (35.8)	54 (17.5)	< 0.0001
-Mujeres ≥ 80 cm, n (%)	138 (64.2)	138 (44.9)	< 0.0001
HDL-c (mg/dL)	35 [30-41]	46.4 [37.2-55.4]	< 0.0001
-Hombres < 40 mg/dL, n (%)	63 (29.3)	49 (15.9)	0.001
-Mujeres < 50 mg/dL, n (%)	126 (58.6)	111 (36.1)	< 0.0001
Hipertensión, n (%)	129 (60)	40 (13)	< 0.0001
Triglicéridos (mg/dL)	205 [134-270]	118 [88-150]	< 0.0001
≥ 150 mg/dL, n (%)	152 (70)	79 (25.7)	
PAI-1 (ng/mL)	58.4 ± 21	49.9 ± 16	0.026
Fumadores activos, n (%)	50 (23)	62 (20.2)	0.46
HF de AT n (%)	41 (19)	43 (14)	0.16

Las variables continuas con distribución normal se expresan como media ± desviación estándar.

Las variables continuas con distribución no normal se expresan como mediana [intervalo intercuartílico].

Las variables categóricas se expresan como el número total y los porcentajes.

GA = glucosa plasmática en ayunas;

HbA1c = hemoglobina glicosilada; HDL-c = colesterol de lipoproteínas de alta densidad;

HF de AT = historia familiar de enfermedad aterotrombótica.

IMC = índice de masa corporal;

PA = circunferencia de la cintura;

PAI - 1 = inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1;

SM = el Síndrome Metabólico;

Los individuos con DM2 más síndrome metabólico fueron de mayor edad (con una edad media de 56 ± 10 frente a 48,5 ± 13,7 años, p ≤ <0,0001), con mayores niveles

de FPG (136 (112 - 181) frente a 90 (85 - 95) mg / dl, $p < 0,0001$), HbA1c 5.4 (4,4 - 7,5) frente a 3.9 (3,6 - 4,2)%, $p \leq < 0,0001$), IMC (30.8 ± 5 frente a $26.5 \pm 4,2$ kg / m², $p < 0,0001$), perímetro de cintura (100 ± 9.9 frente a 87.4 ± 11.9 cm, $p \leq < 0,0001$), y triglicéridos 205 (134-270) frente a 118 (88-150) mg / dL, $p < 0.0001$) y menores niveles de c-HDL 35 (30-41) frente a 46,4 (37.2-55.4) mg / dL, $p < 0,0001$), cuando se compara con el grupo de referencia como estaba previsto. El grupo de sujetos con DM2 más el síndrome metabólico tenía obesidad central más al menos uno de las siguientes condiciones: 87.9% (n = 189) tenían menores niveles de HDL- c, 70% (n = 152) tenían triglicéridos elevados y 60% (n = 129) tenían una presión arterial elevada. No hubo diferencias entre género, tabaquismo, historia familiar de enfermedad aterotrombótica entre ambos grupos. Hubo una diferencia estadísticamente significativa en los niveles plasmáticos de PAI-1 entre los sujetos con DM2 más síndrome metabólico y el grupo de referencia ($58,4 \pm 21$ versus $49,9 \pm 16$ ng / mL, $p = 0,026$) Figura 1.

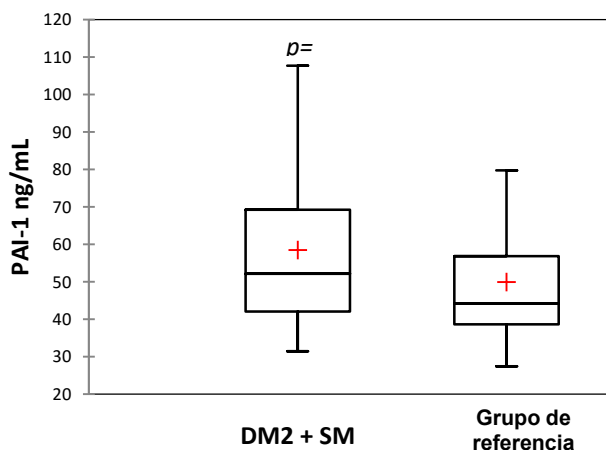


Figura 1. Se muestran los niveles de antígeno PAI-1 en plasma entre sujetos diabéticos más síndrome metabólico y el grupo de referencia. + = Media; P = valor de p; PAI - 1 = inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1; DM2 = Diabetes Mellitus tipo 2; MetS = el síndrome metabólico.

La distribución del genotipo de 4G / 5G polimorfismo de PAI-1 en el grupo con DM2 más síndrome metabólico fue 4G / 4G, 11,6% (n = 25), 4G / 5G, 48,4% (n = 104), y 5G / 5G, 40% (n = 86), con una frecuencia alélica de 35,8% (n = 154) para el alelo 4G (Tabla 2).

Tabla 2. Distribución de genotipos y frecuencias alélicas del polimorfismo -675 4G / 5G del gen PAI-1 en sujetos diabéticos con síndrome metabólico y el grupo de referencia.

	SM n=215	Grupo de referencia n=307	Valor <i>p</i> *
Genotipo, n (%)			
4G/4G + 4G/5G	129 (60)	185 (60.3)	1.0
5G/5G	86 (40)	122 (39.7)	
4G/4G	25 (11.6)	26 (8.5)	0.30
4G/5G	104 (48.4)	159 (51.8)	
Frecuencia de Alelos, n (%)			0.67
4G	154 (35.8)	211 (34.4)	
5G	276 (64.2)	403 (65.6)	

Las variables categóricas se expresan como el número total y los porcentajes. PAI - 1 = inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1; SM = el Síndrome Metabólico; * = Prueba X².

No hubo diferencias estadísticas en la distribución del genotipo y la frecuencia alélica cuando se comparó con el grupo de referencia. Sujetos con DM2 más síndrome metabólico homocigótico para el alelo 4G / 4G presentó los niveles plasmáticos más elevados de PAI-1 (56.7 (48.5- 73.7) ng / ml), seguido por el alelo heterocigótico 4G / 5G (52.7 (43.9-70.2) ng / mL), con la concentración más baja para el alelo homocigoto 5G / 5G (50.1 (39.1-63.3) ng / mL), pero sin diferencias estadísticas significativas entre los tres genotipos por la prueba ANOVA (4G/4G frente 5G/5G, $p = 0.58$; 4G/5G frente 5G/5G, $p = 0.39$; 4G/4G frente 4G/5G, $p = 0.98$) (figura 2 (a)). El grupo de referencia mostro niveles plasmáticos de PAI-1 similares en los tres genotipos; homocigóticos 4G/4G tuvo una media de 44.2 (43-45.4) ng/m, heterocigóticos 4G/5G tuvo una media d 44.4 (40.7- 58.1) ng/ml y el 5G/5G tuvo una media de 43.2 (36.5-57.7) ng/ml, sin significancia estadística (4G/4G frente 5G/5G, $p = 0.60$; 4G/5G frente 5G/5G, $p = 0.88$; 4G/4G frente 4G/5G, $p = 0.64$) (Figura 2(b)).

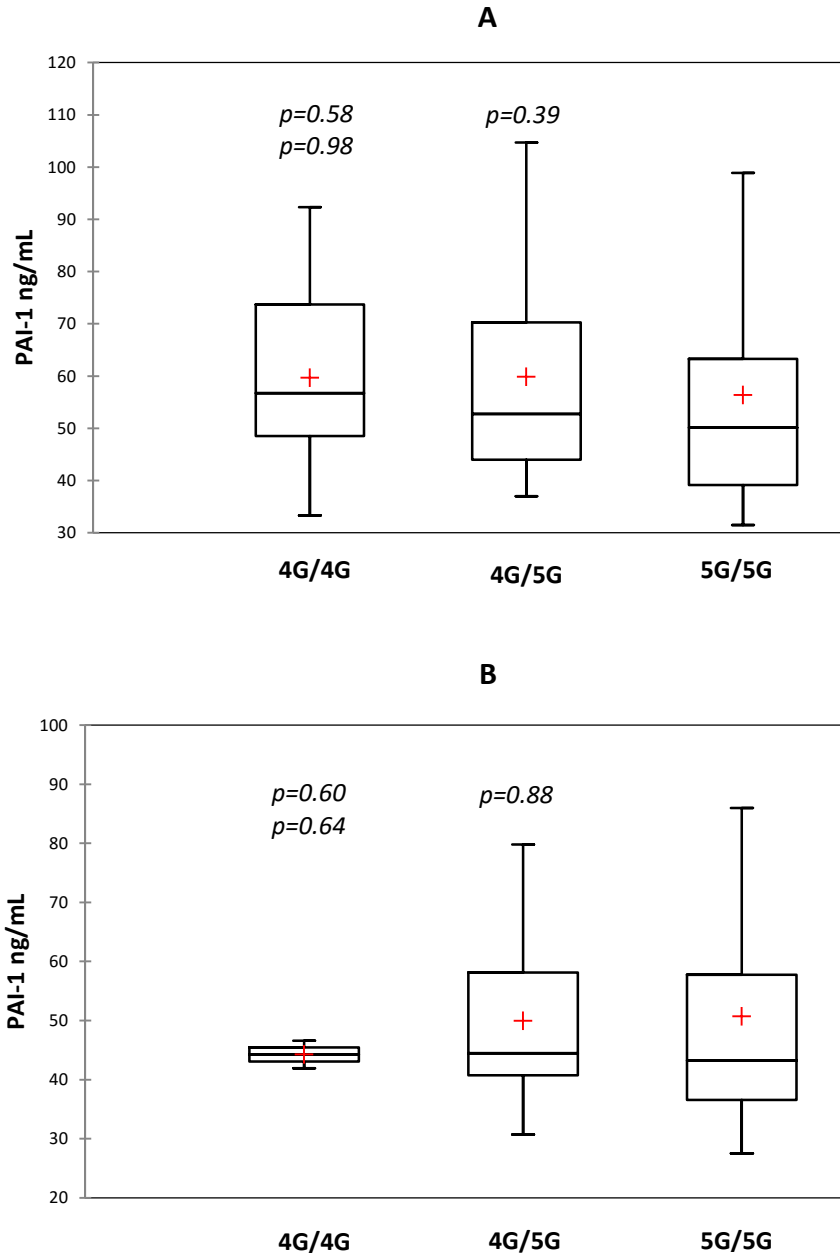


Figura 2. En el diagrama se muestran niveles plasmáticos de antígeno PAI-1 entre sujetos con DM2 más síndrome metabólico (A) y el grupo de referencia (B), de acuerdo con la distribución del genotipo del polimorfismo -675 4G / 5G del gen PAI-1. A = 4G / 4G frente a 5G / 5G, $p = 0,58$; 4G / 4G frente a 4G / 5G, $p = 0,98$; 4G / 5G frente a 5G / 5G, $p = 0,39$ B = 4G / 4G frente a 5G / 5G, $p = 0,60$; 4G / 4G frente a 4G / 5G, $p = 0,64$; 4G / 5G frente a 5G / 5G, $p = 0,88$

+ = Media; P = valor de p; PAI-1 = inhibidor del activador del plasminógeno tipo1.

El coeficiente de correlación entre los niveles plasmáticos de PAI-1 factores metabólicos en sujetos con DM2 más síndrome metabólico se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Correlación de las concentraciones plasmáticas del antígeno PAI-1 con factores metabólicos en sujetos diabéticos conl síndrome metabólico

Total = 215 subjects					
	PA	L HDL-c	LN Tg	GA	Hipertensión
PAI-1	0.15	-0.21	0.24	0.01	0.22

Las células muestran coeficientes de correlación (significativo en negrita $p \leq 0.05$).

FPG = glucosa plasmática en ayunas.

LN Tg = logaritmo natural de triglicéridos;

NL HDL-c = logaritmo natural del colesterol de lipoproteínas de alta densidad;

PA = circunferencia de la cintura;

PAI - 1 = inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1;

Concentraciones plasmáticas de PAI-1 fueron asociados positivamente con niveles elevados de logaritmo natural de triglicéridos ($r = 0.24$); $p = 0.01$). En contraste, existe una relación negativa entre los niveles plasmáticos de PAI-1 y el logaritmo natural de HDL-c ($r = -0.21$; $p = 0.01$). El resto de las variables no tienen una correlación lineal: obesidad abdominal con perímetro abdominal ($r = 0.15$); $p = 0.08$), Glucosa de ayuno ($r = 0.01$; $p = 0.88$), edad ($r = -0.05$; $p = 0.53$), genero ($r = 0.27$; $p = 0.53$), tabaquismo ($r = 0.07$; $p = 0.42$), y polimorfismo 4G/5G ($r = 0.06$; $p = 0.45$). La variabilidad en los niveles plasmáticos de PAI-1 explicada por los componentes del síndrome metabólico se muestra en la tabla 4. El modelo incluyó NL HDL-c, NL triglicéridos, e hipertensión; Este modelo sólo explicó el 12% de la varianza en los niveles plasmáticos de PAI-1 ($R^2 = 0.12$; $p = 0.001$). Componentes del síndrome metabólico fueron mucho más determinantes en la variabilidad de PAI-1 que el polimorfismo 4G / 5G, con un coeficiente de correlación estandarizado (β) estadísticamente significativo para hipertensión $\beta = 0,18$ (0.35 a 0.012), $p = 0.03$; $\beta = -0.16$ (-0.33 a -0.1 para NL HDL-c), $p = 0.05$; y $\beta = 0.15$ (0.01a 0.33), $p = 0,05$, para los NL triglicéridos.

Tabla 4. Variabilidad en niveles plasmáticos de antígeno PAI-1 explicados por los componentes del Síndrome Metabólico

Variable explicativa	β (95% CI)	Valor <i>p</i>
Hipertensión	0.18 (0.35 to 0.012)	0.03
LN Trigliceridos	0.15 (0.01 to 0.33)	0.05
LN HDL-c	-0.16 (-0.33 to -0.01)	0.05
$R^2 = 0.12$, F-statistic = 0.001		

Las variables explicativas se enumeran verticalmente;

β = coeficiente de correlación estandarizado (intervalo de confianza del 95%).

LN HDL-c = logaritmo natural del colesterol de lipoproteínas de alta densidad.

LN Triglicéridos = logaritmo natural de los triglicéridos.

R^2 = coeficiente de determinación representa el porcentaje de varianza explicado por las variables explicativas del modelo.

DISCUSION.

Se analizaron 215 sujetos con DM2 más síndrome metabólico de acuerdo a los criterios IDF sin manifestaciones clínicas de enfermedad aterotrombótica atendidos en hospitales de segundo nivel de atención en la Ciudad de México y se compararon con el grupo control (n=307). El total de la muestra de sujetos con DM2 más síndrome metabólico tenía elevado la circunferencia abdominal de acuerdo a los parámetros de la población más alguno de los siguientes factores: HDL-c bajo (87.9%), hipertrigliceridemia (70%) e hipertensión (60%). Resultados similares fueron reportados de una sub-muestra representativa nacional seleccionada al azar en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de 2006 (ENSANUT 2006), con una prevalencia de 49.8% (IC del 95%, 47.5 a 52.1) casos con el Síndrome Metabólico usando la definición de IDF, independientemente de la región geográfica y la situación socioeconómica, predominantemente las mujeres (52,7%) [71]. La frecuencia de los factores metabólicos reportados por el estudio ENSANUT 2006 en una submuestra de sujetos con DM2 más el síndrome metabólico fueron: 83% (95% IC, 76.5 a 88) para HDL-c reducido, seguido del 65% (95% % IC, 56,5 a 72,6) para la hipertensión, y 46,7% (IC del 95%, 38,8 a 54,7) para los triglicéridos elevados [71].

En el presente estudio, el grupo de sujetos con DM2 más Síndrome Metabólico mostró mayores niveles de PAI-1 ($58,4 \pm 21$ ng / mL) en comparación con el grupo de referencia ($49,9 \pm 16$ ng / mL) con una diferencia con significancia estadística ($p = 0,026$). Los pacientes con DM2 más el síndrome metabólico tenían niveles de antígeno PAI-1 por encima del corte considerado normal (Valor de referencia: 2 a 47 ng / ml) incluso cuando algunos de ellos estaban bajo tratamiento farmacológico y mostraron FPG y niveles de HbA1c bajo rangos considerados adecuados. La frecuencia de factores metabólicos y las concentraciones plasmáticas de PAI-1 varían entre las poblaciones.

PAI-1 fue dramáticamente mayor en sujetos caucásicos italianos con obesidad y síndrome metabólico por el Tercer Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol en Adultos Definición del Panel de Tratamiento (NCEP ATP-III) que se comparó con sujetos sanos sin obesidad ($p < 0,0001$) [18].

Un informe previo de la población europea basada en la muestra mostro una asociación positiva e independiente entre los niveles de antígeno PAI-1 y la presencia de síndrome metabólico según los criterios del NCEP ATP-III, reportan una media de 126 (81,4-194,2) ng / mL para aquellos sujetos con síndrome metabólico versus 57,3 (35,5-99,7) ng / mL sujetos sin síndrome metabólico ($p < 0,001$) [84]. Por otro lado, los datos de la encuesta de población transversal española reportan niveles más altos de PAI-1 en presencia de síndrome metabólico o diabetes mellitus en el análisis bivariado, pero sin significación estadística en el análisis multivariado [85]. En una muestra de sujetos malasio, no hubo diferencia en los niveles de antígeno PAI-1 cuando los sujetos diabéticos con el Síndrome Metabólico se compararon con los individuos con una mediana de 28,4 (26,5-30,5) ng / mL versus 30,2 (27,1 - 33,7) ng / mL, respectivamente [86]. La variabilidad de los niveles de antígenos PAI-1 entre poblaciones de sujetos con síndrome metabólico puede estar relacionado con diferencias en los criterios de selección para el síndrome metabólico (1), la prevalencia de componentes del síndrome metabólico en la población (2), el tamaño de la muestra (3), y la falta de análisis para el efecto de la terapia farmacológica en pacientes con dislipidemia, Hipertensión y DM2 (4). Los efectos pleiotrópicos de las estatinas en la reducción de eventos cardiovasculares más allá de la reducción del colesterol en la sangre incluyen una propiedad antitrombótica de la mayoría de las estatinas, excepto la pravastatina, que regula la expresión de PAI-1 a través de la inhibición de las proteínas de la familia Rho [87]. Además, los ensayos clínicos sugieren que los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) pueden modificar favorablemente los marcadores de hemostasia tales como como PAI-1, aunque los datos reportados por diferentes autores todavía no están claros [88]. Hay evidencia que algunas moléculas como la Angiotensina II pueden actuar como una potente molécula fibrogénica independiente de sus efectos sobre la presión sanguínea estimulando la síntesis de la matriz extracelular mediante la inducción del factor de crecimiento transformante β (TGF- β) la expresión y aumento de la transcripción de genes PAI-1 [89]. En contraste, hay algunos medicamentos como la pioglitazona, que no sólo mejoran la sensibilidad a la insulina, sino también puede retardar la

aterogénesis preclínica en pacientes con DM2, al menos en parte por una reducción en la expresión PAI-1 [90]. A pesar de que en nuestra muestra algunos individuos estaban bajo tratamiento con fármacos antihipertensivos, medicación hipoglucémica o estatinas, presentaron niveles anormales de PAI-1 en comparación con el grupo de referencia, lo que puede contribuir a un aumento del riesgo de enfermedad aterotrombótica. Se necesitan más estudios sobre los efectos farmacológicos en los niveles de PAI-1.

Después de la inclusión de todas las variables explicativas correlacionadas con los niveles de antígeno PAI-1 en un modelo de regresión lineal multivariable, encontramos que los factores metabólicos de mayor contribución en la variabilidad de los niveles de antígeno PAI-1 en pacientes con DM2 más síndrome metabólico fueron Hipertensión ($\beta = 0,18$; $p = 0,03$), NL HDL-c ($\beta = -0,16$; $p = 0,05$), y triglicéridos de NL ($\beta = 0,15$; $p = 0,05$). Niveles plasmáticos elevados de prorenina se encuentran comúnmente en pacientes diabéticos; y, además, se ha demostrado que la prorenina a alta concentración se une y activa el receptor prorenina / renina [(p) RR] en células de músculo liso vascular in vitro, dando lugar a una mayor expresión de PAI-1 a través de la angiotensina II por mecanismos independientes y dependientes, lo que sugiere que los niveles elevados de prorenina en la diabetes pueden contribuir a la progresión de la enfermedad aterotrombótica [91]. La hipertensión podría tener un papel predominante en la formación de la placa de ateroma en lugar de ruptura. En un informe anterior de nuestro grupo, la hipertensión representaba el segundo factor de riesgo en pacientes con infarto agudo de miocardio [76]. Además, el tratamiento de la hipertensión sólo reduce el riesgo de cardiopatía coronaria (CHD) en un 25%; el tratamiento de la hipercolesterolemia en pacientes hipertensos reduce el riesgo de cardiopatía coronaria más del 35%, sugiriendo una relación y un efecto sinérgico entre la dislipidemia y la hipertensión [92]. Ambos factores metabólicos, hipertensión y dislipidemia, representan un rasgo importante para el desarrollo de la aterotrombosis y podría contribuir a un mayor riesgo cardiovascular por mecanismos que incluyen un estado hipofibrinolítico. PAI-1 podría ser un nuevo marcador para la evaluación del riesgo cardiovascular para pacientes con hipertensión. Los niveles

de antígeno PAI-1 deben ser monitoreados en pacientes hipertensos, y el tratamiento debe ser enfocado para prevenir un estado hipofibrinolítico.

En sujetos con DM2 y síndrome metabólico, la distribución del genotipo fue del 11,6%, 48,4% y 40% para los alelos 4G / 4G, 4G / 5G y 5G / 5G, respectivamente, con una frecuencia alélica del 35,8% para el alelo de riesgo 4G, con una diferencia estadística con el grupo de referencia. Esos resultados son consistentes con un informe previo en sujetos sanos del oeste de México (con una frecuencia alélica del 34,1% para el alelo 4G), entre un grupo control de individuos jóvenes (≤ 45 años) en una publicación anterior de nuestro grupo (con una frecuencia alélica de 28,4% para el alelo 4G), y en niños mexicanos con obesidad y sin ella (frecuencia alélica 4G alélica del 32,9% versus 26,4%) [93,94]. En contraste se han reportado variaciones en la prevalencia del alelo 4G. El estudio Aterosclerosis Resistencia a la Insulina (IRAS) mostro una distribución diferente del genotipo de del polimorfismo 4G / 5G del gen PAI-1 entre los estadounidenses (28%), hispanos (38%) y blancos no hispanos (52%) para el alelo de riesgo [78]. En una muestra de tres diferentes grupos étnicos Sudafricanos, la frecuencia del alelo 4G fue menor en individuos africanos (0,13) que en el indio (0,54) o blanco (0,58) [93]. En nuestra muestra, sujetos homocigotos con DM2 más síndrome metabólico con el alelo 4G tenían niveles más altos de antígeno PAI-1 en comparación con Homocigoto 5G sin significación estadística (56,7 (48,5-73,7) frente a 50,1 (39,1 - 63,3) ng / ml, $p = 0,58$). En varios estudios epidemiológicos, clínicos y básicos, el alelo 4G ha sido asociado con el aumento de los niveles plasmáticos de PAI-1 y los efectos de los factores relacionados con el Síndrome Metabólico [78,95,96]. Sin embargo, la contribución del polimorfismo 4G / 5G en PAI-1 la variabilidad parece ser menor. En una muestra de 1328 participantes blancos no relacionados del Estudio Framingham Heart, el polimorfismo 4G / 5G explicó sólo el 2,5% de la varianza residual de los niveles circulantes de PAI-1, con el alelo 4G asociados con una mayor concentración de PAI-1 [97].

En una cohorte de 1032 sujetos blancos sin evidencia clínica de aterosclerosis del sur de Italia, la contribución del polimorfismo 4G / 5G fue pequeño ($\approx 1\%$) en comparación con el IMC y los triglicéridos (20%) en la variabilidad PAI-1[98]. Una

muestra De 510 varones sobrevivientes de infarto de miocardio y 543 controles en el estudio HIFMECH reportó un porcentaje de varianza explicada por el polimorfismo 4G / 5G de 1,12% ($p = 0,004$) [99]. En nuestra muestra, el genotipo 4G / 4G no correlaciona con los niveles plasmáticos de PAI-1, por lo que no fue incluido en el modelo. Diferencias en el trasfondo genético y la prevalencia de rasgos metabólicos entre las poblaciones son determinantes en la variabilidad de la expresión de PAI-1 y desarrollo de enfermedades cardiovasculares, limitando los resultados un grupo étnico específico.

El presente estudio exhibe un estado hipofibrinolítico en un grupo selectivo de individuos con determinados antecedentes genéticos, con altos niveles de antígeno PAI-1 antes de las manifestaciones clínicas de la enfermedad aterotrombótica. En una publicación anterior, hemos identificado niveles de proteína C reactiva y fibrinógeno en individuos con DM2 cuando se compara con sujetos con tolerancia normal a la glucosa. Condiciones proinflamatorias, protrombóticas y un estado hipofibrinolítico podrían aumentar el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular [100].

Los puntos fuertes de nuestra investigación incluyen las similitudes entre nuestra muestra y la muestra poblacional de la ENSANUT 2006, así como la matrícula de los sujetos con similar gravedad del síndrome metabólico. Algunas limitaciones incluyen la falta de análisis del efecto del tratamiento con estatinas, inhibidores de la ECA, bloqueadores de los receptores de la angiotensina, y los fármacos sensibilizadores de insulina en la concentración plasmática de PAI-1. Análisis futuros deben incluir el posible efecto de la medicación sobre la variabilidad de PAI-1 y la relación de los niveles de PAI-1 en pacientes con hipertensión.

CONCLUSIONES

Los sujetos con DM2 agravada por el Síndrome Metabólico tienen niveles plasmáticos elevados de antígeno PAI-1 antes de las manifestaciones de la enfermedad aterotrombótica. En nuestra muestra,

Factores metabólicos (hipertensión, HDL-c baja e hipertrigliceridemia) tienen una contribución más importante que el polimorfismo 4G / 5G en los niveles plasmáticos de PAI-1 de sujetos con DM2 más Síndrome Metabólico. Sin embargo, Los factores metabólicos sólo explicaron 12% de la variabilidad PAI-1.

Como hemos demostrado en estudios previos, el plasma las concentraciones de PAI-1 fueron mayores en pacientes jóvenes con Infarto de miocardio y la hipertensión fue la segundo factor de riesgo cardiovascular más frecuente, Seguido de dislipidemia [12]. Hallazgos anteriores y recientes apoyan la idea que la caracterización de biomarcadores emergentes de fibrinólisis como PAI-1 debe medirse para la vigilancia de la transición a un estado saludable a través del desarrollo del síndrome metabólico a la enfermedad aterotrombótica y para fines de prevención en individuos con alto riesgo de enfermedad aterotrombótica con el fin de ayudarnos a identificar para los tratamientos de orientación correctos y evitar futuras complicaciones aterotrombóticas, como el miocardio Infarto y accidente cerebrovascular.

BIBLIOGRAFIA

1. Reaven GM. Syndrome X: 6 years later. *J Intern Med Suppl.* 1994; 736:13-22.
2. Timar O, Sestier F, Levy E. Metabolic Syndrome X: a review. *Can J Cardiol.* 2000, 16: 779-89.
3. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 1988, 37: 1595-607.
4. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. *Diabet Med.* 1998, 15 : 539-53.
5. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: finding from the third National Health and Nutrition examination Survey. *JAM.* 2002, 287: 356-59.
6. Resnick HE; Strong heart study investigators. Metabolic Syndrome in American Indians. *Diabetes care* 2002, 25: 1246-47.
7. Araneta MR, Wingard DL, Barrett-Connor E. Type 2 diabetes and metabolic syndrome in Filipina- American women: a high risk non-obese population. *Diabetes Care* 2002; 25: 494-99
8. Isomaa B, Almgren P, Toumi T. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes care.* 2001, 24: 683-89.
9. Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA. The metabolic syndrome and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA.* 2002; 288: 2709-16.
10. Marques-Vidal P, Mazoyer E, Bongard V. Prevalence of insulin resistance syndrome in southwestern France and its relationship with inflammatory and hemostatic markers. *Diabetes Care* 2002, 25: 1372-77.
11. Jia WP, Xiang KS, Chen L, Lu JX, Wu YM. Epidemiological study on obesity and its comorbidities in urban Chinese older than 20 years of age in Shanghai China, *Obes Rev.* 2002, 3: 157-65.
12. Wu G. Further study of risk factors for stroke and coronary heart disease, the prevalence of metabolic syndrome in 11 provinces cohort in China. *Diabetes Care.* 2004, 36: 298-300.

13. Onat A, Ceyhan K, Basar O, Erer B, Toprak S, Samsoy V. Metabolic syndrome: major impact on coronary risk in a population with low cholesterol levels-a prospective and cross-sectional evaluation. *Atherosclerosis*. 2003; 165: 285-92.
14. Grundy SM. Obesity, metabolic syndrome, and coronary atherosclerosis. *Circulation*. 2002; 105: 2696-98.
15. Reddy KS, Yusuf S. Emerging epidemic of cardiovascular disease in developing countries. *Circulation* 1998, 97: 596-601.
16. meaney E, Lara-Esqueda A, Ceballos-reyes GM, Asbun J, Vela A, Martinez-Marroquin Y, Lopez V, Meaney A, de la Cabada-Tamez E, Velazquez-Monroy O, Tapia-Conrey R. cardiovascular risk factors in the urban Mexican population: the FRIMEX study. *Public Health*. 2007: 121-378-84.
17. Schargrotsky H, Hernandez-Hernandez R, Champagne BM, Silva H, Vinueza R, Silva Aycaguer LC, Touboul PJ, Boissonnet CP, Escobedo J, Pellegrini F, macchia A, Wilson E: CARMELA Study Investigators. *Am J Med*. 2008: 121:58-65.
18. Dunn EJ, Grsnt PJ. Type 2 diabetes: An Atherothrombotic Syndrome. *Current Molecular medicine*. 2005; 5: 323-32
19. Lindhal TL, Ohlsson PI, Wiman B. The mechanism of the reaction between human plasminogen-activator inhibitor 1 and tissue plasminogen activator. *Biochem J* 1990; 265: 109-113.
20. Owensby DA, Morton PA, Wun TC, Schwartz AL. Binding of plasminogen activator type-1 to extracellular matrix of Hep G2 cells: evidence that the binding protein is vitronectin. *J Biol Chem* 1991; 266: 4334-40.
21. Kruithof EK, Nicolosa G, Bachmann F. Plasminogen activator inhibitor 1: development of a radioimmunoassay and observations on its plasma concentrations during venous occlusion and after platelet aggregation. *Blood* 1987; 70: 1645-53.
22. Leander K, Wiman B, Hallqvist J, Stent-Linder M, de Faire U. Stocholm Heart epidemiology Program. PAI-1 4G/5G polymorphisms in relation to risk of non-fatal myocardial infarction: results from the Stockholm Heart Epidemiology Program (SHEEP). *Thromb Haemost* 2003; 89: 1064-61.

23. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M, Taskinen MR, Groop L. Cardiovascular morbidity mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2001. 24: 683-89.
24. Paramo J, Colucci M, Collen D, van der Werf F. Plasminogen activator inhibitor in the blood of patients with coronary artery disease. *BMJ*. 1985, 291. 573-4.
25. Aznar J, Estelles A, Tomo G, Sapena P, Tormo V, Blanck S, España F. Plasminogen activator inhibitor activity and other fibrinolytic variables in patients with coronary artery disease. *Br. Heart J*. 1988; 59: 535-42.
26. Juhan-Vague I, Alessi M, Joly P. Plasma plasminogen activator inhibitor in angina pectoris. Influence of plasma insulin and acute-phase response. *Arteriosclerosis*. 1989, 9: 362-67.
27. Juhan-Vague I, Pyke S, Alessi M, Jespersen J, Haverkate F, Thompson S. Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. ECAT Study Group. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities. *Circulation*. 1996;94:2057-63.
28. Hamsten A, Defaire U, Wallidus G. Plasma inhibitor activator in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction. *Lancet*. 1987; II, 3-9.
29. Juhan-vague I, Roul C, Alessi M, Ardisson JP, Heim M, Vague P. Increased plasminogen activator inhibitor activity in non insulin dependent diabetic patients-relationship with plasma insulin. *Thromb Haemost*. 1989; 61: 370-3.
30. Mansfield MH, Stickland M, Grant P. PAI-1 concentrations in first-degree relatives of patients with non-insulin-dependent diabetes: metabolic and genetic associations. *Thromb Haemost*. 1997; 77. 357-61.
31. Sakkinen P, Wahl P, Cushman M, Lewis M, Tracy R. Clustering of procoagulation, inflammation, and fibrinolysis variables with metabolic factors in insulin resistance syndrome. *Am J Epidemiol*. 2000;152: 897-907.
32. Juhan-Vague I, Thompson S, Jespersen J. Involvement of the hemostatic system in the insulin resistance syndrome. A study of 1500 patients with angina pectoris. The ECAT Angina Pectoris Study Group. *Arterioscler Thromb*. 1993, 13. 1865-73.

33. Landin K, Tengborn L, Smith U. J Elevated fibrinogen and plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in hypertension are related to metabolic risk factors for cardiovascular disease. *J Intern Med.* 1990; 227: 273-78.
34. Asplund-Carlson A, Hamsten A, Wiman B, Carlson LA. Relationship between plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity and VLDL triglyceride concentration, insulin levels and insulin sensitivity: studies in randomly selected normo- and hypertriglyceridaemic men. *Diabetologia.* 1993; 36: 817-25.
35. Meigs J, Mittleman M, Nathan D. Hyperinsulinemia, hyperglycemia, and impaired hemostasis: the Framingham Offspring Study. *JAMA.* 2002; 283: 221-28.
36. Festa A, D Agostinno R, Mykkanen L. Low-density lipoprotein particle size is inversely related to plasminogen activator inhibitor-1 levels. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999; 19: 562-68.
37. Vague P, Juhan –Vague I, Aillaud MF, Badier C, Virad R, Alessi MC, Collen D. Correlation between blood fibrinolytic activity, plasminogen activator inhibitor level, plasma insulin level, and relative body weight normal and obese subjects. *Metabolism.* 1986, 35:250-53.
38. Juhan-Vague I, Alessi MC, Vague P. Increased plasma plasminogen activator inhibitor-1 levels. A possible link between insulin resistance and atherothrombosis. *Diabetologia.* 1991, 34: 457-62.
39. Juhan-Vague I, Alessi MC, Mavri A, Morange PE. Plasminogen activator inhibitor-1, inflammation, obesity, insulin resistance and vascular risk. *J Thromb Haemost.* 2003: 1: 1575-79.
40. Folsom AR, Qamhieh HT, Wing RR, Jeffery RW, Stinson VL, Kuller LH, Wu KK. Impact of weight loss on plasminogen activator inhibitor (PAI-1), factor VII, and other hemostatic factors in moderately over-weight adults. *Arterioscler Thromb.* 1993; 13: 162-69.
41. Kruszynska YT, Yu JG, Olefsky JM, Sobel BE. Effects of troglitazone on blood concentrations of plasminogen activator inhibitor 1 in patients with type 2 diabetes and in lean and obese normal subjects. *Diabetes.* 2000; 49: 633-39,

42. Trost S, Pratley R, Sobel B. Impaired fibrinolysis and risk for cardiovascular disease in the metabolic syndrome and type II diabetes. *Curr Diab Rep.* 2006; 6: 47-54.
43. Hitsumoto T, Takahashi m, Lizuka T, Shirai K. relation between metabolic syndrome and early stage coronary atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.* 2007, 14: 294-302.
44. Mertnes I, Verijken A, Michiels JJ. Van der Planken M, Ruige JB, van Gaal LF. Among inflammation síndrome. *Int J Obes.* 2006; 32: 154-60.
45. Sobel EB, Woodcock-Mitchell J, Schneider DJ, Holt RE, Marutsuka K, Gold H. Increased plasminogen activator inhibitor type 1 in coronary artery atherectomy specimens from type 2 diabetic compared with non-diabetic patients: a potential factor predisposing to thrombosis and its persistence. *Circulation.* 1998; 97: 2213-21.
46. Pandolfi A, Cetrullo D, Polishuck R, Alberta MM, Calafiore A, Pellegrini G, Vitacolonna E, Capani F, Consoli A. Plasminogen activator inhibitor type 1 is increased in the arterial wall of type II diabetic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21: 1378-82.
47. Rega G, Kaun C, Weiss TW, Demyanets S, Zorn G, Kastl SP, Steiner S, Seidinger D, Kopp CW, Frey M, Roehle r, Maurer G, Huber K, Wojta J. Inflammatory cytokines interleukin-6 and oncostatin m induce plasminogen activator inhibitor-1 in human adipose tissue. *Circulation.* 2005; 111: 1938-45.
48. Kruithof EK, Mestries JC, Gascon MP, Ythier A. The coagulation and Fibrinolytic responses of baboons after in vivo thrombin generation effect of interleukin 6. *Thromb Haemost.* 1997; 77: 905-910.
49. Juhan-Vague I, Alessi MC, Joly P, Thirion X, Vague P, Declerck PJ, Serradimigni A, Collen D. Plasma plasminogen activator inhibitor-1 in angina pectoris. Influence of plasma insulin and acute-phase response. *Arteriosclerosis.* 1989; 9: 362-67.
50. Sakkinen PA, Wahl P, Cushman M, Lewis MR, Tracy RP. Clustering of procoagulation, inflammation, and fibrinolysis variables with metabolic factors in insulin resistance syndrome. *Am J Epidemiol.* 2002, 152: 897-907.

51. Lundgren CH, Brown SI, Nordt TK, Sobel BE, Fujii S. Elaboration of type-1 plasminogen activator inhibitor from adipocytes. A potential pathogenic link between obesity and cardiovascular disease. *Circulation*. 1996; 93: 106-110.
52. Ibara H, urano T, Takada A, Loskutoff DJ. Induction of plasminogen activator inhibitor 1 gene expression in adipocytes by thiazolidinediones. *FASEB J*. 2001; 15: 1233-35.
53. Voros G, Maquoi E, Collen D, Lijnen HR. Differential expression of plasminogen activator inhibitor-1 tumor necrosis factor-alpha, TNF-alpha converting enzyme and ADAMTS family members in murine fat territories. *Biochim Biophys Acta*. 2003; 1625: 36-42.
54. Samad F, Yamamoto K, Loskutoff DJ. Distribution and regulation of plasminogen activator inhibitor-1 in murine adipose tissue in vivo. Induction by tumor necrosis factor alpha and lipopolysaccharide. *J Clin Invest*. 1996; 97: 37-46.
55. Mansfield M, Strickland M, Grant P. PAI-1 polymorphism is associated with coronary artery disease. *Thromb Haemost*. 1995; 842-48.
56. Eriksson P, Nilsson L, Karpe F, Hamsten A. Very low density lipoprotein response element in the promoter region of the human plasminogen activator inhibitor-1 gene implicated in the impaired fibrinolysis of hypertriglyceridemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 20-26.
57. Nilsson L, Gafvels M, Musakka L. VLDL activation of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) expression: involvement of the VLDL receptor. *J Lipid Res* 1999; 40: 913-919.
58. Funk M, Endler G, Exner M, Marculescu R, Endler L, Abrahamiam H, Mauler H, Grimm A, Raith M, Mannhalter C, Prager R, Irsigler K, Wagner OF. PAI-1 4G/5G insertion/deletion promoter polymorphism and microvascular complications in type 2 diabetes mellitus. *Wien Klin Wochenschr*. 2005. 117: 707-10.
59. Sartori MT, Vettor R, De Pergola R, De Mitrio V, Saggiorato G, Della Mea P, Patrassi GM, Lombardi AM, Fabris R, Girolami A. Role of the 4G/5G polymorphism of PAI-1 gene promoter on PAI-1 levels in obese patients: influence of fat distribution and insulin-resistance. *Thromb Haemost*. 2001; 85: 1161-9.

60. Ziets B, Buechler C, Drobnik W, Herfarth H, Scholmerich J, Schaffler A. Allelic frequency of the PAI-1 4G/5G promoter polymorphism in patients with type 2 diabetes mellitus and lack of association with PAI-1 plasma levels. *Endocr Res* 2004, 30: 443-53.
61. Martinez-Calatrava MJ, Martinez.Larrad MT, Zabena C, Gonzalez- Sanchez JL, Fernandez-Perez C, Serrano-Rios M. The 4G75G PAI-1 genotype is associated with elevated plasma PAI-1 levels regardless of variables of the metabolic syndrome and smoking status. A population-base study in Spanish population- *Diabetes Obes Metab* 2007, 9: 134.5.
62. Meigs JB, Dupuis J, Liu O Donnell CJ, Fox CJ, Kathiresan S, Gabriel SB, Larson MG, Yang Q, Herbert AG, Wilson PW, Feng D, Tofler GH, Cupples LA. *Obesity*. 2006; 14: 753-758.
63. Ozel Demiralp D, Aktas H, Akar N. The effect of plasminogen activator inhibitor-1 675 4G/5G polymorphism on PAI-1 gene expression and adipocyte differentiation. *Clin Appl Thromb Haemost*. 2007; 14: 17-21.
64. Aguilar O, Cruz ME. Prevalencia del síndrome metabólico en pacientes con síndrome coronario agudo. *Archivos de Medicina de Urgencia de México* 2012;4 (2): 59-64
65. Wilson PW, Kannel WB, Silbershatz H, et al. "Clustering of metabolic factors and coronary heart disease," *Archives of Internal Medicine*, vol.159, no.10, pp:1104-9, 1999.
66. Kohler HP, and Grant PJ, "Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease," *New England Journal of Medicine*, vol.342, no.24, pp:1792-801, 2000.
67. Sobel BE, "Increased plasminogen activator inhibitor-1 and vasculopathy. A reconcilable paradox," *Circulation*, vol.99, no.19, pp:2496-8, 1999.
68. Alessi MC, and Juhan-Vague I, "PAI-1 and the metabolic syndrome: links, causes, and consequences," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol.26, no.10, pp:2200-7, 2006.

69. Klein BE, Klein R, and Lee KE, "Components of the metabolic syndrome and risk of cardiovascular disease and diabetes in Beaver Dam," *Diabetes Care*, vol.25, no.10, pp:1790-4, 2002.
70. Koren-Morag N, Goldbourt U, and Tanne D, "Relation between the metabolic syndrome and ischemic stroke or transient ischemic attack: a prospective cohort study in patients with atherosclerotic cardiovascular disease," *Stroke*, vol.36, no.7, pp:1366-71, 2005.
71. Rojas R, Aguilar-Salinas CA, Jiménez-Corona, et al. "Metabolic syndrome in Mexican adults: results from the National Health and Nutrition Survey," *Salud Pública de México*, vol.52, Suppl 1, pp:S11-8, 2006.
72. Isordia-Salas I, Santiago-Germán D, Rodríguez-Navarro H, et al. "Prevalence of metabolic syndrome components in an urban Mexican simple: comparison between two classifications," *Experimental Diabetes Research* 2012;doi:10.1155/2012/202540.
73. Miller AM, Alcaraz Ruiz A, Borrayo Sánchez G, et al. "Metabolic syndrome: clinical and angiographic impact on patients with acute coronary syndrome," *Cirugía y Cirujanos*, vol.78, no.2, pp:113-20, 2010.
74. Badimon L, Hernández-Vera R, and Vilahur G, "Determinants of cardiovascular risk in diabetes beyond hyperglycemia," *Journal of Cardiovascular Disease*, vol.1, no.2, pp:53-62, 2013.
75. Kullo IJ, Gau GT, and Tajik AJ, "Novel risk factors for atherosclerosis," *Mayo Clinic Proceedings*, vol.75, no.4 , pp:369-80, 2000.
76. Isordia-Salas I, Leños-Miranda A, Sainz IM, et al. "Association of the plasminogen activator inhibitor-1 gene 4G/5G polymorphism with ST elevation acute myocardial infarction in young patients," *Revista Española de Cardiología*, vol.62, no.4, pp:365-72, 2009.
77. Esparza-García JC, Santiago-Germán D, Guadalupe Valades-Mejía M, et al. "GLU298ASP and 4G/5G polymorphisms and the risk of ischemic stroke in young individuals," *The Canadian Journal of Neurological Sciences*, vol.42, no.5, pp:310-6, 2015.

78. Festa A, D'Agostino R Jr, Rich SS, et al. "Promoter (4G/5G) plasminogen activator inhibitor-1 genotype and plasminogen activator inhibitor-1 levels in blacks, Hispanics, and non-Hispanic whites: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study," *Circulation*, vol.107, no.19, pp:2422-7, 2003.
79. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J, IDF Epidemiology Task Force Consensus Group, "The metabolic syndrome: a new worldwide definition," *Lancet*, vol.366, no.9491, pp:1059-62, 2005
80. American Diabetes Association, "Diagnosis and classification of diabetes mellitus," *Diabetes Care*, vol.35, Suppl 1, pp:S64-71, 2012.
81. Margaglione M, Grandone E, Cappucci G, et al. "An alternative method for PAI-1 promoter polymorphism (4G/5G) typing," *Thrombosis and Haemostasis*, vol.77, no.3, pp:605-6, 1997.
83. Lubrano C, Valacchi G, Specchia P, et al. "Integrated Haematological Profiles of Redox Status, Lipid, and Inflammatory Protein Biomarkers in Benign Obesity and Unhealthy Obesity with Metabolic Syndrome," *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol.2015 (2015), Article ID 490613, 14 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/490613>.
84. Coffey CS, Asselbergs FW, Hebert PR, et al. "The association of the metabolic syndrome with PAI-1 and t-PA levels," *Cardiology Research and Practice* 2011;doi:10.4061/2011/541467.
85. Fernández-Bergés D, Consuegra-Sánchez L, Peñafiel J, et al. "Metabolic and inflammatory profiles of biomarkers in obesity, metabolic syndrome, and diabetes in a Mediterranean population. DARIOS Inflammatory study," *Revista Española de Cardiología*, vol.67, no.8, pp:624-31, 2014.
86. Al-Hamodi Z, Ismail IS, Saif-Ali R, et al. "Association of plasminogen activator inhibitor-1 and tissue plasminogen activator with type 2 diabetes and metabolic syndrome in Malaysian subjects," *Cardiovascular Diabetology* 2011;doi: 10.1186/1475-2840-10-23.
87. Undas A, Brummel-Ziedins KE, Mann KG, "Anticoagulant effects of statins and their clinical implications," *Thrombosis and Haemostasis*, vol.111, no.3, pp:392-400, 2014.

88. Cesari M, Kritchevsky SB, Atkinson HH, et al. "Angiotensin-converting enzyme inhibition and novel cardiovascular risk biomarkers: results from the Trail of Angiotensin Converting Enzyme Inhibition and Novel Cardiovascular Risk Factors (TRAIN) study," *American Heart Journal*, vol.157, no.2, pp:334.e1-334.e8, 2009.
89. Kagami S, Kuhara T, Okada K, et al. "Dual effects of angiotensin II on the plasminogen/plasmin system in rat mesangial cells," *Kidney International*, vol.51, no.3, pp:664-71, 1997.
90. Saremi A, Schwenke DC, Buchanan TA, et al. "Pioglitazone slows progression of atherosclerosis in prediabetes independent of changes in cardiovascular risk factors," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol.33, no.2, pp:393-9, 2013.
91. Zhang J, Noble NA, Border WA, et al. "Receptor-dependent prorenin activation and induction of PAI-1 expression in vascular smooth muscle cells," *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, vol.295, no.4, pp:E810-9, 2008.
92. Egan BM, Li J, Qanungo S, et al. "Blood pressure and cholesterol control in hypertensive hyper-cholesterolemic patients: national health and nutrition examination surveys 1988–2010," *Circulation*, vol.128, no.1, pp:29–41, 2013.
93. Ruiz-Quezada S, Vázquez-Del Mercado M, Parra-Rojas I, et al. "Genotype and allele frequency of PAI-1 promoter polymorphism in healthy 99 subjects from the west of Mexico. Association with biochemical and hematological parameters," *Annales de Génétique*, vol.47, no.2, pp:155-62, 2004.
94. De la Cruz-Mosso U, Muñoz-Valle JF, Salgado-Bernabé AB, et al. "Body adiposity but not insulin resistance is associated with –675 4G/5G polymorphism in the PAI-1 gene in a sample of Mexican children," *Jornal de Pediatria*, vol.89, no.5, pp:492-8, 2013.
95. Naran NH, Chetty N, and Crowther NJ, "The influence of metabolic syndrome components on plasma PAI-1 concentrations is modified by the PAI-1 4G/5G genotype and ethnicity," *Atherosclerosis*, vol.196, no.1, pp:155-63, 2008.

96. Martínez-Calatrava MJ, Martínez-Larrad MT, Zabena C, et al. "The 4G/4G PAI-1 genotype is associated with elevated plasma PAI-1 levels regardless of variables of the metabolic syndrome and smoking status. A population-based study in Spanish population," *Diabetes, Obesity & Metabolism*, vol.9, no.1, pp:134-5, 2007.
97. Kathiresan S, Gabriel SB, Yang Q, et al. "Comprehensive survey of common genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-1 locus and relations to circulating plasminogen activator inhibitor-1 levels," *Circulation*, vol.112, no.12, pp:1728-35, 2005.
98. Margaglione M, Cappucci G, d'Addeda M, et al. "PAI-1 plasma levels in a general population without clinical evidence of atherosclerosis: relation to environmental and genetic determinants," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol.18, no.4, pp:562-7, 1998.
99. Morange PE, Saut N, Alessi MC, et al. "Association of plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 (SERPINE1) SNPs with myocardial infarction, plasma PAI-1, and metabolic parameters: the HIFMECH study," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol.27, no.10, pp:2250-7, 2007.
100. Isordia-Salas I, Galván-Plata ME, Leños-Miranda A, et al. "Proinflammatory and prothrombotic state in subjects with different glucose tolerance status before cardiovascular disease," *Journal of Diabetes Research* 2014;doi:10.1155/2014/631902

ANEXOS

ANEXO 1

METODOLOGÍA DE LA OBTENCIÓN DE LOS NIVELES DE DÍMERO-

Extracción de la muestra sanguínea: Se extraerá de la vena antecubital 5 ml de sangre total (teniendo cuidado de que el torniquete no sea aplicado con mucha tensión), la cual será colectada en un tubo conteniendo EDTA, el cual será centrifugado a 2500 g por 10 minutos. Posteriormente la capa superior (plasma) será retirada cuidadosamente tratando de no perturbar la siguiente capa en donde se encuentra localizado el contenido de células mononucleares (buffy coat), la cual será transferida con una pipeta de transferencia de plástico estéril a un tubo de plástico eppendorf estéril de 1.5 ml libre enzimas (RNasas y DNasas). Finalmente el concentrado eritrocitario, el cual se encuentra en la capa inferior se desechará en un contenedor destinado para material (residuos peligrosos).

Extracción de ADN: Se utilizara el equipo comercialmente disponible de la marca Qiagen (QIAamp DNAMini Kit) de acuerdo a las instrucciones establecidas por la compañía. Una vez extraído el ADN se procederá a su conservación en un refrigerador a -70 ° C, hasta que sea utilizado para la amplificación de los segmentos correspondiente.

Determinación del genotipo del PAI-1:

Identificación de fragmentos polimórficos: Una vez amplificado el producto se procederá a su corrimiento electroforético en un gel de agarosa al 2%, y será posteriormente teñido con bromuro de etidio a una concentración de 1 µg/ml y se visualizará usando un transiluminador de luz ultravioleta cuya imagen será grabada en un film y cada paciente será clasificado en uno de los tres grupos: 4G/4G. 4G/5G o 5G/5G.

Determinación de la concentración plasmática antigénicos de PAI-1: Su fundamento se basa en la reacción inmunoenzimática llevada a cabo por un anticuerpo monoclonal dirigido al PAI-1, el cual ha sido previamente fijado sobre la superficie de la pared del microplato, el cual se unirá al PAI-1 contenido en la muestra. Posteriormente se adicionara un cromogénico el cual desarrollara color

que será proporcional a la concentración antigénica de PAI-1 contenido en la muestra.

ANEXO 2

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO 4G/5G EN EL INHIBIDOR DEL ACTIVADOR DEL PLASMINOGENO TIPO-1 (PAI-1) Y SU CORRELACION CON LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA EN PACIENTES CON SÍNDROME METABÓLICO

Lugar y México, CDMX, a _____ de _____ de 2013
Fecha

Por medio de la presente acepto participar en el protocolo de investigación titulado:

AOSCIACIÓN DEL POLIMORFISMO 4G/5G EN EL INHIBIDOR DEL ACTIVADOR DEL PLASMINOGENO TIPO-1 (PAI-1) Y SU CORRELACION CON LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA EN PACIENTES CON SÍNDROME METABÓLICO

Registrado ante el Comité Local de Investigación o la CNIC con el número: _____

El objetivo del estudio es:

ASOCIACIÓN EL POLIMORFISMO 4G/5G EN EL INHIBIDOR DEL ACTIVADOR DEL PLASMINOGENO TIPO-1 (PAI-1) Y SU CORRELACION CON LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA EN PACIENTES CON SÍNDROME METABÓLICO

Se me ha explicado que mi participación consistirá en:

Responder preguntas sobre la evolución de mi enfermedad y sobre mi persona. Serán obtenidas muestras de sangre. Cierta parte mi sangre será utilizada para realizar estudios en mis genes. Mi participación en el estudio no tendrá costo alguno.

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

Riesgos de la participación en el estudio: La toma de sangre puede causar molestias temporales o moretones en el sitio de punción y en algunas ocasiones puede haber desmayo.

Beneficios de la participación en el estudio: Los beneficios de la participación en el estudio son evaluar la posible asociación del polimorfismo 4G/5G del PAI-1, su correlación plasmática con dicha proteína y el Síndrome Metabólico.

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.

Nombre y firma del paciente

Investigador Responsable: Dra. en C. Irma Isordia Salas Matrícula
7553706

Números telefónicos a los cuales puede comunicarse en caso de emergencia, dudas o preguntas relacionadas con el estudio:
56395822 Ext: 20883

Testigos

ANEXO 3

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

HOSPITAL GENERAL REGIONAL No.1

DR. CARLOS MAC GREGOR SANCHEZ NAVARRO

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

PROTOCOLO: “ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO 4G/5G EN EL INHIBIDOR DEL ACTIVADOR DEL PLASMINÓGENO TIPO-1 (PAI-1) Y SU CORRELACIÓN CON LA CONCENTRACION PLASMÁTICA EN PACIENTES CON SINDROME METABOLICO”

Nombre: _____

No.Afiliación: _____

Edad: _____ Sexo: _____ Tel: _____

Peso: _____ Talla: _____ IMC: _____ Sedentarismo: __ Tabacqui

smo: _____ AFD: _____ AFEC: _____

DM: _____ HAS: _____ HDL _____ VLDL _____

Tensión Arterial Sistólica: _____ Tensión arterial sistólica: __

Micro albuminuria : _____ Acido úrico: _____ LDL: _____

Glucosa: _____ Colesterol: _____

Triglicéridos: _____ Fibrinógeno: _____

Hemoglobina: _____ Hematócrito: _____

Leucocitos: _____ Plaquetas: _____

Presión diastólica: _____ Presión sistólica: _____

Medicamentos antihipertensivos: _____

Medicamentos hipoglucemiantes: _____

Otro tipo de medicamentos: _____

AFD: Antecedentes Familiares de Diabetes

AFECV= Antecedentes Familiares de enfermedad cardiovascular

DM: Diabetes Mellitus HAS: Hipertensión Arterial Sistémica

PAI-1: Inhibidor del activador del plasminógeno

HDL: Lipoproteínas de alta densidad LDL: Lipoproteínas de baja densidad

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad

Polimorfismo 4G/5G en el gen del PAI-1:

	Presente	Ausente
4G/4G		
4G/5G		
5G/5G		

Concentración plasmática de de PAI-1: _____ng/ml

ANEXO 4

Criterios Diagnósticos de síndrome metabólico

	IDF (OBESIDAD ≥2)	AHA (≥ 3)	NCEP ATP III (≥ 3)	WHO (resistencia a la insulina/diabetes + ≥2)	EIRG (hiperinsulinemia + ≥2)
Obesidad	IMC > 30kg/m ² o de acuerdo a grupo étnico perímetro de cintura	Circunferencia abdominal >40 pulgadas en hombre y > 35 pulgadas en mujeres	Circunferencia abdominal >40 pulgadas en hombre y > 35 pulgadas en mujeres	Relación cintura cadera > 0.9 en hombres y > 0.85 en mujeres. IMC > 30 kg/m ²	Circunferencia abdominal >94 cm en hombre y > 80 cm en mujeres
Hiper trigliceridemia	TG ≥150 mg/dL o tratamiento para dislipidemia	TG de ayuno ≥150 mg/dL o tratamiento para dislipidemia	TG de ayuno ≥150 mg/dL o tratamiento para dislipidemia	TG ≥150 mg/dL	TG ≥177 mg/dL
Disminución de HDL	HDL ≤40mg/dL en hombres o ≤50 en mujeres	HDL ≤40mg/dL en hombres o ≤50 en mujeres	HDL ≤40mg/dL en hombres o ≤50 en mujeres	HDL ≤35mg/dL en hombres o ≤39 en mujeres	HDL ≤39mg/dL
Hipertensión	Sistólica ≥130 mmHg o diastólica ≥86 mmHg o diagnóstico previo de hipertensión.	TA mayor de 130/85 o tratamiento para hipertensión	Sistólica ≥130 mmHg o diastólica ≥86 mmHg o diagnóstico previo de hipertensión.	≥140/90 mmHg	TA mayor de 140/90 o tratamiento para hipertensión
Hiperglicemia	Glucosa de ayuno > 100 mg/dL o diagnóstico previo de diabetes	Glucosa de ayuno > 100 mg/dL o diagnóstico previo de diabetes	Glucosa de ayuno > 100 mg/dL o diagnóstico previo de diabetes	Se requiere resistencia a la insulina	Se requiere resistencia a la insulina o insulina plasmática arriba de la percentila 75
Otros				Albumina uirinaría ≥ 20 mcg/min o refacción albumina/creatinina ≥ 30mg/g	

IDF: Federación internacional de diabetes, AHA: American Heart Association, NCEP ATP III: National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III, WHO: World Health Organization, EIRG: European Group for Study of Insulin Resistance
HDL: Lipoproteínas de alta densidad, IMC: Índice de masa corporal, TG: Triglicéridos

ANEXO 5

Factores que modifican la expresión de PAI-1
Factores de crecimiento: <ul style="list-style-type: none">- Factores de crecimiento (FGFE, FGF, FGT-α, FGT-β, FGF VE)
Elementos de la coagulación <ul style="list-style-type: none">- Fragmentos de fibrina- Trombina- tPA
Elementos metabólicos <ul style="list-style-type: none">- Glucosa- Glucosamina- Insulina

<ul style="list-style-type: none">- LDL oxidadas- Trigliceridos
<p>Hormonas</p> <ul style="list-style-type: none">- Aldosterona- Angiotensina- Eritropoyetina- Renina
<p>Factores ambientales</p> <ul style="list-style-type: none">- Hipoxia- Radiaciones
<p>Modificado de Eddy A. Plaminogen activator inhibitor-1 and the kidney. Am J Physiol Renal Physiol 2002; 238 (2): F209-F220</p>