



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**



**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA**

**Estudio de los polimorfismos genéticos del gen SREBF2
en la susceptibilidad al desarrollo del síndrome
isquémico coronario agudo en la población mexicana**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTA:

ANDROS VÁZQUEZ MONTERO

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JOSÉ MANUEL FRAGOSO LONA

ASESOR DE TESIS:

DR. OCTAVIO DANIEL REYES HERNÁNDEZ

CIUDAD DE MÉXICO, 2021



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.

AGRADECIMIENTOS:

Al **Dr. Frago** por haber puesto en mí su entera y rotunda confianza; sin sus enseñanzas académicas, ni sus consejos de vida hubieran hecho posible que se realizará este extraordinario proyecto.

Al **Dr. Octavio** con todo el respeto y admiración que se merece, gracias por haberme aceptado como mi asesor interno en la escuela de modo que llenará todas mis expectativas en el ámbito de la ciencia y lo académico.

Al **Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”**, en especial a el grupo de trabajo que integra el Laboratorio de Genómica.

A la **Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM** por haberme permitido tomar las herramientas necesarias para aplicarlas en el ámbito científico, personal y cultural.

DEDICATORIAS:

A mi hermosa **madre Luz Montero** que como su nombre lo atribuye, jamás hubo momento oscuro en la vida que no se pudiese vislumbrar con la luz de la sabiduría,

A mi viejo **padre Rafael Vázquez** que sin su figura pesada ni su noble corazón no hubieran forjado los más profundos cimientos de mi ser.

A mi joven **hermano Alex Vázquez** por hacerme la vida más alegre; su risa, sus bromas y locuras siempre estarán en mí. A los tres los amo.

A todos los inconmensurables integrantes de la **familia Montero Melo y Vázquez Ramos** por todo el apoyo y solidaridad que tuvieron hacia mí en los momentos más difíciles; que el folclor y la alegría de nuestras costumbres y tradiciones de nuestros bellos estados de Guerrero y Oaxaca nunca falte en nuestra vida y que perdure por largas generaciones.

A la bellísima **Dr. Karla Bravo**; se dice que detrás de un gran hombre hay una gran mujer, me siento afortunado de haberte conocido y con todos los honores quiero decirte que eres el amor de vida; gracias por todos los momentos que hemos compartido y por aquel apoyo incondicional que me has demostrado, te amo y te admiro.

A mis compañeras de aventuras **Claudia Bravo y Jacqueline Bravo**, por haberme alentado con mensajes, memes y algunas cuchufletas en mi camino de tesista, gracias por su apoyo en imborrables momentos, las quiero.

A mi prima **Samara Montero** que siempre nos hemos apoyado en las buenas y en las malas, que siempre nos hemos visto como hermanos, por todos estos años de infancia con inolvidables recuerdos.

A mi amigo de la infancia **Carlos Añorve** y toda su familia por haber acaparado mi respeto y admiración.

Por último, **a la vida** por haber sido parte del espacio-tiempo en este cosmos y con estas maravillosas personas que son parte de mí.

Contenido

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1 Descripción del síndrome isquémico coronario agudo.....	3
2.2 Diagnostico.....	4
2.3 Epidemiología.....	6
2.4 Fisiopatogenia del síndrome isquémico coronario agudo.....	9
2.4.1 Estructura interna de las arterias coronarias.....	9
2.4.2 Migración de las lipoproteínas de baja densidad (LDL).....	11
2.4.3 Retención y oxidación de las LDL en la matriz extracelular.....	13
2.4.4 Proceso inflamatorio.....	16
2.4.5 Trombosis.....	19
2.5 Estudios de susceptibilidad genética.....	22
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	30
4. JUSTIFICACIÓN.....	31
5. HIPÓTESIS.....	32
6. OBJETIVO GENERAL.....	33
6.1 Objetivos particulares.....	34
7. METODOLOGÍA.....	35
7.1 Tipo de estudio.....	35
7.2 Criterios de inclusión y exclusión.....	35
7.3 Variables.....	35
7.4 Tamaño de la muestra.....	36
7.5 Material.....	37
7.6 Toma de muestra sanguínea.....	39
7.7 Extracción del DNA.....	39
7.8 Determinación de polimorfismos.....	42
7.9 Determinación del perfil lipídico.....	43
7.10 Análisis estadístico.....	43
8. RESULTADOS.....	44
9. DISCUSIÓN.....	50
10. CONCLUSIÓN.....	53
11. PERSPECTIVAS.....	53
12. REFERENCIAS.....	54

Índice de figuras

Figura 1. Diagnóstico por etapas del síndrome isquémico coronario agudo.....	4
Figura 2. ECG normal y de un ECG con elevación y sin elevación del segmento ST.....	5
Figura 3. Tabla de proyección de la mortalidad a nivel global y carga de la enfermedad.....	6
Figura 4. Gráfica de mortalidad de las diversas enfermedades cardiovasculares en México 2018.....	7
Figura 5. Representación gráfica del total de defunciones por enfermedades cardiovasculares en función del género y edad.....	8
Figura 6. Esquema de distribución de las principales arterias coronarias que irrigan al corazón.....	10
Figura 7. Anatomía de una arteria coronaria.....	11
Figura 8. Diagrama de la etapa de oxidación y retención de LDL.....	16
Figura 9. Mecanismos de inflamación en el desarrollo del SICA.....	19
Figura 10. Representación de la trombosis en el proceso aterosclerótico.....	21
Figura 11. Interacción del complejo SREBP-SCAP en la membrana del RE.....	24
Figura 12. Modelo de la escisión proteolítica para la liberación del factor de transcripción SREBP....	25
Figura 13. Estructura básica de la proteína SREBP.....	26
Figura 14. Localización del gen SREBF-2.....	27

Abreviaturas

SICA: síndrome isquémico coronario agudo

IAM: Infarto agudo del miocardio

LDL: lipoproteína de baja densidad

LDLox: lipoproteína de baja densidad oxidada

HDL: lipoproteína de alta densidad

TG: triglicéridos

NO: óxido nítrico

ECG: electrocardiograma

CK: creatinin fosfoquinasa

V-CAM 1: molécula de adhesión vascular

ICAM-1: molécula de adhesión intracelular

ROS: especies reactivas de oxígeno

MCP-1: proteína quimioatrayente de monocitos

NOS: óxido nítrico sintetasa

GAGs: glucosaminoglucanos

CS: condritin sulfato

DS: dermatán sulfato

HS: heparán sulfato

KS: keratán sulfato

TNF- α : factor de necrosis tumoral

TGF- β : factor de crecimiento transformante-beta

INF- γ : interferón- gamma

NF- κ b: factor de transcripción nuclear

MMP: metaloproteasas

SNP: polimorfismo de un solo nucleótido

VNTR: repetidos en tandem de número variable

Apo –B: apolipoproteína B

Apo-E: apolipoproteína E

LPL: lipoproteína – lipasa

LRP 1: lipoproteína de receptor proteína 1

CETP: proteína que transfiere ésteres de colesterol

SREBP's: proteínas de unión a elementos reguladores de esterol

SREBF's: factores de transcripción de unión a elementos reguladores de esterol

HMG–CoA sintasa: enzima 3–Hidroxi–3–metilglutaril coenzima A sintasa

HMG–CoA reductasa: enzima 3–Hidroxi–3–metilglutaril coenzima A reductasa

1. INTRODUCCIÓN

A nivel internacional las enfermedades cardiovasculares representan la primera causa de los fallecimientos, en ese sentido la OMS tiene registrado que el 31% de las defunciones han sido producto de alguna patología cardiovascular. Aunque el mayor riesgo de padecer una cardiopatía está presente en países con un alto nivel socioeconómico, la mayor tasa de mortalidad se encuentra en países con un nivel socioeconómico medio y bajo debido un menor acceso a los servicios de salud, para un diagnóstico oportuno, un adecuado control y tratamiento.

En México los registros epidemiológicos apuntan que el número de casos nuevos de cardiopatías va en aumento, así como la tasa de mortalidad posicionando a las enfermedades cardiovasculares como la primera causa de muerte en mujeres y varones de entre 35 y 65 años o más, considerándolo como un grave problema de salud pública en nuestro territorio.

El SICA es un padecimiento de etiología multifactorial en cuyo desencadenamiento participan factores ambientales y genéticos. Los primeros están relativamente estudiados en diversas poblaciones tales como el hábito de fumar, el sedentarismo, así como los niveles de colesterol, LDL, HDL y triglicéridos, siendo estos últimos de gran importancia puesto que se ha demostrado que los altos niveles de estas moléculas pueden aumentar el riesgo de padecer esta enfermedad, sin embargo, los estudios sobre los factores genéticos son limitados.

Debido a esto decidimos estudiar los polimorfismos de el gen SREBF-2, debido a que pueden estar regulando el perfil lipídico. Los tres polimorfismos a estudiar son IVSI 8407 C/T (rs2267439), IVSI2 1667 A/G (rs2267443) ambos situados en la región intrónica y por último el 1784 G/C Gly595Ala (rs2228314) localizado en la región codificante.

2. MARCO TEORICO

2.1 Descripción del síndrome isquémico coronario agudo

El síndrome isquémico coronario agudo (SICA) se caracteriza por un espectro de enfermedades de carácter arterial, que incluyen la angina inestable y el infarto agudo al miocardio (IAM) con y sin elevación del segmento ST en un electrocardiograma. Los síntomas que presentan los pacientes con SICA van desde dolor de pecho, náuseas, vómito, disnea, diaforesis y dolor de cabeza. Una característica importante de esta enfermedad es la presencia de elevados niveles séricos de creatina quinasa (CK), mioglobina, troponinas T y I, ya que estos marcadores bioquímicos son esenciales en el diagnóstico de un infarto agudo del miocardio ^(1,2) .

El infarto agudo del miocardio es un síndrome isquémico coronario agudo donde existe una interrupción abrupta y súbita del flujo arterial coronario, generalmente relacionada con fenómenos trombóticos agudos asociados con lesiones en las arterias coronarias provocadas por placas ateroscleróticas. Conforme al tiempo de duración de la obstrucción trombótica y a la pérdida de irrigación de la región miocárdica se desencadenará una serie de alteraciones. Tales alteraciones se observan a nivel de miocitos los cuales promueven el deterioro con consecuencias desastrosas a nivel de la anatomía regional y parietal miocárdica con desajustes hemodinámicos ^(3,4) . La situación en que se presenta la angina inestable no suele tener relación con un mayor trabajo cardiaco, es decir, la isquemia no parece estar relacionada con un mayor gasto de oxígeno en el miocardio, por lo que la causa es una disminución aguda del flujo sanguíneo coronario^(5,6) . Esta disminución en el flujo arterial coronario es consecuencia de la rotura de la placa aterosclerótica que va seguida de una hemorragia en la pared de la arteria a través de su superficie rota y una trombosis

intraluminal que da lugar a un crecimiento rápido de esta lo que deriva a una progresión de la lesión coronaria y agudiza los síntomas (7).

2.2 Diagnóstico

Las pruebas que se utilizan para evaluar a pacientes con SICA incluyen el electrocardiograma (ECG), la angiografía coronaria, la ecografía intravascular y la resonancia magnética nuclear por mencionar algunas.

El fundamento del diagnóstico por electrocardiograma (ECG) se basa en el registro de los impulsos eléctricos producidos por los fenómenos de despolarización y repolarización del tejido cardiaco; este procedimiento es esencial en la evaluación de este padecimiento, aquellos pacientes que se presentan sin elevación del segmento ST pueden corresponden a infartos no Q o angina inestable, contrario a aquellos que presentan una elevación del segmento ST con infarto Q (Figura 1 y 2) (8).

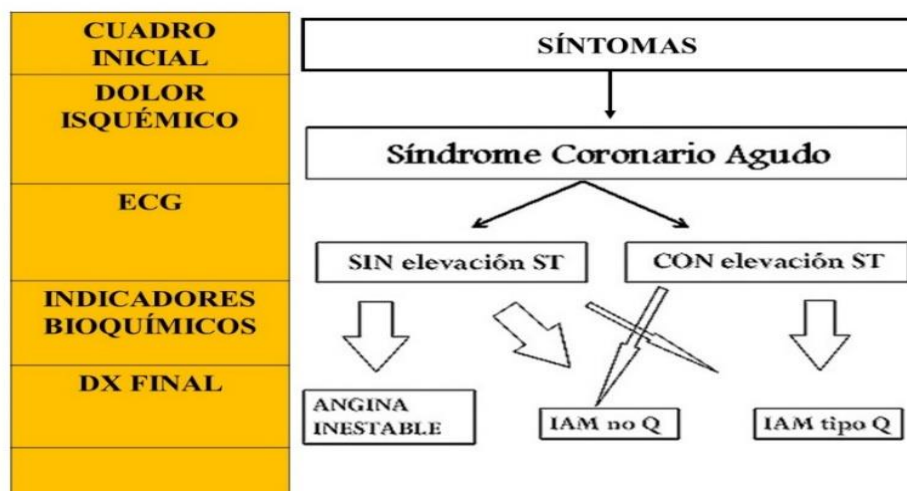


Figura 1. Diagnóstico por etapas del síndrome isquémico coronario agudo. Tomada de: Sociedad Iberoamericana de Información Científica (8).

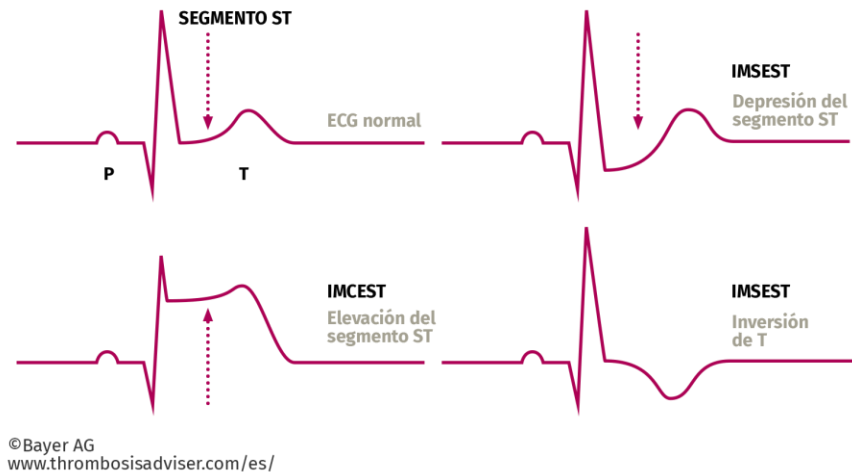


Figura 2. Se ilustra un ECG normal y de un ECG en los que se observa con elevación y sin elevación del segmento ST. Tomada de: www.thrombosisadviser.com/es/ (9).

Dentro de los estudios para detectar una enfermedad coronaria el ECG es la herramienta más utilizada y extendida a nivel mundial con un valor predictivo del 85% en todos los casos (10). Por otro lado, las pruebas bioquímicas son una herramienta complementaria en el diagnóstico del SICA, los biomarcadores más utilizadas son la creatinín fosfoquinasa (CK), mioglobina y la troponinas I y T que sirven para evaluar de manera exacta, si ha ocurrido o no, una necrosis miocárdica en función de los niveles séricos de estas moléculas (1). Por último, el análisis sanguíneo refuerza el diagnóstico clínico puesto se evalúan las concentraciones elevadas leucocitos y además se cuantifican los niveles de triglicéridos, glucosa, colesterol total, HDL-C y LDL-C.

2.3 Epidemiología

En las últimas dos décadas el síndrome isquémico coronario agudo se ha posicionado y ha permanecido como la principal causa de muerte a nivel mundial, en virtud de ello, estudios de salud global han pronosticado a los síndromes isquémicos coronarios como la primera causa de morbimortalidad hasta el 2030 en países desarrollados, en desarrollo y no desarrollados (Figura 3) ^(11,12). Cada año, mueren alrededor de 17 millones de personas por SICA, se estima que cada 4 segundos ocurre un evento coronario a nivel mundial, esto lo convierte en el principal responsable del 45% de fallecimientos en adultos mayores de 65 años y 70% en mayores de 75 años. El SICA ha sido la primera causa de muerte en países industrializados, en varones mayores de 45 años y en mujeres mayores a 65 años ^(13–15).

Category	Disease or Injury	2002 Rank	2030 Ranks	Change in Rank
Within top 15	Ischaemic heart disease	1	1	0
	Cerebrovascular disease	2	2	0
	Lower respiratory infections	3	5	-2
	HIV/AIDS	4	3	+1
	COPD	5	4	+1
	Perinatal conditions	6	9	-3
	Diarrhoeal diseases	7	16	-9
	Tuberculosis	8	23	-15
	Trachea, bronchus, lung cancers	9	6	+3
	Road traffic accidents	10	8	+2
	Diabetes mellitus	11	7	+4
	Malaria	12	22	-10
	Hypertensive heart disease	13	11	+2
	Self-inflicted injuries	14	12	+2
	Stomach cancer	15	10	+5
Outside top 15	Nephritis and nephrosis	17	13	+4
	Colon and rectum cancers	18	15	+3
	Liver cancers	19	14	+5

DOI: 10.1371/journal.pmed.0030442.t002

Figura 3. Tabla de proyección de la mortalidad a nivel global y carga de la enfermedad de 2002 a 2030.

Tomada de: Journal PLOS Medicine ⁽¹²⁾

En América, las cifras de mortalidad varían en función de la ubicación geográfica; la tasa de mortalidad más alta se observa en Norteamérica con 222 muertes por cada 100 000 habitantes, seguida de Sudamérica con una tasa 158 por cada 100 000 habitantes y la más baja en Centroamérica con 91 fallecimientos por cada 100 000 habitantes⁽¹⁶⁾.

En ese sentido, en México las enfermedades cardiovasculares se posicionan como la primera causa de mortalidad tanto en hombres como mujeres, de acuerdo con las estadísticas del INEGI⁽¹⁷⁾ en 2018 se reportaron 141 619 fallecimientos a causa de enfermedades del corazón, lo que representa un incremento de 3.8% de muertes con respecto al 2016. En este contexto las enfermedades isquémicas representaron el 71.9% siendo las más significativas, seguidas por las hipertensivas con 16.4% y el 11.7% que representa a otras enfermedades cardiovasculares (Figura 4).

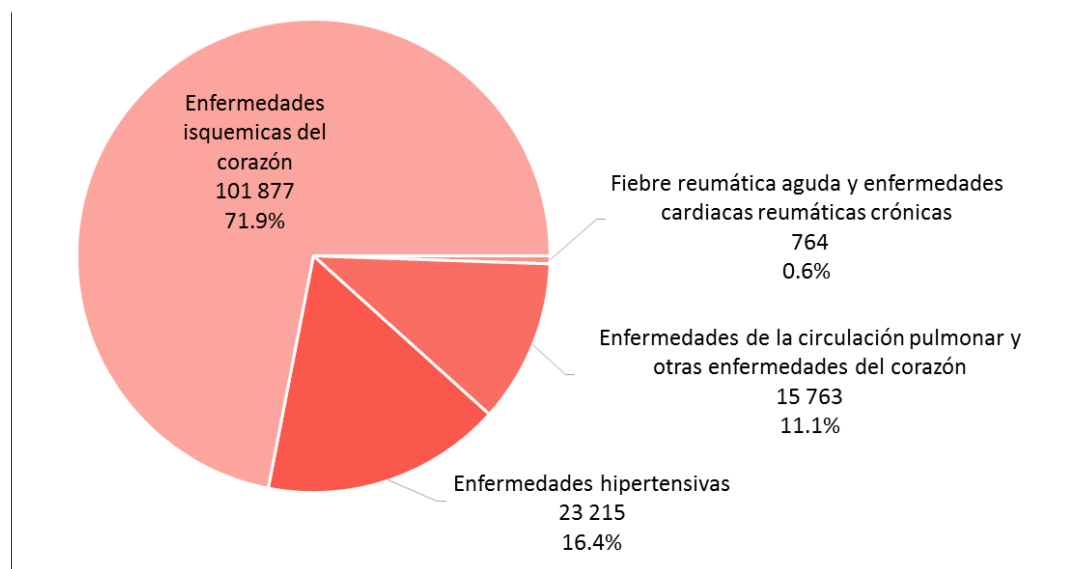


Figura 4. Gráfica de mortalidad de las diversas enfermedades cardiovasculares en México 2018.

Tomada de: Instituto Nacional de Estadística y Geografía ⁽¹⁷⁾.

El análisis de la mortalidad por enfermedades cardiovasculares en 2018 muestra variaciones por género y edad. Del total de las muertes, 75 256 casos (53.1%) correspondieron a hombres y 66 337 casos (46.8%) a mujeres. El grupo de edad en el que se concentra el mayor número de fallecimientos es en el de 65 y más años que representa el 75.6% (Figura 5) ⁽¹⁷⁾.

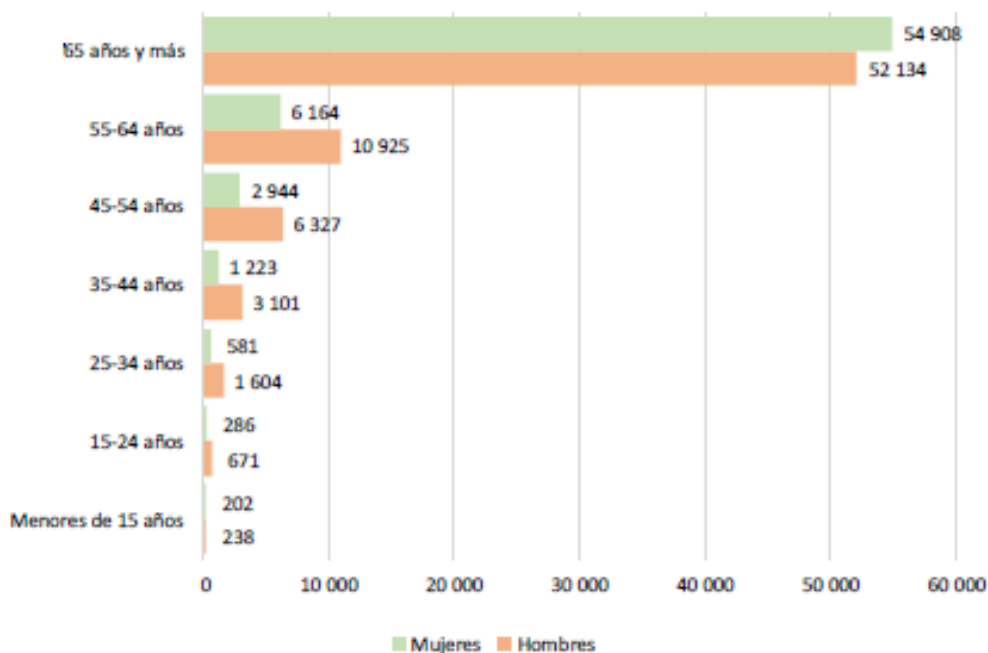


Figura 5. Gráfica que representa el total de las defunciones por enfermedades cardiovasculares en función del género y edad. Tomada de: Instituto Nacional de Estadística y Geografía ⁽¹⁷⁾.

Estos datos han demostrado un crecimiento exponencial en los índices de mortalidad en la población adulta en las últimas dos décadas, sin excluir a los adolescentes y a la población infantil ⁽¹⁴⁾.

2.4 Fisiopatogenia del síndrome isquémico coronario agudo

2.4.1 Estructura de las arterias coronarias

Para entender mejor el proceso por el cual ocurre un síndrome isquémico coronario agudo resulta útil tener cierto conocimiento básico de la estructura de una arteria coronaria, dado que fenómenos como la migración de las LDL, la oxidación, la inflamación y la trombosis pueden contribuir en gran medida al desarrollo de un episodio isquémico coronario.

Las arterias coronarias tienen su origen en los orificios de la arteria aorta ascendente que precede del ventrículo izquierdo del corazón (Figura 6), estas arterias coronarias se distribuyen de forma descendente en la superficie del órgano donde cada arteria se bifurca en su origen, dando lugar a la arteria coronaria descendente derecha y la arteria coronaria descendente izquierda, la primera con un diámetro que va desde 12 a 14 cm de longitud y la segunda de 10 a 13 cm de longitud respectivamente ⁽¹⁸⁾. El lumen (luz vascular) es aquella abertura interna de las arterias que permite el constante flujo sanguíneo hacia los tejidos cardiacos, las dimensiones del lumen de las arterias tienen un diámetro aproximado de 1.5 a 5.5 mm para la arteria derecha y 2 a 5.5 mm para la arteria izquierda⁽¹⁸⁾. En este caso se tiene bien establecido que la oclusión total o parcial del lumen producto de la acumulación de lípidos en la pared, puede desencadenar una interrupción aguda o súbita del flujo coronario y con ello el desarrollo de un infarto agudo al miocardio y una angina inestable ⁽⁶⁾.

Las arterias coronarias se insertan en el tejido miocárdico donde se encargan de irrigar la sangre rica en oxígeno, debido a que el miocardio es el tejido con mayor demanda, con valores que van desde 8-10 ml O₂/min/100 g ⁽¹⁹⁾.

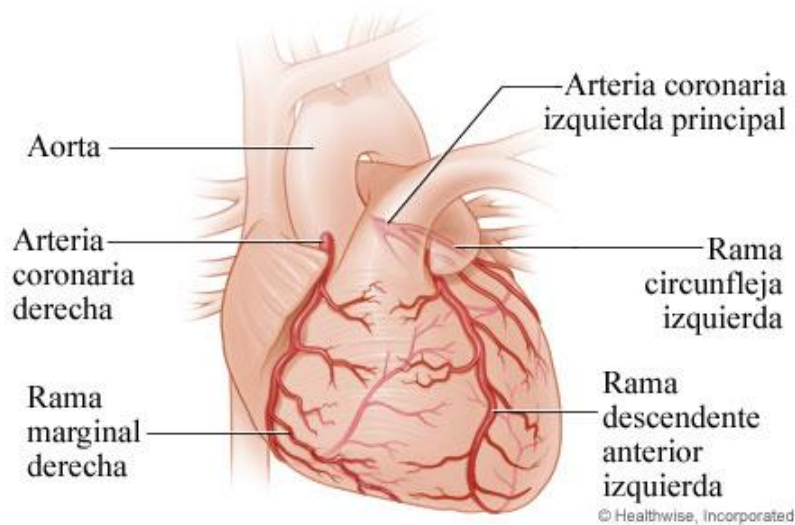


Figura 6. Esquema de distribución de las principales arterias coronarias que irrigan al corazón.
Tomada de: Texas Heart Institute⁽¹⁹⁾

La estructura básica de las arterias coronarias es similar a las arterias que se distribuyen por todo el organismo, donde se distinguen tres capas principales; la capa externa (túnica adventicia), la capa media (túnica media), y una capa interna (túnica íntima) ⁽¹⁸⁾ (Figura 7). La túnica adventicia es la capa más externa de la arteria, está formada por tejido conectivo y es rica en fibras de colágeno; esta capa está irrigada por una red de capilares que recibe el nombre de *vasa vasorum*. La túnica media consiste en múltiples capas de células de músculo liso y tejido conectivo (fibras elásticas) convirtiéndola en la capa más gruesa de la arteria. La túnica íntima consiste en una capa de revestimiento de células endoteliales, una de las funciones principales del endotelio es la producción de mediadores de inflamación (interleucina-1), regulan la síntesis de agentes anticoagulantes y procoagulantes, factores de crecimiento (factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento de fibroblastos), moléculas de adhesión, entre otras, además estas células participan en la producción y actividad de los receptores de las lipoproteínas de baja densidad

(LDL). Por último se tiene bien establecido que la aparición de una placa aterosclerótica que conlleva a un episodio isquémico coronario inicia en las células endoteliales de la íntima por parte de una serie de factores que conducen a la pérdida de la función homeostática, desencadenando los fenómenos oxidativos, inflamatorios y trombóticos característicos de un síndrome isquémico coronario agudo ⁽²⁰⁾.

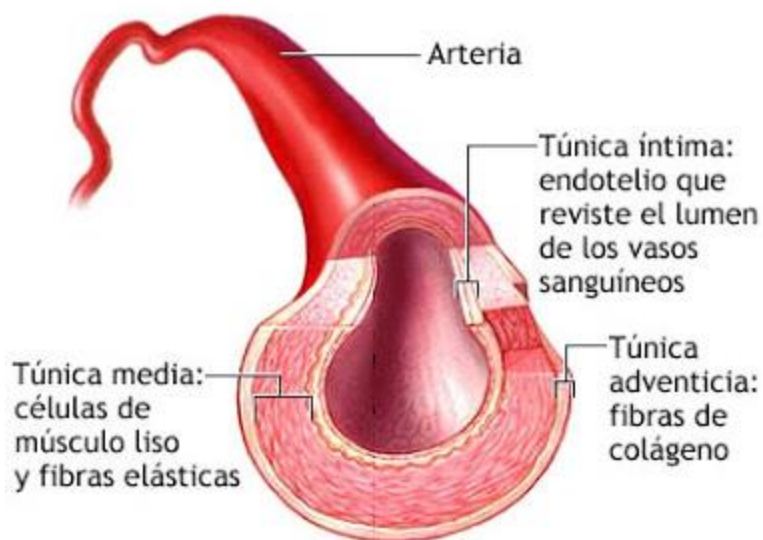


Figura 7. Anatomía de una arteria coronaria. Tomada de Texas Hearth Institute (19)

2.4.2 Migración de lipoproteínas de baja densidad (LDL)

Uno de los acontecimientos más importantes del SICA, es la migración y acumulación de las LDL en el espacio endotelial de la íntima arterial, por tal motivo la internalización de estas moléculas desempeña un papel importante en el origen del ateroma. Esto puede ser reflejo del incremento en el perfil lipídico y la pérdida paulatina de la capacidad del endotelio para controlar el tráfico de macromoléculas hacia el interior de la pared, esto permite un mayor depósito de moléculas circulantes, como las LDL, no obstante, la retención de estas lipoproteínas en la pared no se excluye solamente al fenómeno de la

acumulación, sino a una exposición prolongada a oxidantes locales como especies de reactivas de oxígeno (ROS), estas modifican gradualmente a las LDL otorgándole un carácter aterogénico ⁽²¹⁾, esto conlleva a una activación focal en el endotelio y subendotelio iniciando así el fenómeno inflamatorio característico del síndrome isquémico coronario agudo⁽²²⁾. La infiltración y el transporte intravascular de LDL, colesterol y esterios de colesterol depende de dos mecanismos, uno activo que involucran a receptores localizados en las células endoteliales, estos receptores se encargan de reconocer las moléculas circulantes de LDL y median la transcitosis hacia el espacio subendotelial⁽²³⁾. Por otra lado, el mecanismo pasivo, es independiente de receptores y es producido por una lesión endotelial avanzada⁽²⁴⁾. El endotelio juega un papel crítico en las primeras etapas del SICA esto involucra al proceso de oxidación de las LDL, donde pueden oxidarse tanto proteínas como lípidos, la LDL oxidada (LDLox) no solo constituye una única partícula, sino que existe un amplio espectro de LDL oxidadas, con distintos grados de oxidación. La LDLox mínimamente oxidada puede desarrollar un papel inicial en el reclutamiento de monocitos al inducir la expresión de la proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1)⁽²⁵⁾ y de moléculas de adhesión como la V-CAM-1, ICAM-1, E-Selectina y P-Selectina lo que facilita la unión, rodamiento y migración del monocito desde el endotelio hacia el espacio subendotelial ^(26,27). Así mismo, se sabe que la LDLox promueve la diferenciación del monocito a macrófago, estas células poseen la capacidad de reconocer en grandes cantidades a las moléculas de LDL modificadas y a su vez transformarse en células espumosas. La acumulación de células espumosas en el espacio subendotelial conduce a la formación de la denominada estría grasa con tendencia a la progresión ⁽²⁸⁾. Así también, la LDLox altera la actividad de la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS) que está involucrada en la síntesis de NO, este constituye un importante

vasodilatador que disminuye la expresión de VCAM-1, ICAM-1 y MCP-1, además mantiene el tono vascular adecuado ⁽²⁹⁾. Por otra parte, el anión superóxido (O₂⁻) presente en la hipercolesterolemia, inactiva la actividad del NO, lo que provoca la producción de un potente peroxi-nitrito (ONOO⁻), que a bajas concentraciones puede tener un efecto similar que el NO, pero a altas concentraciones puede provocar una disfunción endotelial por estrés oxidativo ⁽³⁰⁾.

2.4.3 Retención y oxidación de las LDL en la matriz extracelular

Se tiene bien establecido que las lipoproteínas entran y se acumulan en las arterias. El fenómeno de infiltración comprende dos factores, que es la acumulación y la retención en la matriz extracelular. El primero es que el aumento en el perfil lipídico en plasma o hiperlipidemia, conlleva a una mayor infiltración en las paredes arteriales. El segundo se ve implicado en el deterioro de la matriz extracelular lo que sugiere que la pérdida de las funciones biológicas normales en esta estructura, permite una mayor retención de partículas que contienen lípidos. Esto quiere decir que, si existe una mayor infiltración en la pared arterial de lipoproteínas, éstas pueden ser convertidas a formas tóxicas que promueven una respuesta inflamatoria ⁽³¹⁾.

La estructura de la matriz extracelular reviste al endotelio vascular en la cara luminal y está constituida principalmente por grupos de proteoglicanos, glucosaminoglucanos (GAG), colágeno y elastina, que le dan estabilidad al endotelio, regulan la permeabilidad de moléculas circulantes, además protegen la adhesión de leucocitos y plaquetas al endotelio ⁽³²⁾. Los proteoglicanos están compuestos por su gran mayoría por cadenas lineares de proteínas, y de largas

cadena de carbohidratos, llamados GAG. Estos son de distintos tipos el condritin sulfato (CS), dermatán sulfato (DS), heparán sulfato (HS), kermatán sulfato (KS) y el ácido hialurónico, son fundamentales en la arteria, además le confieren una carga eléctrica negativa a la matriz extracelular. Las células que regulan la producción de proteoglicanos dentro de la arteria son las células del musculo liso, las células endoteliales y los macrófagos responsables de la síntesis de proteoglicanos en la pared arterial. Se tiene bien establecido que la asociación de las LDL con los proteoglicanos es causada por la interacción iónica entre la apolipoproteína cargada positivamente situada en la cara externa de la LDL y grupos de GAGs cargados negativamente ⁽³³⁾. La región responsable de esta unión es la subunidad apo-B100 cargada positivamente por residuos de lisina y arginina que interaccionan con el CS y DS con mayor afinidad. En ese sentido, se ha observado que cambios estructurales en la apo-B100 en pacientes con hipercolesterolemia ⁽³⁴⁾ conduce a una mayor acumulación y retención de las LDLs en plasma y por ende una mayor interacción con los componentes en la matriz extracelular lo que conlleva a un desarrollo temprano de la placa aterosclerótica.

Oxidación de las LDL's

El acontecimiento crítico en el inicio del proceso aterogénico es el depósito de lípidos en la pared vascular a partir de las lipoproteínas plasmáticas, especialmente las LDL (lipoproteínas de baja densidad) pequeñas y densas, las cuales son oxidadas por radicales libres en el espacio subendotelial. Los cuales son causados por el estrés oxidativo generado por el desbalance de óxido-reducción caracterizado por un aumento de las especies reactivas de oxígeno (ROS) donde se incluyen radicales libres y compuestos no radicales libres derivados del oxígeno molecular, tales como el radical anión superóxido, el

radical hidroxilo y el peróxido de hidrógeno dichos radicales son producto de la reducción incompleta del oxígeno en la cadena de transporte de electrones en la mitocondria y/o de ciertas reacciones enzimáticas, estos productos no alcanzan a ser compensados por las defensas antioxidantes; por lo que esto ocurre principalmente en patologías degenerativas y/o procesos inflamatorios (35-37).

La LDL produce un engrosamiento del interior de la pared del vaso que sirve de mecanismo de defensa, reforzando estos lugares para que la arteria no se rompa y pueda soportar este flujo, no obstante, si entra más grasa de la que se necesita la LDL se oxida. La capacidad aterogénica de las LDL pequeñas y densas radica en que, al ser partículas más pequeñas, con menor contenido lipídico, presentan una distribución espacial diferente de las LDL normales, hecho que impide su normal reconocimiento por los receptores B: E que se encuentran en las células endoteliales, células del musculo liso de la arteria, permaneciendo más tiempo en circulación y aumentando su probabilidad de infiltrarse en la pared vascular y oxidarse. Como consecuencia de la oxidación se producen cambios importantes en la estructura de la lipoproteína; a partir de ese momento la LDL deja de ser reconocida por los receptores B: E y pasa a ser internalizada por los macrófagos por medio de los receptores basurero o barredores (scavenger receptors), cuyo número aumenta por acción del M-CSF (factor estimulante de colonias de macrófagos) (Figura 8), recientemente se ha descubierto otro receptor el LOX-1 (*Lectin-like Oxidized LDL receptor-1*) que existe en la superficie de estas células, jugando un importante papel en la activación endotelial (35,38,39).

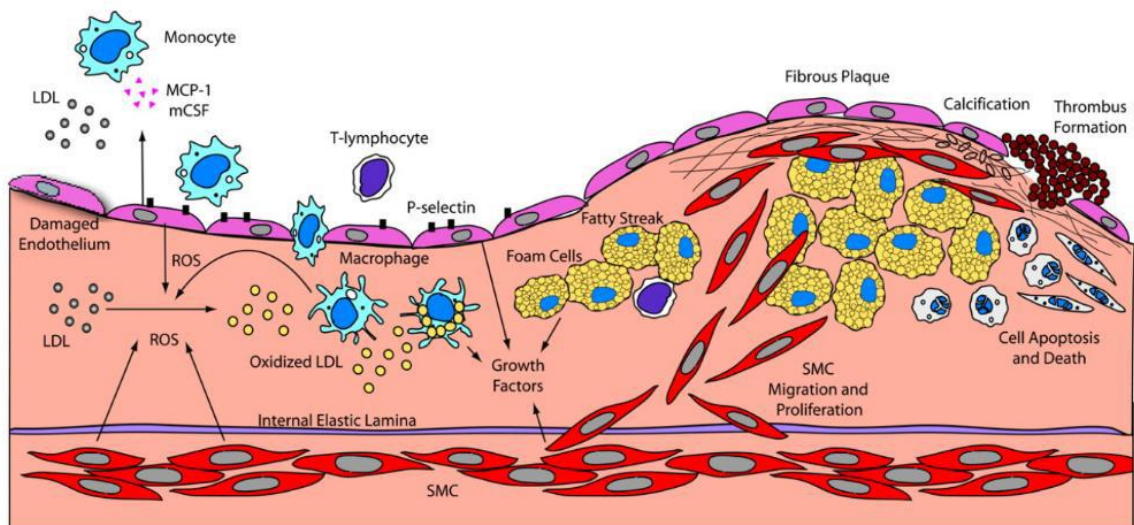


Figura 8. Etapa de oxidación y reconocimiento de LDL por parte del macrófago. Tomada de Cardiovascular Research Center ⁽⁴⁰⁾.

2.4.4 Proceso inflamatorio

En el SICA los procesos inflamatorios juegan un papel determinante en el desarrollo de la enfermedad, esto se justifica con diversos estudios que afirman que es producida por respuestas inflamatorias al inicio del desarrollo de las placas ateroscleróticas ^(2,5,6,22,28). La inflamación ocurre cuando las LDL circulantes se acumulan en la matriz extracelular y quedan atrapadas en el espacio subendotelial, donde pueden oxidarse, y adquirir propiedades pro-inflamatorias que desarrollan una cadena de eventos que van desde el reclutamiento de monocitos que aumentan la respuesta inflamatoria al fagocitar las lipoproteínas (principalmente LDLox), alta expresión de moléculas de adhesión y la proliferación celular. Esta serie de acontecimientos puede traer consigo un aumento en el volumen de la placa aterosclerótica, lo que conlleva a una disminución del diámetro de la luz vascular llegando en su mayoría de los casos a ocluirla por completo, lo que producirá isquemia en el tejido irrigado

por tal arteria. Esto también provoca el reclutamiento de células inflamatorias (macrófagos, células T, células NKT, células dendríticas y mastocitos)⁽⁴¹⁾ y la proliferación de células del músculo liso que dan inicio al desarrollo de una placa aterosclerótica madura, dicha estructura se cubre por una capa de fibras que contiene el conjunto lipídico protrombótico, cuando esta capa es muy delgada puede sufrir una rotura y desencadenar un evento coronario agudo. Por tanto, estos hechos son mediados por citocinas pro y antiinflamatorias, factores de crecimiento, factores quimiotácticos provenientes de las células inflamatorias⁽⁴²⁾. Se tiene establecido que las citocinas proinflamatorias como la interleucina 1 (IL-1), IL-6, IL-8, así como el factor de necrosis tumoral (TNF- α), el factor de crecimiento transformante-beta (TGF- β) y el interferón-gamma (INF- γ), entre otras moléculas inflamatorias, pueden estimular la expresión de moléculas de adhesión como ICAM-1, VCAM-1, E y P Selectina, lo que favorece a una mayor fijación de monocitos a la pared arterial, esto ocasiona que el monocito penetre en el espacio subendotelial. El ingreso de monocitos a la arteria, alienta la producción del factor estimulante de macrófagos (MCS-F) el cual promueve la proliferación y la conversión en macrófagos⁽⁴³⁾. Estudios demuestran que la activación de los monocitos puede llevarse a cabo en presencia de IL-1 debido a que hay un aumento de esta citosina en las placas ateromatosas⁽⁴⁴⁾. Además, los datos acumulados establecen que diversos estímulos inflamatorios por parte de IL-6 y TNF- α pueden inducir la síntesis de metaloproteasas (MMP) por macrófagos lo que conduce a una degradación de la matriz extracelular provocando la deposición constante de monocitos, células T, LDLox y especies reactivas de oxígeno hacia la íntima arterial lo que contribuye al aumento de la inflamación⁽⁴⁵⁾. Las células espumosas que se originan en la íntima y que son producto de la internalización de LDL modificada por parte de los macrófagos a través de receptores

scavengers, pueden activar diversas moléculas quimotácticas como MCP-1 y la IL-8, que son importantes en las lesiones aterogénicas debido a que ambas moléculas inducen la atracción de monocitos y células T activadas (Figura 9). De esta manera, las células T activadas inducen la migración y la proliferación de las células del musculo liso, que a su vez pueden sintetizar citocinas proinflamatorias y contribuir al aumento de la respuesta inflamatoria local ⁽⁴⁶⁾. Además, se sabe que la MCP-1 que es producida por células del musculo liso, macrófagos y células endoteliales recluta monocitos, leucocitos y otras células inflamatorias a través de la activación del factor de transcripción nuclear (NF-Kb), el cual regula la producción y la expresión de citocinas proinflamatorias; la sobreexpresión de este factor de transcripción puede estar aumentando la concentración INF- γ e interleucinas IL-1, IL-6 y IL-8 perpetuando y amplificando la inflamación ^(47,48).

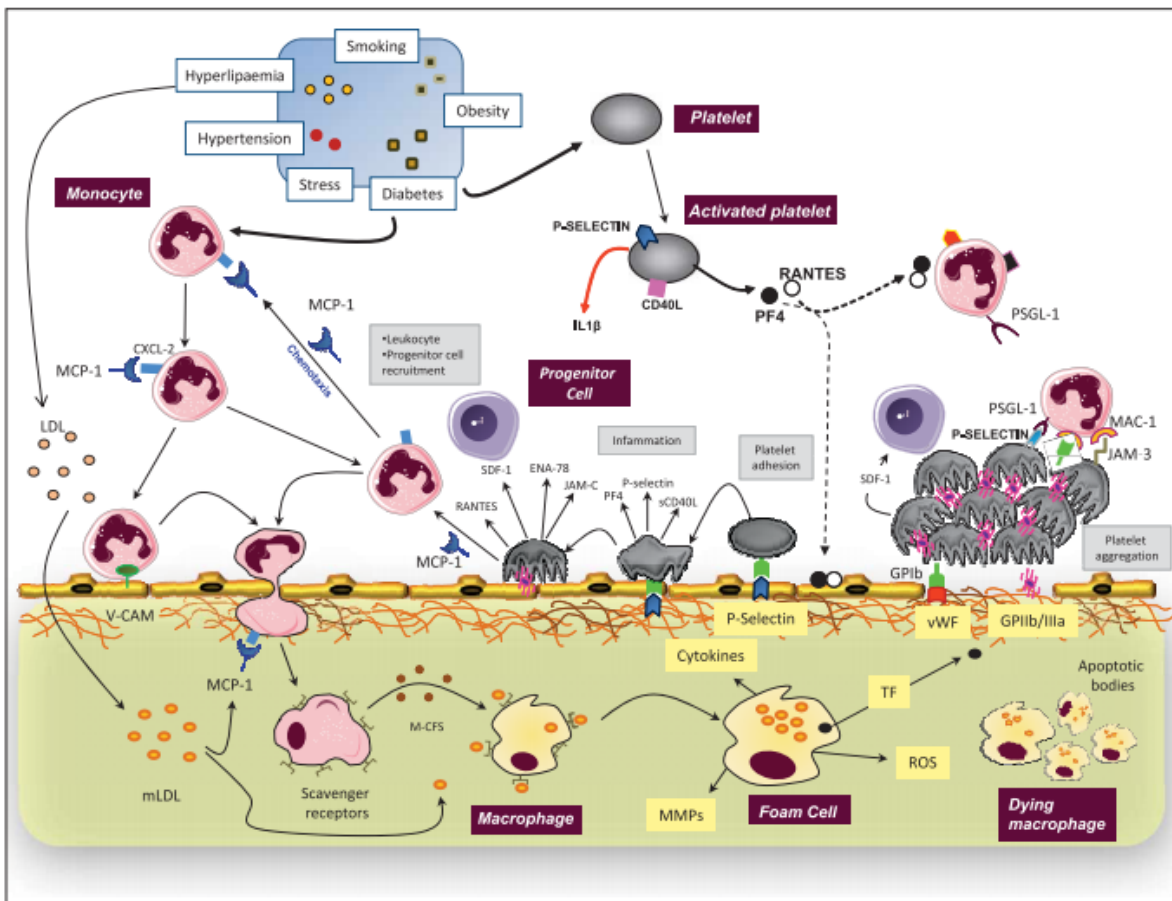


Figura 9. Mecanismos de inflamación en el desarrollo SICA. Tomada de Cardiovascular Research Center (40)

2.4.5 Trombosis

El conjunto de acontecimientos que llevan a la formación, la ruptura o erosión de un trombo y desarrollan una serie de eventos que van desde la oclusión total o parcial de una arteria coronaria hasta finalizar con un evento isquémico, se le conoce como trombosis ⁽⁴⁹⁾.

A medida que evoluciona la aterosclerosis las características estructurales, moleculares y bioquímicas de una placa ateromatosa cambian significativamente comparado con el inicio de su conformación. La formación del centro lipídico es esencial en el desarrollo de la placa propensa a la ruptura, esta estructura está conformada por macrófagos muertos cargados de lípidos,

células espumosas y células multinucleadas, este núcleo rico en lípidos está rodeado por una capa fibrosa compuesta principalmente por células del músculo liso, fibras de colágeno que le da resistencia e impide la ruptura de la placa ^(48,50). No obstante, esta placa se vuelve vulnerable cuando presenta un riesgo de sufrir una fractura y desencadenar fenómenos altamente trombogénicos, ocasionados por la acumulación excesiva de lípidos en el núcleo provenientes de células espumosas, la apoptosis de células del músculo liso, el adelgazamiento de la capa fibrosa que recubre al centro lipídico, una alta concentración de células inflamatorias que promueven la actividad de metaloproteasas, el aumento en la degradación de colágeno y los altos niveles de expresión del factor tisular ^(22,51). La ruptura de una placa va seguida de una hemorragia intralesional a través de su superficie rota, esto condiciona a que ocurra la adherencia de plaquetas en el lugar de la lesión. El principal receptor plaquetario en el endotelio es la denominada glicoproteína Ib-IX que se une al factor Von Willebrand en la pared arterial ⁽⁵²⁾, este último sufre cambios en su superficie, contribuyendo a la constante adhesión de las plaquetas. Una vez depositadas las plaquetas, éstas se extienden para cubrir la mayor parte de la lesión liberando el contenido de los gránulos intracelulares, con lo cual contribuyen al inicio del proceso de la trombosis. Además, la lesión arterial expone el factor VII de coagulación al factor tisular, este último participa en la actividad enzimática del factor VIIa para la activación de factores IX y X. Al activar el factor X se generan pequeñas cantidades de trombina, esto puede desencadenar la activación de cofactores V y VIII de coagulación, generando mayor cantidad de trombina, esta a su vez tiene un efecto agonista que media el reclutamiento de plaquetas, por lo que un incremento en los niveles de trombina conlleva a un aumento en la adhesión plaquetaria contribuyendo al incremento en volumen del trombo. El desarrollo de un trombo es un balance entre dos fuerzas opuestas, una que promueve la

propagación de éste y las fuerzas opuestas que lo rodean y disminuyen su tamaño. El resultado final dependerá de la magnitud de cada una de estas fuerzas ya sea provocando la oclusión total de la arteria, un trombo mural o la disolución del coágulo ^(38,50,51). (Figura 10)

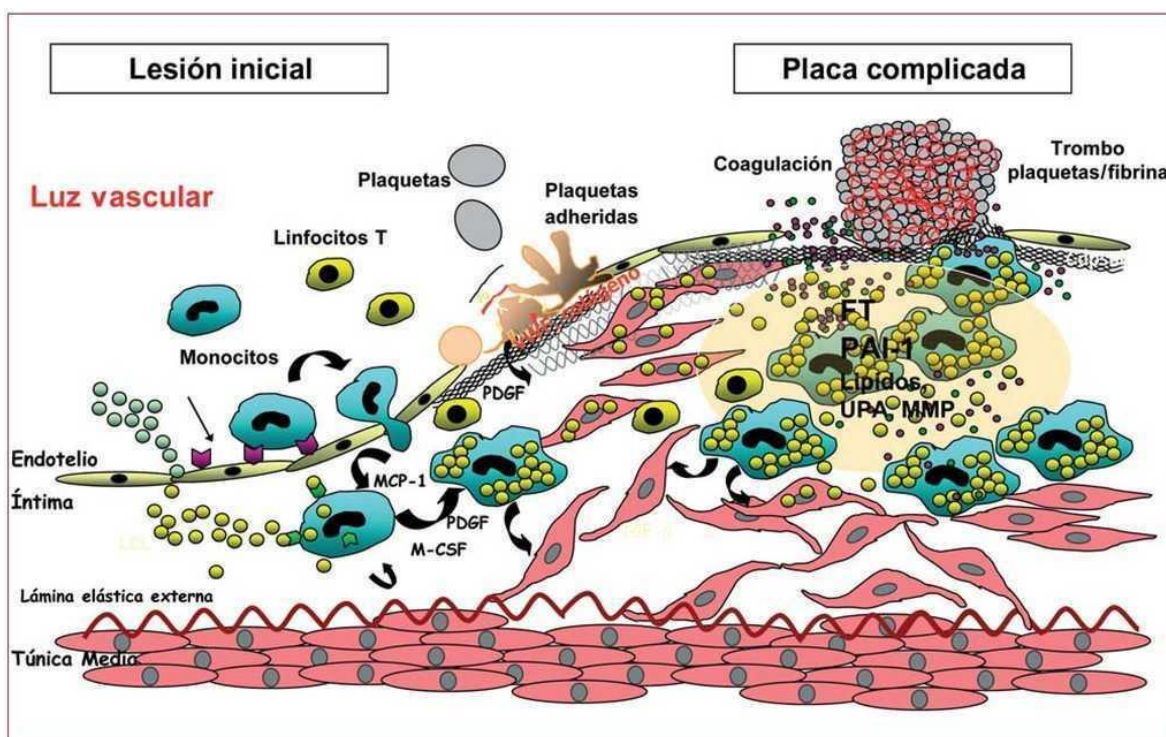


Figura 10. Representación de la trombosis en el proceso aterosclerótico. Tomada de Revista Opción Médica ⁽⁵³⁾.

2.5 Estudios de susceptibilidad genética

El SICA es una enfermedad de etiología multifactorial, la cual no corresponde con los patrones de herencia definido que se observan en las enfermedades mendelianas, a pesar de esto, se sabe que el componente genético y variantes comunes como lo son los polimorfismos desempeñan

un papel determinante en la susceptibilidad a desarrollar un síndrome isquémico coronario agudo. Los polimorfismos son variaciones alélicas producto de mutaciones en una secuencia de DNA en algunos individuos, se transmiten a la descendencia y adquieren cierta frecuencia en la población tras múltiples generaciones, un polimorfismo es considerado como tal cuando la frecuencia de uno de sus alelos es superior al 1% ⁽⁵⁴⁾. Los polimorfismos más frecuentes son cambios de una única base. A estos se les llama polimorfismos de un solo nucleótido (*single nucleotide polymorphism* [SNP]). Otros polimorfismos son repeticiones, en un número de variable de veces, de una secuencia corta (*variable number tandem repeat* [VNTR]), los individuos normales suelen tener menos de 40 repeticiones, mientras que los afectados tienen entre 100 y 1000 repeticiones. En otras ocasiones, algunos polimorfismos se generan a partir de deleciones o inserciones de secuencias cortas de nucleótidos. Si un SNP ocurre en una región codificante puede provocar un cambio de aminoácido en la proteína resultante, y ello puede resultar en una modificación de su actividad o función. Los cambios también pueden ocurrir en una zona promotora del gen y modificar su expresión, estos sitios promotores modulan el proceso de transcripción de DNA a RNA. Por otra lado, los cambios pueden estar en un intrón, aunque no se traduce a proteína, cambios en su estructura modulan la expresión del gen, algunos cambios pueden ser silentes y no tienen repercusiones funcionales ⁽⁵⁴⁾.

En las últimas dos décadas, algunos estudios han reportado genes candidatos con diferentes polimorfismos implicados en el metabolismo de lípidos que desempeñan un papel fundamental en el desarrollo del SICA y podrían estar participando como marcadores de susceptibilidad para esta patología. Algunos de ellos son Apo -B (apolipoproteína B), Apo-E

(apolipoproteína E), LPL (lipoprotein – lipasa), LRP 1(lipoprotein receptor protein 1), CETP (proteína que transfiere ésteres de colesterol)⁽⁵⁵⁾. Además, diversos estudios han reportado que existen otros genes implicados en la regulación de la síntesis, homeostasis y el metabolismo de lípidos y que pueden modificar de manera drástica el perfil lipídico en el plasma sanguíneo. Tales cambios se han observado en los niveles de colesterol, LDL-C, HDL-C y triglicéridos, siendo estos importantes marcadores bioquímicos para el diagnóstico del SICA, dado que se ha demostrado que los altos niveles de estas moléculas pueden aumentar el riesgo a padecer esta enfermedad. Algunos de estos genes pertenecen a la familia de proteínas de unión a elementos reguladores de esterol (SREBP´s), que participan en los procesos de biosíntesis, captación y homeostasis del colesterol regulados por mecanismos transcripcionales a través de un control de retroalimentación negativa. Los SREBP´s son sintetizados como formas precursoras inactivas que se encuentran ancladas en la membrana del retículo endoplásmico (RE) y son sintetizados en diferentes órganos, como hígado, intestinos, glándula supradrenal, cerebro y gónadas ⁽⁵⁶⁾. Los SREBP´s están organizados en tres dominios: el dominio amino terminal (NH₂-) que está orientado hacia el citosol y consta de unos 480 aminoácidos, este dominio contiene al factor de transcripción con una estructura de hélice-bucle-hélice-cremallera de leucina (bHLH–Zip) de dimerización y unión al DNA. El segundo dominio consiste en dos hélices transmembranales de carácter hidrófobo que están unidas por un bucle que se proyectan hacia el lumen del RE. Por último, el dominio carboxilo terminal (COOH-) de unos 590 aminoácidos, se encuentra orientado hacia el citosol, además interacciona con el dominio COOH- terminal de la proteína SCAP (SREBP cleavage-activating protein), situada también en el RE, que actúa como sensor de los niveles de esteroides

y escolta a los SREBP's durante su activación postraducciona. A su vez en presencia de esterole el complejo SREBP-SCAP permanece a unido a la proteina INSIG reteniendo al complejo en la membrana del reticulo endoplasmatico ⁽⁵⁷⁾. (Figura 11)

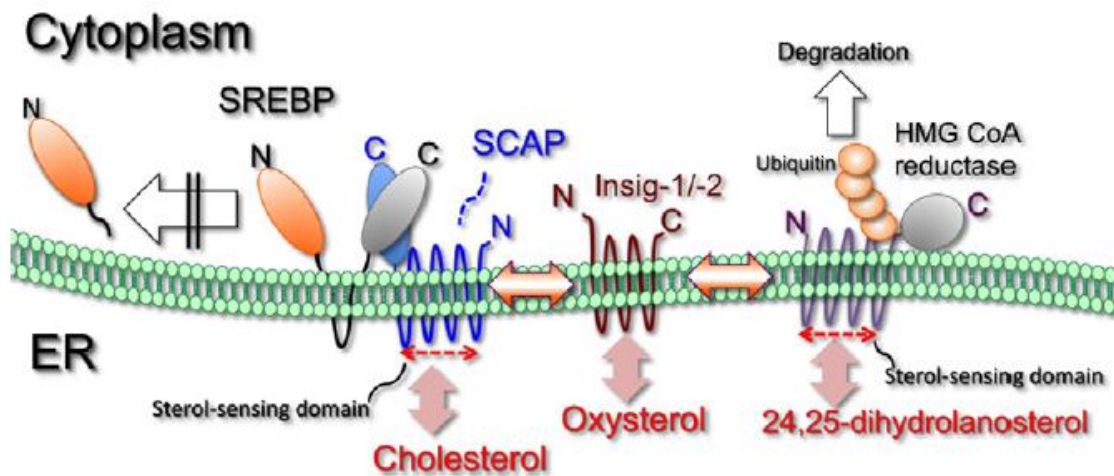


Figura 11. Interacción del complejo SREBP-SCAP en la membrana del RE. Tomada de: Revista Archive Biochemistry and Biophysics ⁽⁵⁶⁾.

Cuando los niveles intracelulares de esterole disminuyen, la proteina SCAP sufre una modificación conformacional que le libera de su unión con las proteinas INSIG de forma que el complejo SREBP-SCAP son transportados en vesículas COPII hacia el aparato de Golgi, una vez que el complejo este unido a la membrana de Golgi SREBP sufre dos escisiones proteolíticas, la proteasa del sitio 1 (SIP1) escinde residuos de serina y leucina de SREBP en el medio de su bucle hidrófilo rompiendo el enlace covalente que mantiene unidos a los dominios transmembranales, el segundo corte es por acción de una metaloproteasa transmembrana dependiente de zinc (SIP2) que escinde en la región intramembrana del lado citoplasmático. Esto libera en el citosol al dominio NH₂ maduro que contiene el factor de transcripción (bHLH-Zip), asimismo

interacciona con importina, permitiendo su translocación al núcleo ⁽⁵⁸⁾. (Figura 12)

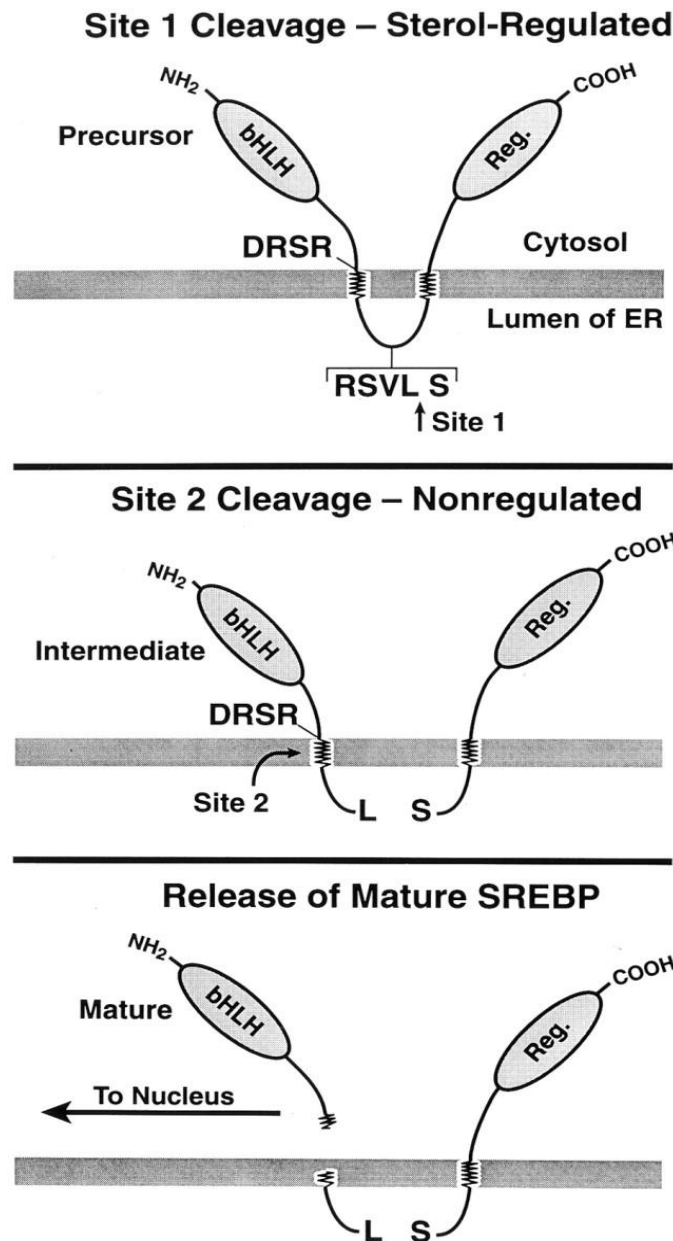


Figura 12. Modelo de la escisión proteolítica para la liberación del factor de transcripción SREBP. Tomada de revista Cell ⁽⁵⁸⁾.

Una vez en el núcleo SREBP actúa como factor de transcripción uniéndose a cajas E y elementos reguladores de esteroides (SRE) promoviendo la activación de genes implicados en la síntesis y captación de colesterol,

restituyendo los niveles de esteroides en su defecto. La familia SREBP está constituida por dos miembros, SREBP-1 y SREBP-2 que son codificados por dos genes SREBF-1 y SREF-2 respectivamente, cada miembro comparte similitudes en su estructura básica ⁽⁵⁸⁾. (Figura 13)

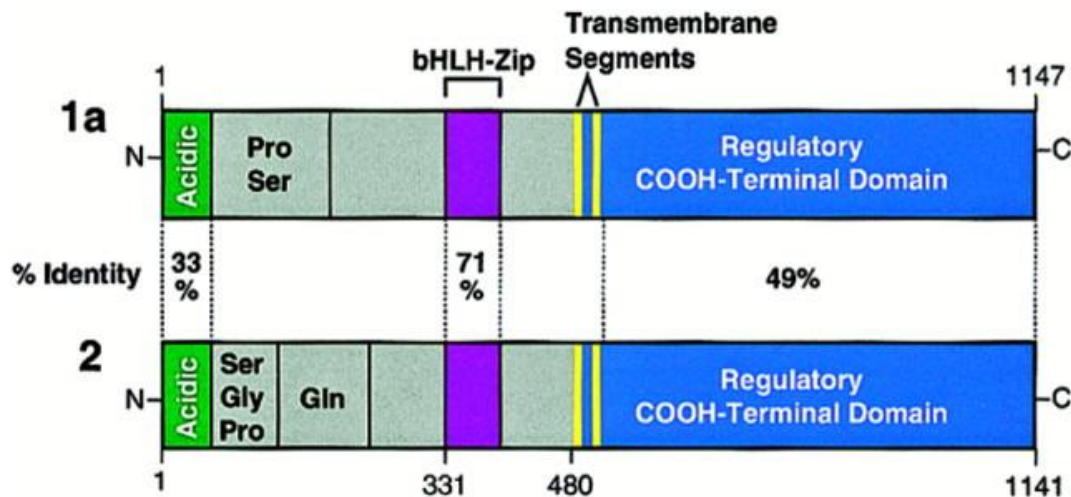


Figura 13. Estructura básica de la proteína SREBP con dos miembros de la familia. Tomada de revista: Cell ⁽⁵⁸⁾.

Asimismo, se tienen descritas tres isoformas SREBP-1a, SREBP-1c y SREBP-2 cada una cumple con distintos roles en el mantenimiento de lípidos. Las isoformas que están ligadas a la familia SREBP-1 están involucradas en la activación de genes de enzimas que regulan la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos mientras que la forma SREBP-2 está directamente relacionada con los genes que regulan la homeostasis del colesterol ⁽⁵⁹⁻⁶¹⁾. Algunos de los genes que regulan estos miembros participan en la expresión del receptor de LDL, actividad de enzimas 3-Hidroxi-3-metilglutaril coenzima A sintasa (HMG-CoA sintasa), 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa), farnesil difosfato sintasa y la escualeno sintasa. Además, se ha encontrado que los SREBP modulan la transcripción de genes que codifican para las enzimas de la síntesis y captura de ácidos grasos, como la acetil CoA

carboxilasa, la esteroil CoA desaturasa-1 y la lipoprotein lipasa, así como los genes receptores de la molécula de HDL entre otros ⁽⁶²⁾.

Se sabe de la estrecha relación que guarda la proteína SREBP-2 con el control y homeostasis del colesterol, por lo que nuestro objetivo principal de este trabajo es estudiar los polimorfismos del gen SREBF-2 que pueden estar participando en la modificación del perfil lipídico, y por tanto ser un marcador de susceptibilidad a desarrollar un síndrome isquémico coronario agudo.

El gen SREBF-2 se localiza en el brazo largo del cromosoma 22, en la región 1, banda 3, se encuentra entre el par de bases 41,825,656 y 41,914,713 ⁽⁶³⁾. Además, contiene un total de 19 exones y 18 intrones ⁽⁶⁴⁾. (Figura 14)

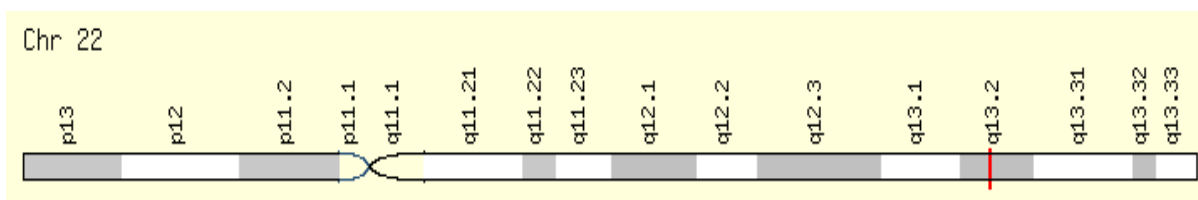


Figura 14. Localización del gen SREBF-2. Tomada de: Gene Cards ⁽⁶⁵⁾.

SREBF-2 participa en la activación de un amplio espectro de moléculas que están involucradas en la biosíntesis de colesterol, regula la actividad de la HMG-CoA reductasa, la cual constituye una enzima importante en la síntesis de *novo* de colesterol debido a que convierte HMG-CoA en mevalonato que a través de una serie de reacciones se convierte en pirofosfato de isopentenilo esta se polimeriza y modifica para dar lugar a los 27 carbonos que constituyen a la molécula del colesterol ⁽⁵⁸⁾. Igualmente, SREBF-2 induce la expresión del promotor de ácido graso sintetasa, una enzima importante en la formación de ácidos grasos y triglicéridos ⁽⁶⁶⁾. Asimismo SREBF-2 está involucrado en la

expresión de receptores para el reconocimiento de moléculas de LDL, HDL y quilomicrones ⁽⁶⁷⁾. Además, se tiene evidencia que SREBF-2 participa en el incremento de moléculas de HDL en plasma a partir de su síntesis en el tejido hepático ⁽⁵⁶⁾. Sin lugar a dudas el hígado es el principal órgano que se encarga de la distribución y suministro de lípidos a todo el organismo. La relación del factor de transcripción de unión a elementos reguladores de esteroides (SREBF-2) respecto a los niveles de riesgo a desencadenar SICA condujeron a la investigación de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en este gen, dado puede influir en la regulación de los niveles de colesterol total, LDL-C, HDL-C y triglicéridos en plasma sanguíneo. En la actualidad la naturaleza del SICA está bien establecida pero el agente(s) que incitan a la formación de la placa aterosclerótica, la disfunción endotelial y la inflamación siguen siendo en gran medida desconocido. No obstante, estudios han demostrado el papel que juegan las proteínas de unión al elemento regulador de esterol (SREBP's) puesto que su función principal es regular la biosíntesis del colesterol, ácidos grasos y triglicéridos. Aunado a esto, existen diversos estudios de asociación del gen SREBF-2 con la susceptibilidad a desarrollar una placa aterosclerótica, se tiene reportado que el polimorfismo 1784 G/C (rs2228314) causa una sustitución de glicina por alanina en la posición 595 del aminoácido (G595A) modificando la estructura de la proteína SREBP-2 causando una alteración en los niveles de colesterol, LDL-C, además se asoció significativamente con el grosor de la íntima arterial en pacientes con diagnóstico de hipercolesterolemia ⁽⁶⁸⁾. De igual manera, se reporta que este polimorfismo tiene un impacto significativo en los niveles de colesterol total en sujetos hipercolesterolemicos en la población de Suiza e Israel, el aumento de CT puede estar influenciado por la disminución de la expresión del receptor de LDL como consecuencia disminuye la captación de LDL y aumentan los niveles de colesterol plasmático ⁽⁶⁹⁾. En otro estudio en

la población China se evaluó la asociación del polimorfismo (rs4822063) y (rs2228314) del gen SREBF-2 con el riesgo a desarrollar cardiopatía coronaria (CHD) los resultados demostraron una asociación significativa con la enfermedad y niveles elevados de lípidos específicamente LDL-C ^(70,71) . Asimismo en la población china recientemente se ha reportado la asociación del polimorfismo (rs2228314) a desarrollar enfermedad del hígado graso no alcohólico (HGNA), afectando de manera puntual la función de SREBP en la síntesis de lípidos lo que promueve la formación cristales de colesterol que dañan el tejido hepático ⁽⁷¹⁾. Por otro lado, en una población iraní se han identificado dos SNP's de SREBF-2 (rs2267439 y rs2267443) que se asocian con el riesgo a padecer diabetes mellitus tipo 2 debido al aumento en la concentración de colesterol siendo este un indicio importante en la aparición de la patogenia ⁽⁷²⁾. Además, estudios recientes en pacientes con diabetes mellitus 2 demostraron que la sobreexpresión de mRNA en el gen SREBF-2, conduce al riesgo a desarrollar una cardiopatía isquémica coronaria puesto que presentan altos niveles de LDL-C, colesterol total, triglicéridos y presentan bajos niveles de HDL-C ⁽⁷³⁾. En este contexto nosotros decidimos estudiar algunos de sitios polimórficos que se tienen bien establecidos en el gen SREBF-2 en la población mexicana, dado que la carga genética de nuestra población nos hace diferentes a las demás poblaciones donde se han llevado dichos estudios. Fundamentalmente los polimorfismos que estudiaremos serán: dos sitios (rs2267439 y rs2267443) localizados en la región intrónica y el último en la región codificante del gen (rs2228314). El propósito de este estudio es evaluar la participación de estos tres polimorfismos del gen SREBF-2 en la susceptibilidad genética al desarrollo del síndrome isquémico coronario agudo (SICA).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

De acuerdo a los antecedentes previos en este proyecto decidimos estudiar el gen SREBF-2 que participa en la biosíntesis de colesterol y triglicéridos. Conforme a los datos obtenidos en la literatura, los SREBF's son clave en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular. Por tal motivo, nuestro planteamiento del problema va enfocado hacia el análisis genético de los polimorfismos que presenta este gen y su susceptibilidad en el desarrollo del síndrome isquémico coronario agudo (SICA) en la población mexicana.

4. JUSTIFICACIÓN

El SICA es una de las principales causas de muerte a nivel mundial. Según datos de la Secretaría de Salud de la República Mexicana, en México se registran 50 mil muertes al año por algún evento cardiovascular causa del SICA. Este padecimiento es de origen multifactorial, en el cual participan factores ambientales, bioquímicos y genéticos. El estudio de los polimorfismos presentes en el gen SREBF-2 que codifican para moléculas relevantes en el desarrollo de la placa aterosclerótica serán de mucha importancia para definir si estos pueden ser marcadores de susceptibilidad y/o resistencia en el desarrollo del SICA y que un futuro permitirá mejores y más dirigidos tratamientos. Algunos de los polimorfismos que se pretenden estudiar en este proyecto ya se han reportado en la literatura de manera aislada y los hallazgos reportados hasta el momento han sido controversiales entre las diferentes poblaciones de estudio la medición del perfil lipídico en plasma. En el presente proyecto estudiaremos algunos polimorfismos previamente reportados y otros que no han sido estudiados en este tipo de pacientes, con la finalidad de identificar si uno o más sitios polimórficos presentes en el gen propuesto en este proyecto participan en la susceptibilidad a desarrollar SICA en la población mexicana. Así mismo se pretende identificar si existe algún haplotipo que tenga un efecto en la susceptibilidad a desarrollar SICA en la población de estudio. No obstante, con la finalidad de comprobar los hallazgos obtenidos se hará la medición del perfil lipídico (Colesterol, HDL-C, LDL-C y Triglicéridos) en plasma con la finalidad de comprobar si los resultados genéticos tienen una consecuencia en los niveles de estas moléculas.

5. HIPÓTESIS

Si la molécula codificada por el gen SREBF-2 regulan el perfil lipídico que conlleva al desarrollo de la placa aterosclerótica, y su gen presenta sitios polimórficos que tiene un efecto en su producción y/o función, algunos de sus alelos podrían diferenciar a los pacientes de los individuos control y ser por tanto marcadores de susceptibilidad para este padecimiento en la población mexicana.

6. OBJETIVO GENERAL

Determinar el papel de los polimorfismos presentes en el gen SREBF-2 en la susceptibilidad al desarrollo del SICA en la población mexicana y establecer su relación con el perfil lipídico de esta molécula en los individuos de estudio.

6.1 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Generar una genoteca de muestras de pacientes con diagnóstico de síndrome isquémico coronario agudo e individuos control. Ambos grupos pareados por edad, género y origen étnico. Así mismo, generar una base de datos clínicos y demográficos de los pacientes incluidos en este estudio.
2. Determinar la frecuencia alélica y genotípica de los sitios polimórficos presentes en el gen SREBF-2 en un grupo de pacientes mexicanos con síndrome isquémico coronario agudo.
3. Determinar estas mismas variantes en el grupo de individuos control
4. Comparar las frecuencias definidas entre los dos grupos de estudio y establecer si existe algún polimorfismo de los genes estudiados que confieren susceptibilidad o resistencia para el desarrollo del SICA

5. Determinar los modelos de herencia (co-dominante, dominante, recesivo, heterocigoto y aditivo) y analizar el desequilibrio de ligamiento entre los diferentes polimorfismos del gen estudiado y construir distintos haplotipos.

6. Definir si algún haplotipo pudieran estar confiriendo susceptibilidad al desarrollo del SICA.

7. Establecer si los genotipos de los polimorfismos estudiados tienen un efecto en los niveles del perfil lipídico.

7. METODOLOGÍA

7.1 Tipo de estudio

El diseño experimental fue de tipo prospectivo, transversal y comparativo.

7.2 Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión paciente: Edad mayor de 40 años y menos de 70 años. Diagnóstico de infarto agudo al miocardio (IAM) con elevación en el segmento ST en un electrocardiograma, sintomatología previa al diagnóstico: dolor torácico, diaforesis, sensación de náuseas y/o vómito, sensación de orinar o defecación.

Criterios de exclusión paciente: Que se encuentre en periodo de embarazo o lactancia. Condición médica que imposibilite completar el presente estudio. Sujetos con incremento elevado de hemorragia severa y antecedentes de accidentes cerebrovasculares.

Criterios de inclusión control: Personas de edad mayor de 40 y menor a 70 años. Pacientes con diagnóstico temprano de aterosclerosis.

Criterios de exclusión control: Que padezca alguna otra enfermedad.

7.3 Variables

Dependientes: ser paciente o control

Independientes: polimorfismos del gen SREBF-2 (rs2267439 y rs2267443) localizados en la región intrónica y el último en la región codificante (rs2228314). Factores que intervienen: edad, género, tabaquismo, alcoholismo, diabetes, hipertensión arterial, índice de masa corporal, presión arterial diastólica y sistólica, niveles de glucosa, colesterol total,

niveles de HDL-C, LDL-C y triglicéridos.

7.4 Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra aproximado se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula, utilizando un paquete estadístico para el cálculo de la misma.

a) Fórmula para un estudio de prevalencia de proporciones.

$$n = \frac{N Z^2 p (1-P)}{D^2 (N-1) + Zc^2 P (1-P)}$$

n= Efecto del diseño (Tamaño de la muestra)

N= Población total

Z= Valor de Z (corresponde al valor de confianza)

D= Precisión absoluta (valor de confianza deseado, 5%)

P= Proporción esperada de la población (100%)

Para la cual los datos necesarios son:

- Precisión deseada %
- Prevalencia esperada
- Efecto de diseño
- Nivel de confianza

De acuerdo al cálculo de tamaño de muestra se estudió la cantidad de 625 pacientes y 700 individuos control, de ambos géneros y con edad de 40 a 65 años. Los pacientes con diagnóstico de SICA, definida por historia personal de infarto al miocardio, angioplastía, cirugía de revascularización, o estenosis

coronaria > al 50% determinada por angiografía, serán seleccionados de la consulta externa y de los pacientes que acuden para cateterismo diagnóstico o terapéutico al Departamento de Hemodinámica del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez.

7.5 Material

Material:

- Tubos eppendorf de 1.5 mL
- Tubos Falcon de 15 mL
- Vaso de precipitados de 50 mL
- Vaso de precipitados de 150 mL
- Puntas estériles de micropipeta
- Placas de 96 pozos para PCR Tiempo Real Applied Biosystem

Instrumentos:

- Micropipeta de 0.5-10 uL
- Micropipeta de 10 – 100 uL
- Micropipeta de 100- 1000 uL

Equipo:

- Espectrofotómetro Nanodrop 1000
- Microcentrifuga eppendorf
- Vortex VELP
- DNA SpeedVac
- Orbitron Rotator II
- Termociclador PCR Tiempo Real 7300 Applied Biosystem

Reactivos:

- TKM 1 (Tris-HCl, KCl, MgCl₂, EDTA)
- TKM 2 (Tris-HCl, KCl, MgCl₂, NaCl, EDTA)
- NaCl 5M. Baker
- SDS
- Etanol absoluto. Baker
- Etanol al 70%. Baker
- TE (Tris, HCl, EDTA)
- Proteínasa. QIAGEN
- Buffer Lysis. QIAGEN
- Buffer 1 y 2. QIAGEN
- Buffer de elución. QIAGEN
- Etanol al 70% grado biología molecular
- Master Mix (AmpliTaq polimerasa, dNTP's con dUTP, referencia pasiva ROX, Buffer, MgCl). Applied Biosystem
- Sondas TaqMan para los sitios polimórficos (rs2267439, rs2267443 y rs2228314)
- H₂O Inyectable

Material biológico:

- Sangre periférica

7.6. Toma de muestra sanguínea

La toma de muestra de sangre periférica se hizo por la técnica de venopunción para la extracción del DNA y del plasma. Dichas muestras fueron obtenidas de los servicios del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”. Los pacientes con diagnóstico de SICA se tomaron de la Consulta externa y la Unidad Coronaria, mientras que los controles se tomaron del Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”.

7.7. Extracción del DNA

Una vez que se obtuvo la muestra de sangre periférica, se procedió a hacer la extracción de DNA de las muestras de los grupos de estudio ya mencionados, se realizó por dos métodos previamente estandarizados en el Laboratorio de Genómica del Instituto: método no enzimático ⁽⁷⁴⁾ y el método por kit (QIAmp ® DNA Blood Mini Kit) ⁽⁷⁵⁾ que consisten en los siguientes pasos:

Método no enzimático:

- Se centrifugó la muestra a 3000 rpm durante 10 minutos para separar el plasma.
- Para separar las células nucleadas se agregó TKM 1 a la muestra y se traspasó a un tubo falcon.
- Después se adicionó 130 µL de Tritón X-100.
- Se colocó durante 10 minutos en el Orbitron Rotator II.
- Después se centrifugó durante 10 minutos y se desechó el sobrenadante.

- EL botón celular resultante se resuspendió en TKM-1 y se centrifugo nuevamente a 3000 rpm durante 5 minutos. Este paso se repitió una y dos veces para obtener un botón blanco.
- Posteriormente se agregó 800 μL de TKM 2 y se traspasó todo el contenido a un tubo eppendorf de 1.5 mL.
- Se adicionó 50 μL de SDS 10% y se agitó en el vortex.
- Se incubó la muestra durante 10 minutos y se agitó nuevamente en el vortex para resuspender el botón.
- Después se adicionó 300 μL de NaCl 5M y se agitó en el vortex para posteriormente colocar la muestra en la microcentrifuga a 12000 rpm durante 5 minutos.
- El sobrenadante que se obtuvo se traspasó a dos tubos eppendorf de 1.5 mL (se agregó aproximadamente 525 μL a cada tubo).
- A cada tubo eppendorf se le adicionó 900 μL de etanol absoluto a temperatura ambiente y se invirtió de un lado a otro durante 20 veces seguidas para propiciar la precipitación del DNA.
- Posteriormente se centrifugaron los tubos a 4 °C a 12000 rpm durante 10 minutos.
- Se desechó el sobrenadante y se adicionó 900 μL de etanol al 70% frío a cada tubo.
- Nuevamente se colocó cada tubo en la microcentrífuga a 12000 rpm durante 5 minutos.
- El sobrenadante obtenido se descartó, y posteriormente se introdujeron en el SpeedVac durante 10 minutos para quitar el exceso de etanol en la muestra.
- Se agregó 150 μL de TE para diluir el DNA.

- Se incubó cada tubo a 65 °C durante 15 minutos.
- Se cuantificó la concentración del DNA en el espectrofotómetro Nanodrop 1000 a 260 nm (la relación 260/280 nos indica la pureza de DNA y el valor debe encontrarse entre 1.7 a 2.0).
- Por último, se hizo la dilución del DNA donde se llevó a cada muestra a una concentración de 10 ng/μL para la determinación de los polimorfismos por la técnica PCR Tiempo Real.

Método por kit (QIAmp ® DNA Blood Mini Kit):

- Se adicionó 20 μL de proteinasa QIAGEN y se agregó en un tubo eppendorf nuevo.
- Posteriormente se agregó 300 μL de tejido periférico al tubo eppendorf.
- Se mezcló con el vortex.
- Después se agregó 200 μL de Buffer de Lisis (Buffer A1 QIAGEN) y se mezcló con el vortex para integrar el contenido del tubo.
- Se incubó durante 15 minutos a una temperatura de 55.5°C.
- Se agregó 200 μL de etanol absoluto.
- Se centrifugó durante 75 segundos en el spin (mini Spin plus eppendorf).
- Posteriormente se pasó el tubo a una columna y centrifugó a 8000 rcf durante un minuto a una temperatura de 27°C.
- Se cambió el tubo colector y se agregó 800 μL de Buffer 1 QIAGEN.
- Se centrifugó a 8000 rcf durante un minuto y nuevamente se cambió el tubo colector.
- Después se agregó 500 μL de Buffer 2 QIAGEN.

- Se centrifugó a 20000 rcf durante 5 minutos a una temperatura de 23°C.
- Posteriormente se trasladó la columna a un tubo eppendorf.
- Se adicionó 100 µL de Buffer de Elución QIAGEN.
- Finalmente se centrifugó a 8000 rcf durante un minuto, la columna se desechó y se obtuvo la muestra de DNA.
- Se cuantificó el material genético en el espectrofotómetro Nanodrop 1000 con los mismos parámetros de relación y pureza.
- Por último, se hizo la dilución del DNA donde se llevó a cada muestra a una concentración de 10 ng/µL para la determinación de los polimorfismos por la técnica PCR Tiempo Real.

7.8 Determinación de los polimorfismos genéticos

Los polimorfismos que se estudiaron para el gen SREBF-2 fueron los siguientes: IVSI 8407 C/T (rs2267439), IVSI2 1667 A/G (rs2267443) y 1784 G/C Gly595Ala (rs2228314), estos sitios polimórficos fueron determinados por PCR Tiempo Real en un termociclador 7300 Real Time PCR System de la casa comercial Applied Biosystems. Para tal efecto, cada muestra de DNA genómico se amplificó por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando sondas TaqMan con actividad exonucleasa, que cubren la región donde se localiza el polimorfismo. El programa de amplificación para la reacción fue la siguiente: activación AmpErase UNG 50°C durante 5 minutos, etapa de desnaturalización del DNA 95°C durante 10 minutos, fase de alineamiento y elongación 95°C durante 15 segundos, y, por último, alineación y elongación final 60°C durante 1 minuto. Todo el proceso se realiza durante 40 ciclos.

7.9 Determinación del perfil lipídico

Después de haber recolectado las muestras de sangre de cada grupo de estudio se obtuvo el plasma dentro los 15 minutos posteriores a la toma de las muestras donde se mantuvieron en congelación a -80°C hasta el continuar con el análisis. Las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos se determinaron mediante ensayos enzimáticos / colorimétricos. Donde se usó el método de ácido fosfotungstico- Mg^{2+} para determinar las concentraciones de HDL-C. El LDL-C se estimó en las muestras con un nivel de triglicéridos inferior a 400 mg / dl, donde se utilizó la fórmula de Friedewald, modificada por De Long ⁽⁷⁶⁾. Las concentraciones de lípidos en plasma se determinaron dentro de las 24 horas posteriores a la recolección de la muestra de sangre. Seguimos las pautas del Panel de Tratamiento de Adultos (ATP II) del Proyecto Nacional de Educación sobre el Colesterol (NCEP) y, por lo tanto, definimos la dislipidemia con los siguientes niveles: colesterol > 200 mg / dl, LDL-C > 130 mg / dl, HDL-C < 40 mg / dl, y triglicéridos > 150 mg / dl.

7.10 Análisis estadístico

Las frecuencias genotípicas y alélicas del gen en estudio se obtuvieron por conteo directo. En cada grupo se evaluó el equilibrio Hardy-Weinberg por medio de la Chi-cuadrada (X^2). Las diferencias entre los grupos se determinaron por la prueba X^2 de Mantel-Haenzel, la cual combina tablas de contingencia 2x2 usando el programa estadístico EPIINFO (versión 7.2.2.6 USA). La prueba exacta de Fisher se utilizó cuando algún número en la tabla de contingencia fue menor de 5. El valor de $P \leq 0.05$ se consideró estadísticamente significativo. El riesgo relativo con intervalo de confianza del 95% (IC) fue evaluado con la razón de momios (RM) utilizando el paquete estadístico SPSS versión 22 y el

programa SNPStats (Instituto Catalán de Oncología, España). Las variables clínicas y el ajuste de riesgo presentes en el SICA se realizó con regresión logística. Así mismo, el análisis de desequilibrio de ligamiento y la construcción de los haplotipos se utilizó el programa Haploview 4.2 (Broad Institute of Massachusetts Institute of Technology and Harvard Institute, Cambridge, MA, USA).

8. RESULTADOS

En este estudio se analizaron un total de 1325 muestras, de las cuales 625 son pacientes con diagnóstico de SICA y 700 controles con diagnóstico de aterosclerosis. Las características clínicas y demográficas de los diferentes grupos de estudio se representan en la tabla 1, se observa que existe una diferencia significativa en la mediana de edad de los pacientes (57 años) contra los individuos control con una edad promedio de 54 años. Además, el IMC en los pacientes indico una mediana de 27 kg/m² siendo un valor más bajo cuando se comparó con la mediana (28 kg/m²) que corresponde al grupo de individuos control. Por otro lado, la mediana de la presión arterial en los pacientes fue estadísticamente mayor (130/80 mm Hg) cuando se comparó con la mediana del grupo control (115/72 mm Hg). Además, se observó que la mediana de los niveles de glucosa en los pacientes con SICA fue más elevado (127 mg/dL) que en el grupo de individuos controles (91 mg/dL). Por otro lado, el perfil lipídico reflejo que el nivel de colesterol total fue diferente entre los grupos de estudio, con una mayor concentración (188 mg/dL) en los individuos controles cuando se compararon con el grupo de pacientes (164 mg/dL). La mediana de los niveles de HDL-C y LDL-C fueron menores en el grupo de pacientes con SICA con 37 mg/dL y 103 mg/dL respectivamente cuando se compararon con los

niveles del grupo control con 42 mg/dL para HDL-C y 114kl mg/dL de LDL-C. Por último, no existieron diferencias significativas en los niveles de triglicéridos entre el grupo de pacientes e individuos control.

Tabla 1. Características bioquímicas y clínico-demográficas de los grupos de estudio.

Variables clínicas	SICA n=625	CON n=700	P-valor
	Mediana (percentil 25-75)	Mediana (percentil 25-75)	
<i>Edad</i>	57 (51-65)	54 (51-59)	<0.001
<i>IMC (kg/m2)</i>	27 (24-29)	28 (25-30)	<0.001
<i>Sistólica (mmHg)</i>	130 (114-149)	115 (106-126)	<0.001
<i>Diastólica (mmHg)</i>	80 (70-90)	72 (66-77)	<0.001
<i>Glucosa (mg/dL)</i>	127 (102-188)	91 (84-99)	<0.001
<i>Colesterol (mg/dL)</i>	164 (128-199)	188 (163-210)	<0.001
<i>HDL-C (mg/dL)</i>	37 (32-44)	42 (35-53)	<0.001
<i>LDL-C (mg/dL)</i>	103 (76-133)	114 (93-136)	<0.001
<i>Triglicéridos (mg/dL)</i>	149 (109-201)	151 (112-207)	0.45

Variables demográficas	SICA n=625 N (%)	CON n=700 N (%)	P-valor
<i>Género</i>			
Hombre	510 (81)	463 (66)	<0.0000001
Mujer	115 (18)	237 (33)	
<i>Fuma</i>	225 (36)	155 (22)	<0.0000001
<i>Diabetes Mellitus</i>	345 (55)	67 (9.5)	<0.0000001
<i>Hipertensión</i>	355 (56)	119 (17)	<0.0000001
<i>Dislipidemia</i>	534 (85)	501 (71)	<0.0000001

SICA-Síndrome isquémico coronario agudo, CON-controles. Estos datos indican la mediana y los percentiles 25-75 para cada grupo de estudio. P- valor se calculó con U de Mann Whitney para las variables continuas y chi cuadrado para las variables categóricas. P<0.05 se consideró estadísticamente significativo

Por otro lado, las características clínico demográficas demostraron que el 81% de los pacientes masculinos padecen SICA por lo que la frecuencia fue mayor con respecto al 18% que corresponde al género femenino. Además, el tabaquismo mostró mayor frecuencia (p= <0.0000001) en los pacientes (36%) en comparación con los controles (22%). También, se observó que el 56% de los pacientes padecen diabetes mellitus este resultado es significativamente mayor (p=<0.0000001) comparado con el grupo control con un porcentaje de

9.5%. Además, se observó que el 56% de los pacientes sufren de hipertensión, comparado con el 17% de los individuos controles. Por último, el porcentaje de pacientes que tienen dislipidemia (85%) reflejó una diferencia significativa ($p < 0.0000001$) contra el 71% que corresponde a los individuos control.

Por otra parte, las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos genéticos del gen SREBF-2 en los pacientes con SICA e individuos control se encontraron en equilibrio Hardy-Weinberg. Se observó una distribución similar en las frecuencias genotípicas y alélicas de los sitios polimórficos IVSI 8407 C/T (rs2267439) y IVSI2 1667 A/G (rs2267443) del gen SREBF-2 entre el grupo de pacientes con SICA e individuos del grupo control por ende no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. Sin embargo, el análisis del polimorfismo 1784 G/C (rs2228314) en la región codificante del gen SREBF-2 se observó una diferencia significativa entre los grupos de estudio. La frecuencia del alelo C fue menor en los individuos que padecen SICA cuando se comparó con la frecuencia del grupo control (RM=0.82, con IC 95%= 0.67-0.97, $p=0.02$). Asimismo, se observó un incremento en la frecuencia del alelo G y del genotipo GG en el grupo de pacientes con SICA cuando se comparó con la frecuencia del grupo de individuos control (RM=1.21, con IC 95%=1.02-1.43, $p=0.02$ y RM= 1.58, con IC 95%= 1.10-2.26, $p= 0.01$ respectivamente). (Tabla 2)

Tabla 2. Distribución alélica y genética de los pacientes versus individuos control.

SNP	SICA N (%)	Controles N (%)	RM (IC 95%)	Valor p
<i>SREBF-2 (rs2267439) C/T</i>				
Alelos	1238	1384		
T	1098 (88.6)	1252 (90.4)	0.82 (0.64-1.06)	0.13
C	140 (11.3)	132 (9.5)	1.2 (0.94-1.95)	0.13
Genotipo	619	692		
TT	489 (79)	564 (81.5)	0.85 (0.65-1.12)	0.25
TC	120 (19.3)	124 (17.9)	1.10 (0.83-1.45)	0.49
CC	10 (1.6)	4 (0.5)	2.82 (0.88-9.05)	0.06
<i>SREBF-2 (rs2228314) C/G</i>				
Alelos	1228	1378		
C	820 (66.7)	977 (70.9)	0.82 (0.69-0.97)	0.02
G	408 (33.2)	401 (29.19)	1.21 (1.02-1.43)	0.02
Genotipo	614	689		
CC	284 (46.2)	346 (50.2)	0.85 (0.68-1.06)	0.15
CG	252 (41)	285 (41.3)	0.98 (0.79-1.23)	0.9
GG	78 (12.7)	58 (8.4)	1.58 (1.10-2.26)	0.01
<i>SREBF-2 (rs2267443) A/G</i>				
Alelos	1236	1382		
G	995 (80.5)	1127 (81.5)	0.93 (0.76 -1.13)	0.49
A	241 (19.5)	255 (18.4)	1.07 (0.88-1.30)	0.49
Genotipo	618	691		
GG	399 (64.5)	465 (67.2)	0.88 (0.70-1.11)	0.29
GA	197 (31.8)	197 (28.5)	1.17 (0.92-1.48)	0.18
AA	22 (3.5)	29 (4.2)	0.84 (0.47-1.48)	0.55

SICA-Síndrome isquémico coronario agudo, RM-razón de momios, IC-Intervalo de confianza. Los valores P se calcularon con chi-cuadrado Mantel-Haenzel, y la razón de momios fue ajustada por genotipo.

Se realizó el análisis de riesgo utilizando regresión logística por medio de cinco modelos de herencia (codominante, dominante, recesivo, heterocigoto y aditivo) para sitio polimórfico rs2228314 G/C del gen SREBF-2, estos modelos fueron ajustados tomando en cuenta las variables de riesgo cardiovascular como género, edad, presión arterial, IMC, colesterol total, HDL-C y LDL-C. Asimismo, el análisis del polimorfismo rs2228314 G/C que se encuentra en la

región codificante del gen SREBF-2 indicó que bajo el modelo recesivo el genotipo GG se asoció con mayor riesgo a desarrollar SICA en comparación con los individuos del grupo control (RM=1.58, con IC 95%= 1.03-2.42, p= 0.03). De igual manera, bajo un modelo aditivo el genotipo GG presentó un determinado riesgo a padecer SICA (RM=1.26, con IC 95%= 1.03-1.53, p= 0.02) cuando se compara con el grupo control. Sin embargo, el modelo recesivo tuvo un riesgo más elevado a desencadenar SICA comparado con el modelo aditivo. (Tabla 3)

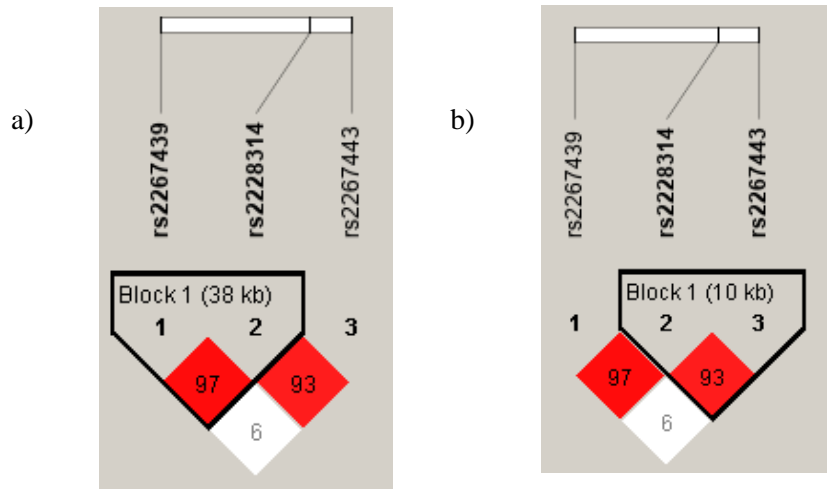
Tabla 3. Modelos de herencia para el polimorfismo del gen SREBF-2

<i>SREBF-2 (rs2228314) C/G</i>					
Modelo	Genotipo	SICA N (%)	Controles N (%)	RM(IC 95%)	Valor P
Codominante	CC	284 (46.2)	346 (50.2)	1	0.05
	CG	252 (41)	285 (41.4)	1.18 (0.89-1.56)	
	GG	78 (12.7)	58 (8.4)	1.70 (1.09-2.67)	
Dominante	CC	284 (46.2)	346 (50.2)	1	0.07
	CG-GG	330 (53.8)	343 (49.8)	1.27 (0.98-1.65)	
Recesivo	CC-CG	536 (87.3)	631 (91.6)	1	0.03
	GG	78 (12.7)	58 (8.4)	1.58 (1.03-2.42)	
Heterocigoto	CC-GG	362 (59)	404 (58.6)	1	0.6
	CG	252 (41)	285 (41.4)	1.07 (0.82-1.40)	
Aditivo	*	*	*	1.26 (1.03-1.53)	0.02

SICA-Síndrome isquémico coronario agudo, FAM-Alelo de menor frecuencia, RM-Razón de momios, IC-Intervalo de confianza. Los valores P se calcularon con analisis de regresion logistica, y la razon de momios fue ajustada por genero, edad, presion arterial, IMC, colesterol total, HDL-C y LDL-C.

Adicionalmente, se realizó el análisis del desequilibrio de ligamiento de los polimorfismos del gen SREBF-2 y se observó una fuerte evidencia de desequilibrio a una $D' = 0.97$ entre los polimorfismos rs2267439 C/T y rs2228314 G/C y una $D' = 0.93$ entre los sitios rs2228314 C/G y rs2267443 A/G. (Tabla 4)

Tabla 5. Análisis del desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos del gen SREBF-2



- a) Representa el desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos *rs2267439 C/T* y *rs2228314 C/G*
 b) Representa el desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos *rs2228314 C/G* y *rs2267443 A/G*

Se realizó el análisis del desequilibrio de ligamiento de los tres polimorfismos *rs2267439 C/T*, *rs2228314 C/G* y *rs2267443 A/G* del gen SREBF-2, dicho análisis se obtuvo cinco combinaciones de haplotipos de las cuales solo dos presentaron diferencias estadísticamente significativas. El haplotipo “TCG” presentó una diferencia significativa en la frecuencia de los pacientes con SICA cuando se comparó con la frecuencia del grupo control (RM=0.83, con IC 95%= 0.70-0.98, $p= 0.02$) dicho haplotipo le confirió un menor riesgo de desarrollar SICA, mientras que el haplotipo “TGG” presentó diferencias significativas entre las frecuencias de los grupos, este haplotipo se asoció con un mayor riesgo a desarrollar SICA comparado con los individuos del grupo control (RM=1.53, con IC 95%= 1.06-2.19, $p= 0.02$). (Tabla 6)

Tabla 6. Frecuencia de los haplotipos del gen SREBF-2

	SICA (n=614)	Controles (n=689)	RM (IC 95%)	Valor p
Haplotipo	Hf	Hf		
H1 (TCG)	0.658	0.658	0.83 (0.70-0.98)	0.02
H2 (TGA)	0.160	0.158	1.01 (0.82-1.25)	0.87
H3 (CGG)	0.086	0.074	1.18 (0.89-1.56)	0.27
H4 (TGG)	0.059	0.040	1.53 (1.06-2.19)	0.02
H5 (CGA)	0.027	0.019	1.43 (0.85-2.41)	0.21

SICA-Síndrome isquémico coronario agudo, Hf-Frecuencia del haplotipo, RM-Razón de momios, 95% IC-Intervalo de confianza. El orden de los haplotipos es en contexto a las posiciones que ocupan en el cromosoma (SREBF-2 (rs2267439) C/T, SREBF-2 (rs2228314) C/G y SREBF-2 (rs2267443) A/G).

9. DISCUSIÓN

En nuestros resultados, se observó una distribución similar de los polimorfismos rs2267439 C/T y rs2267443 A/G del gen SREBF-2 en pacientes con SICA e individuos control. No obstante, se observó que la presencia del alelo G y el genotipo GG bajo un modelo recesivo del polimorfismo rs2228314 G/C del gen SREBF-2 se asociaron con un riesgo a desarrollar SICA. En contraste con nuestros hallazgos, Robinet y colaboradores reportaron que la presencia del alelo C del sitio polimórfico rs2228314 C/G se asoció con el desarrollo del grosor de la íntima media arterial y la aterosclerosis carotídea temprana en una población francesa ⁽⁶⁸⁾. Del mismo modo, Miserez y colaboradores reportaron que la presencia del alelo C del SNP (rs2228314) contribuye al desarrollo de hipercolesterolemia y al aumento en los niveles de colesterol total en plasma en las poblaciones suizas e israelíes ⁽⁶⁹⁾. Asimismo, Fan y col demostraron que el alelo C del polimorfismo rs2228314 G/C del gen SREBF-2 en combinación con el alelo G del sitio polimórfico 2386 G/A del gen SCAP se asociaron con el desarrollo de aterosclerosis coronaria y el riesgo a

muerte súbita cardiaca en pacientes masculinos finlandeses con un promedio de 51 años de edad, los autores sugieren que la asociación puede deberse a la presencia de lesiones agudas en las arterias coronarias y trombosis en sujetos portadores con dichos alelos ⁽⁷⁷⁾. Del mismo modo, Friedlander y colaboradores reportaron que el alelo C del SNP rs2228314 G/C se observó una asociación de riesgo a desencadenar una enfermedad isquémica coronaria en hombres y mujeres de mediana edad en una población de Estados Unidos de América ⁽⁷⁸⁾, los autores sugieren que el riesgo a desarrollar este padecimiento se debe a que dicho polimorfismo se encuentra alterando a la región carboxilo terminal de la proteína SREBP, dicha región mantiene unión con la proteína SCAP, esta última se encarga de reclutar a la proteína SREBP hacia el aparato de Golgi para su escisión y la liberación de la región amino terminal que actúa como factor de transcripción, cuando existe una alteración en la proteína SREBP hay disminución en la tasa de escisión, por tanto hay una baja en la expresión de receptores de LDL lo que conduce a un incremento de colesterol en plasma y por ende a un riesgo a desarrollar una cardiopatía isquémica. Por otra parte, Chen y colaboradores ⁽⁷⁹⁾ evaluaron la asociación del sitio polimórfico rs2228314 G/C del gen SREBF-2 con la susceptibilidad a desarrollar una cardiopatía isquémica coronaria en una población china, dicho estudio reportó que existe una falta de asociación del alelo G, contrario a lo observado en nuestros hallazgos.

Respecto al análisis de haplotipos de los polimorfismos rs2267439 C/T, rs2228314 G/C y rs2267443 A/G del gen SREBF-2 se observó que el haplotipo “TGG” estaba asociado con mayor riesgo a desarrollar SICA. En contraste, el haplotipo “TCG” mostro una menor frecuencia en los pacientes que padecen SICA. Además, se observó que el haplotipo “TGG” difiere del “TCG” por la

presencia del alelo G, dicho alelo marca el haplotipo con un determinado riesgo, mientras que el alelo C caracteriza al haplotipo como un posible efecto protector. Estas evidencias experimentales demostraron una asociación entre el alelo G y el riesgo a desarrollar SICA. Este alelo tiene por lo tanto un papel importante en el desarrollo de la enfermedad. No obstante, no existen reportes de asociación de haplotipos de los polimorfismos del gen SREBF-2 con el desarrollo de SICA.

En este estudio, se observa que la asociación del polimorfismo rs2228314 G/C del gen SREBF-2 con este padecimiento es significativa, nosotros sugerimos que dicha asociación podría deberse a la interacción de los factores de riesgo cardiovasculares y los factores ambientales tales como el sedentarismo, el hábito de fumar y el estilo de vida. Asimismo, el hecho de que la distribución alélica de este sitio polimórfico sea diferente entre nuestros resultados y los publicados por los diferentes autores, puede deberse a la variación étnica de las poblaciones de estudio. En este contexto, los datos obtenidos del Centro Nacional de Información Biotecnológica mostraron que en la población mexicana para el polimorfismo rs2228314 G/C la frecuencia del alelo G (29%) es más baja comparado con las frecuencias de las poblaciones asiáticas y caucásicas (80% y 77% respectivamente) ⁽⁸⁰⁾. Cabe destacar que la población mexicana presenta características genéticas diferentes en las poblaciones que se han estudiado, debido a que nuestra carga genética está formada por una mezcla de genes que han estado en constante combinación por años, dicha mezcla está conformada por un 56% de genes amerindios, 40 % genes caucásicos y 4% de genes negroides, además de los diferentes estilos de vida y costumbres que hacen a ciertas poblaciones más susceptibles que otras a desarrollar ciertas enfermedades. Por lo tanto, los datos reportados en otras poblaciones, no son

aplicables a nuestra población ^(81,82).

10. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que los polimorfismos estudiados del gen SREBF-2, IVSI 8407 C/T (rs2267439) y IVSI2 1667 A/G (rs2267443) ambos situados en la región intrónica no muestran una asociación significativa con la enfermedad mientras que para el sitio polimórfico 1784 G/C (rs2228314) se asoció con una mayor susceptibilidad a desarrollar síndrome isquémico coronario agudo en la población mexicana.

1. Achar SA, Kundu S, Norcross WA. Diagnosis of Acute Coronary Syndrome. *Am Fam Phisician*. 2005;72:120–5.
2. Zouridakis E, Arroyo-Espliguero R, Fredericks S, Kaski J, Avanzas P. Markers of Inflammation and Rapid Coronary Artery Disease Progression in Patients with Stable Angina Pectoris. *Circulation*. 2007;110:1747–53.
3. Fuster V, L B, JJ B, JH C. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndrome. *N Engl J Med*. 1992;326:310–8.
4. Fuster V, Fayad Z, Badomin J. Acute coronary syndromes: biology. *Lancet*. 1999;353:115–9.
5. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;340:115–26.
6. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation*. 2001;104:365–72.
7. Bruschke A, Kramer J, Bal et al. The dynamics of progression of coronary atherosclerosis studied in 168 medically treated patients who underwent coronary arteriography three times. *J Am Hear*. 1989;117:296–305.
8. Mena J M. Revisión de las diferentes alternativas terapeuticas en el síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST [Internet]. Sociedad Iberoamericana de Información Científica. 2007. p. 1. Available from:

<http://www.siicsalud.com/des/expertoimpreso.php/80421>

9. BayerAG. Síndrome coronario agudo [Internet]. Thrombosis adviser. 2019. Available from: <https://www.thrombosisadviser.com/sindrome-coronario-agudo/>
10. Langer A, Freeman M, Amstrong P. ST segment shift in unstable angina: pathophysiology and association with coronary anatomy and hospital outcome. *J Am Collegue Cardiol.* 2003;13:1495–502.
11. World Health Organization. Las 10 principales causas de defunción [Internet]. Notas descriptivas. 2016. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
12. Mathers C, Lonca D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLos Med.* 2006;3(11):e 442.
13. Rosas M, Attie F. Enfermedad cardiovascular. Primera causa de muerte en adultos de México y el mundo. *Arch Cardiol México.* 2007;77:91–3.
14. Velázquez O, Rosas M. Prevalencia e interrelación de enfermedades crónicas no transmisibles y factores de riesgo cardiovascular en México: Resultados finales de la Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000. *Arch Cardiol México.* 2003;73:62–75.
15. Uemura K, Pisa Z. Tendencias en la mortalidad por enfermedad cardiovascular en países industrializados desde 1950. *World Heal Stat Q.* 1988;41:155–78.
16. Organization PAH. Indicators mortality for countries and regions [Internet]. Mortality. 2018. Available from:

<https://hiss.paho.org/pahosys/grp.php>

17. INEGI. Características de las defunciones registradas en México en 2018 [Internet]. 2018. Available from: <https://www.inegi.org.mx/%0A>
18. F.Waler B, M. Orr C. Anatomy, Histology, and Pathology of Coronary Arteries: A Review Relevant to New Interventional and Imaging Techniques-Part I. *Clin Cardiol*. 1992;15:451–7.
19. Institute TH. Diagram of coronary circulation [Internet]. Topics. 2019. Available from: <https://www.texasheart.org/heart-health/heart-information-center/topics/the-coronary-arteries/>
20. Vargas G, Fragoso JM, Delgadillo H. Síndrome coronario agudo. Fisiopatología y genética. *Rev Investig Clínica*. 2011;63:64–74.
21. Gustafsson M, Flood C, Jirholt P, Borén J. Retention of atherogenic lipoproteins in atherogenesis. *Cell Mol Life Sci*. 2004;61:4–9.
22. Hansson G. Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease. *New Engl J Med*. 2005;352:1685–95.
23. Mundi S, Massaro M, Scoditti E, Annunziata M. Endothelial permeability, LDL deposition, and cardiovascular risk factors a review. *Cardiovasc Res*. 2018;114:35–52.
24. Fuster V. Mechanisms Leading to Myocardial Infarction: Insights From Studies of Vascular Biology. *Circulation*. 1994;90:2126–46.
25. Navab M, Imes S, Hama S. Monocyte transmigration induced by modification of low density lipoprotein in cocultures of human aortic wall cells is due to induction of monocyte chemotactic protein 1 synthesis and is abolish by high density lipoprotein. *J Clin Investig*.

- 1991;88:2039–46.
26. Rosenfeld M. Cellularity of atherosclerotic lesions. *Cor Art Dis.* 1994;5:189–97.
 27. JA K, MC T, E W, TM C, F P, CW S. Partial characterization of leukocyte binding molecules on endothelial cells induced by minimally oxidized LDL. *Arter Thromb.* 1994;24:427–33.
 28. Martinez J, Llorente V, Badimon L. Biología celular y molecular de las lesiones ateroscleróticas. *Rev Española Cardiol.* 2001;54:218–31.
 29. Stroes E, Rabelink T. Hyperlipidemia and endothelial function. *Vasc Endothel Physiology, Pathol Ther Oppor.* 1997;311–28.
 30. Harrison D. Endothelial function and oxidant stress. *Clin Cardiol.* 1997;20 (Suppl.:II)11–7.
 31. Ross R, Glomset J, Harker L. Response to injury and atherogenesis. *Am J Pathol.* 1977;86:675–84.
 32. Frati-Munari AC. Importancia médica del glucocáliz endotelial. *Arch Cardiol México.* 2013;83:303–12.
 33. Borén J, Lee I, Zhu W, K A, S T. Identification of the low density lipoprotein receptor-binding site in apolipoprotein B100 and the modulation of its binding activity by the carboxil terminus in familial defective apo-B100. *J Clin Investig.* 1998;101:1084–93.
 34. Domínguez L, Kattah W. Apolipoproteínas A-I y B-100 y enfermedad coronaria comprobada angiográficamente. *Acta Médica Colomb.* 1993;18:187–98.

35. Espondaburu O, Fara Hunt V, Ocampo L. El proceso aterogénico y su desarrollo en las enfermedades autoinmunes. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 2004;38:181–92.
36. Calderón J, Fernández A, Maria de Jesús A. Ateroesclerosis, estrés oxidativo y actividad física. *Invest Clin.* 2008;49:397–410.
37. Carrillo Calvillo J, Bear Sandoval I. Biomarcadores, inflamación, estrés oxidativo, lípidos y aterotrombosis. *Aterosclerosis: Un proceso inflamatorio. Arch Cardiol México.* 2004;74:S379–84.
38. Fernández G, Tardáguila F, López C, Velasco M, San Miguel P, De la Fuente A. Fisiopatología de la placa de ateroma y sus implicaciones en la imagen. *Radiología.* 2003;45:107–14.
39. Florenzano F. Fisiopatología de la placa aterosclerótica. *Clínica los Condes.* 2000;1–11.
40. Badimon L, Storey R, Vilahur G. Update on lipids, inflammation and atherothrombosis. *Thromb Haesmost.* 2011;105:34–42.
41. Hansson G. Inflammatory mechanisms in atherosclerosis. *J Thromb Haemost.* 2009;7(s1):328–31.
42. RW A. Inflammation and coronary artery disease. *Engl J Med.* 1994;331:468–9.
43. YV B. Monocyte recruitment and foam cell formation in atherosclerosis. *Micron.* 2006;37:208–22.
44. Hasdai D, Scheinowitz M, Leibovitz E, Sclarovsky S, Aldar M. Increased serum concentrations of interleukin-1b in patients with coronary artery disease. *Heart.* 1996;76:24–8.

45. A Rodríguez J, Orbe J, A Páramo J. Metaloproteasas, remodelado vascular y síndromes aterotrombóticos. *Rev Española Cardiol.* 2007;60:959–67.
46. Fragoso JM, Ramírez-Bello J, Cruz-Robles D, Pérez-Mendez O, de la Peña A, Vargas G. Marcadores pro y antiinflamatorios en la enfermedad arterial coronaria y el síndrome isquémico coronario agudo. *Arch Cardiol México.* 2009;79:54–62.
47. Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. *Physiol Rev.* 2006;86:515–81.
48. C. Portilla E, Muñoz W, H. Sierra C. Mecanismos celulares y moleculares de la aterotrombosis. *Rev Colomb Cardiol.* 2014;21:35–43.
49. Gímenez-Serrano S. Trombosis. Clínica y farmacoterapia. *Farm Prof.* 2003;17:54–65.
50. Badimon L, Padró T, Vilahur G. Aterosclerosis, plaquetas y trombosis en cardiopatía isquémica aguda. *Eur Hear J Acute Cardiovasc care.* 2012;1:60–74.
51. Badimon J, Letino M, Toschi V, Fuster V, Berrozpe M, Chesebro J, et al. La inhibición local del factor tisular reduce la trombogenicidad de las placas ateroscleróticas humanas alteradas: efectos del inhibidor de la vía del factor tisular sobre la trombogenicidad de la placa en condiciones de flujo. *Circulation.* 1999;99:1780–7.
52. Sadler J. Biochemistry and genetics of Von Willebrand Factor. *Annu Rev Biochem.* 1998;67:395–424.
53. Romero E. Endotelio: escenario del ateroma [Internet]. *Opción médica,*

Medicina Clínica. 2010. p. 4–7. Available from: <http://www.se-arteriosclerosis.org/assets/endotelio-pdf.pdf>

54. Iniesta R, Guinó E, Moreno V. Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gac Sanit.* 2005;19:331–41.
55. Herrera-Maya G, Cruz-Robles D, Fragoso-Lona JM. Genómica de las enfermedades cardiovasculares. In: *Genómica estructural y funcional en las enfermedades multifactoriales.* 2016. p. 526–7.
56. Sato R. Sterol metabolism and SREBP activation. *Arch Biochem Biophys* [Internet]. 2010;501(2):177–81. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2010.06.004>
57. López-Oliva E, Muñoz-Martínez E. SREBP-1c, ChREBP y LXR: Su influencia en el desarrollo del hígado graso no alcohólico. *An Real Acad Farm.* 2014;80:14–48.
58. S Brown M, L Goldstein J. The SREBP Pathway: Regulation of Cholesterol Metabolism by Proteolysis of a Membrane-Bound Transcription Factor. *Cell.* 1997;89:331–40.
59. Horton J, Bashmakov Y, Shimomura I, Shimano H. Regulation of sterol regulatory element binding proteins in livers of fasted and refed mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;95:5987–5992.
60. Kawabe Y, Suzuki T, Hayashi M, Hamakubo T, Sato R, Kodama T. The physiological role of sterol regulatory element binding protein–2 in cultured human cells. *Biochim Biophys Acta.* 1999;1436:307–318.
61. Pai J, Gurney O, Brown M, Goldstein J. Differential stimulation of cholesterol and unsaturated fatty acid biosynthesis in cells expressing

individual nuclear sterol regulatory element-binding protein. *J Biol Chem.* 1998;273:26138–26148.

62. Tovar A, Manzano N, Torres N. Regulación del metabolismo del colesterol y ácidos grasos en el síndrome nefrótico experimental por las proteínas que se unen a los elementos regulatorios de esteroides (SREBP's). *Gac Médica Mex.* 2005;141:407–15.
63. NCBI. NCBI [Internet]. Genome Data Viewer. 2019. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/browser/?context=gene&acc=6721>
64. Yaju D, Ruixing Y, Yiyang L, Yijian Z, Weixiung L. Polymorphism of the Sterol Regulatory Element-Binding Protein-2 Gene and Its Association With Serum Lipid Levels in the Guangxi Hei Yi Zhuang and Han Populations. *Am J Med Sci.* 2009;337:14–22.
65. Cards G. SREBF2 gene [Internet]. Gene Cards. 2019. Available from: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SREBF2>
66. Magana MM, Osborne T. Two tandem binding sites for sterol regulatory element binding proteins are required for sterol regulation of fatty-acid synthase promoter. *J Biol Chem.* 1996;271:32689–94.
67. Ikonen E. Cellular cholesterol trafficking and compartmentalization. *Natl Rev Mol Cell Biol.* 2008;9:125–38.
68. Robinet P, Védie B, Chironi G, Gariépy J, Simon A, Moatti N, et al. Characterization of polymorphic structure of SREBP-2 gene: role in atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2003;168:381–7.
69. R Miserez A, Y. Muller P, Barella L, Barella S. Sterol-regulatory

- element-binding protein (SREBP)-2 contributes to polygenic hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis*. 2002;164:15–26.
70. Liu X, Li Y, Lu X, Wang L, Zhao Q. Interactions among genetic variants from SREBP2 activating-related pathway on risk of coronary heart disease in Chinese Han population. *Atherosclerosis*. 2010;208:421–6.
71. Wang Y, Tong J, Chang B, Wang B-F, Zhang D. Relationship of SREBP-2 rs2228314 G>C polymorphism with nonalcoholic fatty liver disease in Han a Chinese population. *Genet Test Mol Biomark*. 2014;18:653–7.
72. Galavi H, Noorzehi N, Saravani R, Sargazi S, Mollashahee-Kohkan F. Association study of SREBF-2 gene polymorphisms and the risk of type 2 diabetes in a sample of Iranian population. *Gene*. 2018;660:145–50.
73. Pérez-Belmonte L, Moreno-Santos I, Cabrera-Bueno F, Sánchez-Espín G, Castellano D, Such M, et al. Expression of Sterol Regulatory Element-Binding Proteins in epicardial adipose tissue in patients with coronary artery disease and diabetes mellitus: preliminary study. *Int J Med Sci*. 2017;14:268–74.
74. K. Lahiri D, I. Nurnberger J. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleid Acids*. 1991;19:1.
75. QIAGEN. QIAmp ® DNA Blood Mini Kit [Internet]. Sample Technologies. 2019. p. 1. Available from: <https://www.qiagen.com/us/shop/sample-technologies/dna/genomic-dna/qiaamp-dna-blood-mini-kit/#resources>.

76. De Long W, Lippel KA. A comparison of methods for the estimation of plasma low- and very low-density lipoprotein cholesterol. *Lipid Res Clin Preval Study*. 1986;17:2372–7.
77. Fan Y-M, Karhunen P j, Levula M, Ilveskoski E, Mikkelsen J. Expression of sterol regulatory element-binding transcription factor (SREBF) 2 and SREBF cleavage-activating protein (SCAP) in human atheroma and the association of their allelic variants with sudden cardiac death. *Thromb J*. 2008;6:1–8.
78. Friedlander Y, M. Schwartz S, Durst R, Meiner V. SREBP-2 and SCAP isoforms and risk of early onset myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 2008;196:896–904.
79. Chen Z, Ding Z, Ma G, Liu N, Qian Q. Sterol regulatory element-binding transcription factor (SREBF)-2, SREBF cleavage-activating protein (SCAP), and premature coronary artery disease in a Chinese population. *Mol Biol Rep*. 2010;38:2895–901.
80. Biotechnology NC. 1000 Genomes Browser- Phase 3 [Internet]. NCBI. 2019. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/>
81. Vargas G. Polimorfismos genéticos en enfermedades cardiovasculares. La experiencia en el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez.” *Arch Cardiol México*. 2007;77:88–93.
82. Zolezzi I, Hidalgo A, Estrada J. Análisis de la diversidad genómica en las poblaciones mestizas mexicanas para 68 desarrollo de la medicina genómica en México. *PNAS Early Ed*. 2009;106:8611–6.

