

11205



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

"POLIMORFISMOS DE UN SOLO NUCLEOTIDO EN EL
PROMOTOR DEL GEN CD14 Y SU ASOCIACION CON
INFARTO DEL MIOCARDIO, EN UNA POBLACION
MEXICANA"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE

C A R D I O L O G O

P R E S E N T A

G U S T A V O S O L A C H E O R T I Z

DIRECTOR DE TESIS: DRA. ALEJANDRA MEANEY MARTINEZ



ISSSTE

MEXICO, D.F.

2004



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 Hospital Regional 1° de Octubre y al Departamento de Biomedicina Molecular del CINVESTAV- IPN; lugares de realización del presente trabajo.

Agradezco de manera especial a mi tutor de tesis Dra. Alejandra Meaney Martínez por haberme guiado en la realización de este trabajo, siendo un ejemplo de motivación y superación personal así como profesional.

Al Dr. Eduardo Meaney Mendiola, Jefe del curso de postgrado de Cardiología del Hospital Regional 1° de Octubre. Por la oportunidad de ser residente del servicio de Cardiología del Hospital Regional 1° de Octubre.

Por el apoyo otorgado, a la Dra. Ma. Teresa Estrada García, Jefe del laboratorio de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN.

A mi esposa y mi hija por su tiempo, comprensión y apoyo.

A mis pacientes fuente inagotable de conocimiento.

DEDICATORIAS

"El que quiera hacer algo encontrará un medio,

El que no, encontrará una excusa"

-Stephen Dolley-

A DIOS

A mi esposa Nadia Espejel y a mi hija Anyaed por su apoyo, amor y comprensión.

A mis padres por todo su apoyo y ejemplo

Angélica Ortiz Silva (†).

Gustavo Solache Ibarrola.

A mis hermanos

Andrés, Angélica y Cristina.

A mi tío Alejandro y a Elisa Silva.

A mis amigos

Javier, Arturo, Guadalupe, Joel, Clarisely, Daniel, Melchora, Ricardo,

Virginia, Branco, Mely y Armando.

[Handwritten signature]

Dr. Eduardo Meaney Mendiola
Profesor titular del curso de Cardiología



[Handwritten signature]

Dra. Alejandra Meaney Martínez
Asesor de Tesis

[Handwritten signature]

Dr. Gerardo de Jesús Ojeda Valdés
Coordinador de Capacitación,
Desarrollo e Investigación.



SUBDIVISIÓN DE ESPECIALIZACIÓN
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U.N.A.M.

[Handwritten signature]

Dr. José Vicente Rosas Barrientos
Jefatura de Investigación.

I.S.S.S.T.E.
SUBDIRECCION MEDICA

02 AGO 2004

COORDINACION DE CAPACITACION
DESARROLLO E INVESTIGACION

INDICE

	Pag.
Introducción.....	1
Material y métodos.....	5
Resultados.....	10
Discusión.....	15
Conclusiones.....	17
Bibliografía.....	17

**POLIMORFISMOS DE UN SOLO NUCLEÓTIDO EN EL PROMOTOR DEL
GEN DEL RECEPTOR CD14 Y SU ASOCIACIÓN CON INFARTO DEL
MIOCARDIO, EN UNA POBLACIÓN MEXICANA.**

INTRODUCCION: El Infarto Agudo del Miocardio (IAM) y la Angina Inestable forman parte de un conjunto de síndromes cardiovasculares conocido como Síndromes Isquémicos Coronarios Agudos (SICA), en los cuales el más importante mecanismo fisiopatológico productor de isquemia es una reducción en el aporte miocárdico de oxígeno debido a una fisura en una placa aterosclerótica con vasoconstricción y trombosis asociada¹.

La aterosclerosis es la causa más frecuente de morbimortalidad en el mundo occidental, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha predicho que, en un futuro próximo, la aterosclerosis se convertirá también en la primera causa de mortalidad a nivel mundial². En nuestro país, de acuerdo con las cifras más recientes reportadas en el año 2001 por el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI)³, las principales causas de mortalidad general fueron la diabetes mellitus y las enfermedades isquémicas del corazón.

La aterosclerosis es una enfermedad de las arterias elásticas (p. ej; aorta, arterias carótidas e ilíacas) y de las arterias musculares de tamaño grande y mediano (p. ej; arterias coronarias y poplíteas)^{4,5}. El término aterosclerosis se refiere a la acumulación focal, intra y extracelular de lípidos, con formación de células espumosas junto con la hipertrofia e hiperplasia de los miocitos y la distrofia de la matriz extracelular de la íntima y media de las arterias^{4,5,6,7}. Como ya se estableció previamente en la definición, la aterosclerosis no afecta

a las arterias de un modo uniforme, sino que es una enfermedad focal, esto contrasta con el hecho de que los factores de riesgo clásicos conocidos para desarrollar aterosclerosis como la hipertensión arterial, la dislipidemia, la diabetes mellitus y el tabaquismo son sistémicos y probablemente ejercen su acción en todas las partes del sistema arterial⁵. Este contraste demuestra que los factores de riesgo sistémicos deben actuar conjuntamente con factores locales como pueden ser las fuerzas a las que es sometido el endotelio vascular por parte del flujo sanguíneo^{4,5}. Los factores de riesgo clásicos o convencionales comentados previamente forman parte de lo que ahora conocemos como síndrome metabólico, que ha sido definido por el National Cholesterol Education Program (NCEP), en su tercer reporte^{8,9,10}. El síndrome metabólico se define por la presencia de tres de cinco componentes que incluyen: 1) cifras de presión arterial mayor o igual a 130 mmHg de sistólica y para la diastólica mayor o igual a 85 mmHg, 2) glucemia de ayuno mayor o igual a 110mg/dl, 3) circunferencia abdominal en hombres mayor de 102cm y en mujeres mayor de 88cm, 4) colesterol de alta densidad (HDL) en hombres menor de 40mg/dl y en mujeres menor de 50mg/dl y 5) triglicéridos mayor o igual a 150mg/dl (4). En nuestro país, el Grupo de Estudio del Síndrome Metabólico¹¹ estableció los lineamientos diagnósticos y en el año 2002, el Consenso Mexicano sobre el Tratamiento Integral del Síndrome Metabólico¹² establece los lineamientos terapéuticos para población mexicana. Un aspecto muy importante de este síndrome, es que ahora se reconoce como una entidad proinflamatoria¹⁰. Desde hace varios años Ross y Libby describieron el papel de la inflamación en las distintas fases del proceso aterosclerótico^{6,7}. La activación celular; la adhesión leucocitaria al endotelio; la migración de

monocitos; la proliferación y migración de células musculares lisas; la alteración en el metabolismo de las lipoproteínas; y la coagulabilidad son eventos con un alto impacto en el desarrollo de la aterosclerosis^{4,5,6,7}.

Es por ello que no sorprende, que con el advenimiento de las técnicas de biología y genética molecular, diversos grupos de investigadores se dieron a la tarea de buscar polimorfismos genéticos asociados a la enfermedad aterosclerótica y los SICA. Las primeras líneas de investigación en este sentido se orientaron a la búsqueda de polimorfismos en moléculas proinflamatorias y su posible asociación con la aterosclerosis. Las primeras moléculas estudiadas fueron: el Factor de Necrosis Tumoral α (TNF α)¹³ y la Interleucina 1 (IL1)¹³, ambas implicadas de forma importante en la inflamación. Los estudios de los polimorfismos en estas moléculas no mostraron asociación con los SICA¹³. Una de las líneas de investigación recientemente reportadas se centró en el polimorfismo del promotor del gen del receptor CD14 que tiene entre otros, como ligando al lipopolisacárido (LPS o endotoxina)^{14,15,19}. El receptor CD14 es una glicoproteína de 55kD de peso molecular, rica en leucina, que es expresada por los monocitos maduros y los macrófagos^{16,17}. En esas células se considera un marcador de superficie y se encuentra anclado a la membrana por medio de una cola de fosfatidilinositolglucosa (GPI), conociéndose como CD14 membranal (mCD14)^{16,17}. El CD14 puede también encontrarse en forma soluble en el suero (sCD14), en dos isoformas que difieren en su peso molecular¹⁷. El CD14 pertenece a la familia de los receptores que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos, conocidos por sus siglas en inglés como PPRs¹⁷. Cuando el receptor CD14 reconoce a su ligando, por ejemplo LPS (endotoxina) entre otros, los monocitos son activados y producen

citocinas proinflamatorias tales como: el TNF α , IL1, Interleucina 6 (IL 6) y factores de crecimiento¹⁸. A su vez, las células endoteliales y las células musculares lisas son activadas por sCD14¹⁸. Las células endoteliales una vez estimuladas expresan: moléculas de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), moléculas de adhesión de la célula vascular 1 (VCAM-1)^{4,5,6,7,19}, las cuales están implicadas en el reclutamiento de células inflamatorias al sitio de la lesión.

Los polimorfismos y las mutaciones son en realidad palabras sinónimas; se caracterizan por la coexistencia de dos variedades o alelos del mismo gen. El alelo natural o silvestre (*wild type*) y el alelo mutante. Sin embargo, el término mutación suele reservarse para los cambios que alteran gravemente la función de la proteína o enzima codificada y basta un gen para provocar una enfermedad (enfermedad monogénica o mendeliana). En cambio, se denominan polimorfismos si las variaciones son comunes (por definición ocurren en más del 1% de la población) y la afectación funcional es modesta o mínima, pero supone una minusvalía (un factor de riesgo genético) cuando el organismo debe enfrentarse con un mayor esfuerzo metabólico o un problema ambiental, como puede ser una dieta rica en colesterol, el estrés o el tabaco (factor de riesgo ambiental). El método que se utiliza para describir un alelo de riesgo consiste en identificar un gen polimórfico como posible candidato y demostrar su asociación estadística con el fenotipo clínico (enfermedad) y con el fenotipo intermedio (espectro de la enfermedad).

Hasta el momento se han reportado dos polimorfismos en el promotor del gen CD14 asociados con SICA, uno en población alemana localizado en el sitio -159pb¹⁴ y otro polimorfismo localizado en el sitio -260pb en dos poblaciones

una checa¹⁵ y otra japonesa¹⁹. El polimorfismo localizado en el sitio -260 y con el genotipo TT, que se asoció con infarto del miocardio, tiene como fenotipo un aumento en la expresión del receptor a nivel de la membrana de los monocitos. En población mexicana no se conoce si existen polimorfismos de moléculas inflamatorias asociados con los SICA. Por lo cual nos preguntamos si nuestra población era polimórfica para el promotor del gen CD14 y si existía asociación con infarto del miocardio.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Población de estudio.

Los pacientes fueron reclutados de la Unidad Cardiovascular del Hospital Regional 1ro de Octubre del ISSSTE, en México, D. F. Previa aprobación del protocolo por el comité de ética del Hospital, se obtuvo la firma de los pacientes y controles en el consentimiento informado antes de su participación en el estudio.

Se les realizó una historia cardiovascular completa, con énfasis en antecedentes familiares de diabetes mellitus, cardiopatía isquémica e hipertensión arterial, así como antecedentes personales sobre diabetes mellitus, hipertensión arterial, dislipidemias, cardiopatía isquémica y tabaquismo. Un examen físico completo que incluyó la medición de la presión arterial, el peso y la talla. El índice de masa corporal se obtuvo al dividir el peso expresado en kilogramos por el cuadrado de la talla en metros. A todos los pacientes se les tomó una muestra de sangre de 20cc, la cual se utilizó para la determinación de glucemia de ayuno, colesterol total, colesterol de alta densidad (HDL-Col) y triglicéridos, posterior a 12 horas de ayuno y bajo los

procedimientos habituales de laboratorio. El colesterol de baja densidad (LDL-Col) se obtuvo a partir de la fórmula de Friedwald y en aquellos con hipertrigliceridemia se uso el colesterol no HDL^{8,9}. Además esta muestra sanguínea se uso para la obtención del ADN genómico.

Los controles se obtuvieron de las Unidades de Medicina Familiar adscritas al Hospital 1ro de Octubre, de familiares de los pacientes y de personas voluntarias, de todos ellos se obtuvo también consentimiento informado, historia cardiovascular, examen físico y determinación de glucemia, colesterol total, colesterol HDL y triglicéridos. Se les midió la presión arterial, se calculo el índice de masa corporal y el colesterol LDL. También se obtuvo el ADN genómico.

Se incluyeron en el grupo problema, pacientes de los dos géneros, con diagnóstico de infarto del miocardio, y angina inestable entendiendo el infarto del miocardio de acuerdo con los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) que establecen su presencia con la combinación de dos de las siguientes tres características: 1) síntomas típicos, 2) elevación enzimática y 3) cambios electrocardiográficos evolutivos que incluyen el desarrollo de ondas Q; definimos angina inestable ante la presencia de cuadro clínico característico y la evidencia en una coronariografía de una placa aterosclerosa rota²⁰. Excluyéndose aquellos pacientes portadores de enfermedades autoinmunes, neoplásicas o reumatológicas. Mientras que en el grupo control, se incluyeron personas de los dos géneros, mayores de 18 años de edad sin enfermedad sistémica y sin factores de riesgo coronario, excluyéndose aquellos que presentaran anomalías en el perfil de lípidos o glucemia y/o a los que se les detecto hipertensión arterial sistémica. También se excluyeron del estudio

todos aquellos pacientes o controles que posterior a haber aceptado participar, así lo solicitaran.

Análisis Molecular y Detección de Polimorfismos:

El análisis lo realizamos en el Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV, IPN. ADN genómico fue aislado de las células mononucleares, que se obtuvieron de sangre total, mediante un kit comercial de BIO-RAD (catálogo 732-6340 USA). El ADN obtenido se utilizó como molde para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta se llevó a cabo en un volumen total de 25µl, que contenía: 100 a 200ng de ADN, 0.5 U *Taq* polimerasa (Invitrogen), 0.5µM de cada iniciador, 200µM de cada dNTP (Roche), y 2 mM de MgCl₂ (Invitrogen). Los iniciadores que se utilizaron para el ensayo se muestran en la tabla 1. Las condiciones de la PCR fueron: un ciclo de desnaturalización a 95°C por 5 minutos; 40 ciclos que incluyeron 40 segundos a 92.3°C, 35 segundos a 59.5°C y 50 segundos a 71.5°C. El paso final se prolongo por 5 minutos. Se utilizó un termociclador BIO-RAD.

TABLA 1. Iniciadores, concentración en la mezcla de PCR y tamaño del producto de PCR
Iniciadores

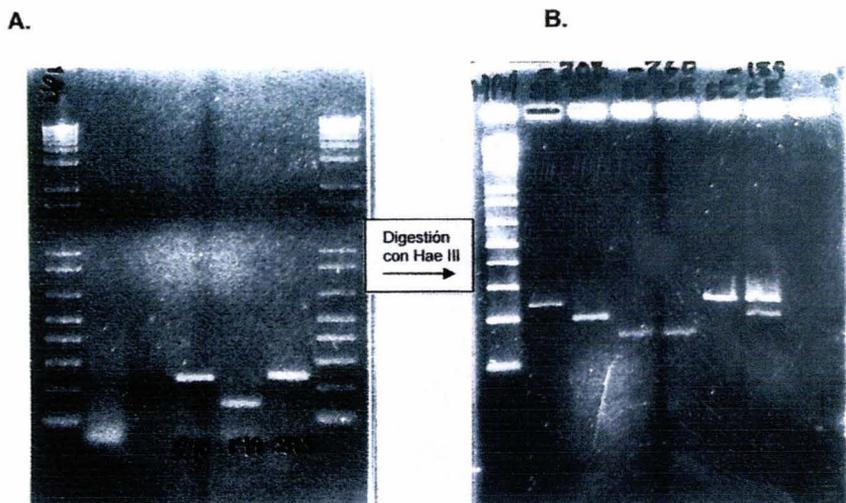
Sitio	O ^o	Secuencias	Iniciador amt (μM)	Amplificado tamaño (pb)
-159	F	5'-GGAGACACAGAAGGGTAGATGCC-3'	0.5	245
	R	5'-TTCTTTCCTACACAGCGGCACCC-3'	0.5	
-260	F	5'-CTAAGGCACTGAGGATCATC-3'	0.5	149
	R	5'-CAGAATCCTTCTGTTACG-3'	0.5	
-308	F	5'-TTGGTGCCAACAGATGAGGTTAC-3'	0.5	240
	R	5'-ATCATCCTTTTCCACACCCACC-3'	0.5	

O^o, orientación: F, río abajo; R, río arriba.

La tabla 1 muestra los diferentes iniciadores utilizados para la amplificación de los productos que contenían el sitio de corte para la enzima de restricción (-159, -260 y -308). También se muestra la concentración utilizada en la mezcla de reacción de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el tamaño en pares de bases de cada uno de los amplificados.

Los productos de PCR se digirieron con la enzima *Hae* III (Invitrogen), durante 3 horas a 37°C, de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. Se resolvieron 10μl de la mezcla de digestión en un gel de agarosa al 2%, el cual se reveló con bromuro de etidio (0.1μg/ml), y se visualizó con un transiluminador de luz ultravioleta (ImagenMaster VDS). Como se muestra en la figura 1.

Figura 1.



En la figura 1A se observa el producto de PCR para los diferentes sitios de corte, en el carril 1 se observa un marcador de peso molecular de 1kb; en el carril 4 se observa el producto del sitio -308 de 240pb; en el carril 5 se observa el producto del sitio -260 de 149pb; y en el carril 6 se observa el producto del sitio -159 de 245pb. En la figura 1B se observan los productos de digestión con la enzima Hae III. En el carril 1 se observa el marcador de peso molecular de 1kb; en los carriles 2 y 3 el producto sin digerir y digerido respectivamente del sitio -308; en los carriles 4 y 5 el producto sin digerir y digerido del sitio -260; en los carriles 6 y 7 el producto sin digerir y digerido del sitio -159. Obsérvese por ejemplo como los sitios -308 y -260 son homocigotos, el primero para el sitio de corte y el segundo carece del sitio de corte. El sitio -159 en este sujeto es heterocigoto, por lo que se observan dos bandas en el producto digerido, un alelo con el sitio y otro sin el sitio.

Expresión de CD14:

En voluntarios sanos se determinó la densidad del receptor CD14 en los monocitos mediante citometría de flujo con anticuerpos monoclonales específicos (Pharmigen), de acuerdo al protocolo estándar²¹.

Análisis Estadístico:

Las frecuencias de los alelos en ambos grupos y la asociación entre el genotipo y el infarto del miocardio o la angina inestable se compararon mediante la prueba de chi-cuadrada. Las variables continuas se analizaron mediante prueba de t de "Student". El riesgo relativo para presentar infarto del miocardio o angina inestable de acuerdo al genotipo se calculó mediante razón de momios con un intervalo de confianza del 95% y una $p < 0.05$.

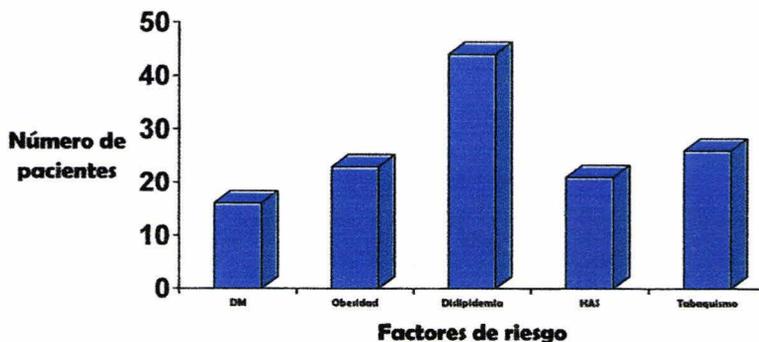
RESULTADOS:

Se incluyeron 50 pacientes y 50 controles masculinos, la media de edad para los pacientes fue de 58 ± 13 años y para los controles de 54 ± 9 años sin diferencias significativas con una p de 0.06. A todos se les realizó una historia clínica cardiológica, así como medición de talla, estatura, presión arterial y perfil de lípidos (colesterol total, colesterol HDL, triglicéridos y glucosa), los niveles de LDL se calcularon mediante la fórmula de friedwald.

La distribución de los factores de riesgo convencionales en los pacientes hombres se presento de la siguiente forma: hipercolesterolemia el 88% de los pacientes, hipertensión arterial sistémica el 42% de los pacientes, 32% con diabetes mellitus, 46% obesos y 52% fumaban (Gráfica 1).

Gráfica 1.

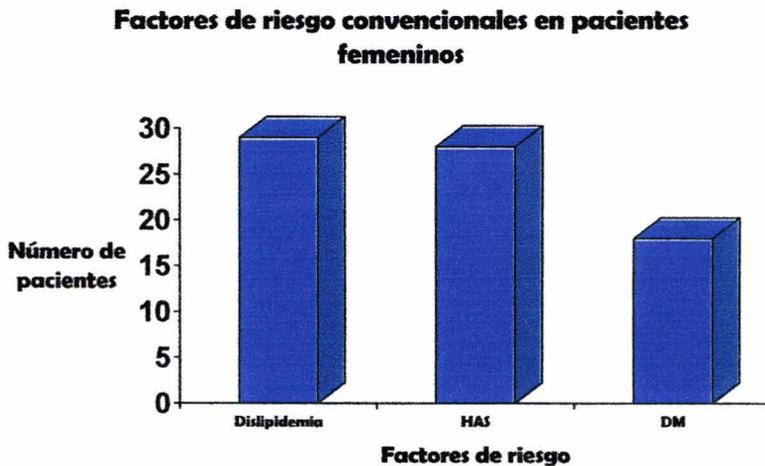
Factores de riesgo convencionales en pacientes masculinos.



Los factores de riesgo convencional en el grupo de pacientes masculinos se distribuyeron de la siguiente forma, 44(88%) pacientes presentaban hipercolesterolemia, 21 (42%) presentaban hipertensión arterial sistémica, 16 (32%) padecían de diabetes mellitus, 23 (46%) eran obesos y 26 (52%) fumaban.

Con respecto a las mujeres, se incluyeron 38 pacientes y 43 controles. La media de edad en el grupo de pacientes mujeres fue de 66 años y en el de controles fue de 48 años, siendo significativamente diferente. En el grupo de pacientes mujeres los factores de riesgo más prevalentes fueron la hipercolesterolemia en 29 (77%) y la hipertensión arterial sistémica en 28 (75%), la diabetes mellitus en 18 (48%) (Gráfica 2).

Gráfica 2.

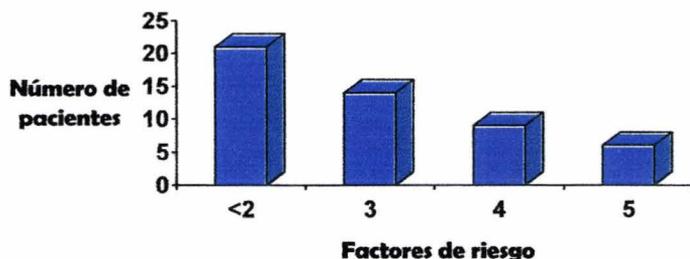


Los factores de riesgo convencionales más prevalentes en el grupo de pacientes mujeres fueron la hipercolesterolemia en 77% y la hipertensión arterial sistémica en el 75% de las pacientes, la diabetes mellitus se encontró en el 48% de las pacientes.

Con respecto a la distribución de dichos factores en cuanto a número de componentes del síndrome metabólico en los pacientes masculinos, se encontró mayor prevalencia de pacientes con sólo dos componentes del síndrome constituyendo el 42%, mientras que con 3 factores se encontraron un 28% de los pacientes, con 4 factores un 9% y con 5 factores el 12% de los pacientes (Gráfica 3).

Gráfica 3.

Número de factores de riesgo para el síndrome metabólico en pacientes varones

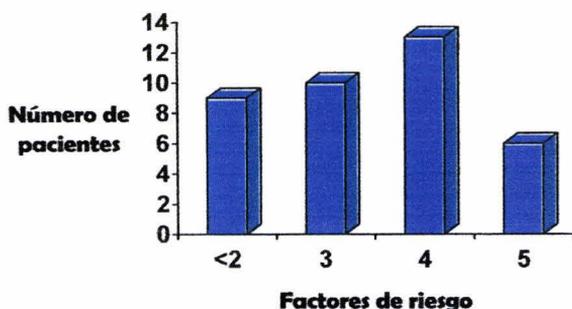


Estos factores de riesgo se agrupaban en el grupo de pacientes masculinos de la siguiente forma: 21 pacientes que representaban el 42% tenían dos factores o menos del síndrome metabólico. 14 pacientes el 28%, presentaban 3 factores de riesgo del síndrome metabólico. 9 pacientes el 9% tenían 4 factores de riesgo y 6 pacientes el 12% tenían los cinco factores de riesgo del síndrome metabólico.

En las pacientes mujeres, los factores de riesgo se agruparon de acuerdo a número de la siguiente forma: con 3 factores 10 pacientes (27%), con 4 factores 13 (32%), 5 factores 6 (17%) y menos de 2 factores 9 pacientes (24%) (Gráfica 4).

Gráfica 4.

Número de factores de riesgo del síndrome metabólico en pacientes mujeres.



La distribución del número de factores de riesgo componentes del síndrome metabólico en las pacientes mujeres fue más prevalente en el grupo de 4 factores de riesgo con 32%, en el grupo de 3 factores de riesgo 27%, con 2 factores o menos 24% y el 17% de las pacientes tenían 5 factores de riesgo componentes del síndrome metabólico.

Se evaluaron tres sitios polimórficos en el promotor del gen del receptor CD14, dos de éstos habían sido descritos en otras poblaciones (el sitio en la posición C(-159)→T en una población alemana¹⁴, y la posición C(-260)→T en dos poblaciones una checa¹⁵ y otra japonesa¹⁹) todos los estudios fueron en población masculina. El sitio T(-308)→C no ha sido descrito para otras poblaciones. Los sitios polimórficos consisten en el cambio de una citocina por una timina. En nuestra población se encontró polimorfismo para los sitios T(-308)→C y C(-159)→T, no así para el sitio C(-260)→T. (Tabla 2).

Tabla 2. Identificación de los polimorfismos en la población de estudio.

POLIMORFISMO	-308	-260	-159
Pacientes	Sí	No	Sí
Controles	Sí	No	Sí

Se encontró asociación entre tener citocina en la posición -308 e infarto del miocardio en hombres con una razón de momios de 10.6 con un IC del 95% y una p de 0.0001. (Tabla 3).

Tabla 3. Polimorfismo para el sitio T(-308)→C en hombres.

Genotipo	Pacientes	Controles
CC	48 (96%)*	35 (69%)
TT	2 (4%)	15 (31%)

R.M.= 10.6, p= 0.001 CC= Citocina-citocina, TT= timina-timina.

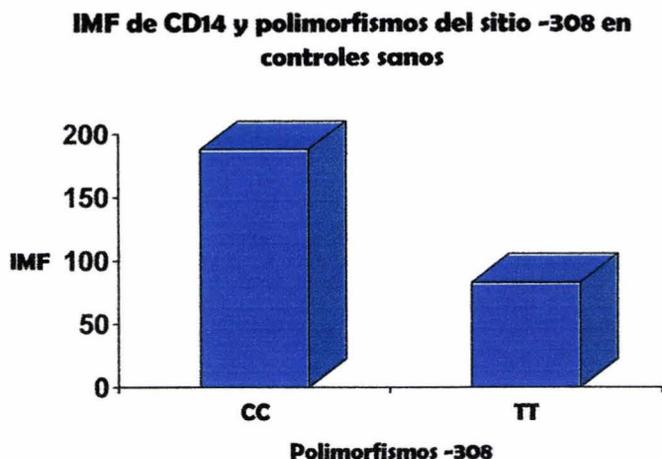
No se encontró asociación entre infarto del miocardio y el polimorfismo del sitio C(-159)→T.

En los pacientes del género femenino se evaluaron los dos sitios polimórficos objeto de estudio y el sitio T(-308)→C. Se encontró polimorfismo para el sitio T(-308)→C y C(-159)→T no encontrándose para el sitio C(-260)→T. (Tabla 2).

No se encontró asociación para los polimorfismos -308 y -159 y el infarto del miocardio, no hubo diferencias significativas en las intensidades medias de fluorescencia en el grupo de controles mujeres con el polimorfismo -308.

La intensidad media de fluorescencia realizada en los controles sanos que tenían citocina en la posición -308 fue de 187.6 y la intensidad media de fluorescencia de los sujetos que tenían timina fue de 43.5, con una p de 0.0003. (Gráfica 5).

Gráfica 5.



Intensidad Media de Fluorescencia de CD14 y polimorfismos del sitio -308 en los sujetos varones sanos. La Intensidad fue mayor (185) en los que tenían el genotipo CC que en los que tenían el genotipo TT con una diferencia estadísticamente significativa.

DISCUSIÓN:

Recientemente se ha demostrado que la susceptibilidad a las enfermedades está influenciada por la composición genética de los individuos. En el caso particular de la aterosclerosis, junto a los bien establecidos factores de riesgo, los polimorfismos genéticos se han propuesto como nuevos factores de riesgo¹³, ya que se han observado asociaciones en algunos polimorfismos, como factores de riesgo o factores protectores para la enfermedad aterosclerosis.^{21,22,23,24,25)} Tal es el caso de el polimorfismo C(-260)→T del promotor del gen CD14, el cual mostró asociación con infarto del miocardio en dos poblaciones, una japonesa¹⁹ y una checa¹⁵. Sin embargo, nuestra población de estudio, no fue polimórfica para dicho sitio. Pero cuando se analizaron otros sitios de corte para la enzima Hae III, encontramos un sitio polimórfico localizado en T(-308)→C, el cual mostró asociación con infarto del

miocardio en población masculina, no así en femenina. Estas observaciones revelan claramente la importancia de la región del promotor del gen CD14 en el infarto del miocardio, y que además esta región tiene una amplia variación interétnica. Otra observación interesante del estudio fue el aumento en la expresión del receptor en la membrana de los monocitos, que se observó en sujetos sanos, sin evidencia de enfermedad inflamatoria aguda y que tenían el genotipo CC, (el cual ya se mencionó, fue el que asoció con infarto del miocardio) por lo que suponemos, que este aumento en la densidad de la expresión del receptor CD14 es permanente y está genéticamente determinada. En población checa masculina, se había reportado previamente, un aumento en la expresión del receptor CD14, en relación al polimorfismo C(-260)→T¹⁵.

Diversos estudios en población mexicana^{27,28}, han mostrado las diferencias entre polimorfismos descritos para otras regiones y nuestro país, así como diferencias en la asociación con determinada enfermedad. La mayor parte de la población mexicana es el producto de la mezcla entre diferentes grupos indígenas y españoles, lo que ha dado lugar a una estructura genómica propia, por lo que se hace imprescindible el estudio en población mexicana de cada uno de los sitios polimórficos que hayan sido descritos para otras poblaciones en relación a enfermedades de importancia epidemiológica en nuestro país. Tal es el caso de nuestro estudio, la identificación de estos sitios polimórficos, nos permitirá en un futuro, la identificación de poblaciones en riesgo para infarto del miocardio, así como el establecimiento de terapias adecuadas.

CONCLUSIONES:

1. Se encontró un nuevo polimorfismo localizado en el sitio -308 del promotor del gen CD14.
2. El polimorfismo T(-308)→C (genotipo CC) se asoció a infarto del miocardio en hombres mexicanos con una razón de momios de 10.6, con una p de 0.001.
3. El genotipo CC para el sitio -308 se asoció a un aumento en la expresión del receptor CD14 en la membrana de los monocitos en hombres sanos.
4. Nuestra población no fue polimórfica para el sitio -260.
5. Nuestra población fue polimórfica para el sitio -159, sin embargo no se encontró asociación con infarto del miocardio.
6. El polimorfismo T(-308)→C no se asoció a infarto del miocardio en el grupo de mujeres.

BIBLIOGRAFIA:

1. Théroux P, Fuster V. Acute Coronary Síndromes. *Circulation*. 1998;97:1195-1206.
2. Murria CJ, Lopez AD. Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997;349:1436-42.
3. Causas de Mortalidad en México 2001. Estadísticas de Mortalidad, Secretaría de Salud. <http://www.ssa.gob.mx>.
4. Meaney E. Génesis y complicaciones de las lesiones ateroscleróticas en: El papel del endotelio en las lesiones ateroscleróticas. 1999.
5. Crawford M. Patogenia de la aterosclerosis, en Crawford M. *Cardiología*. 1ra edición. Mosby Internacional Limited, an Elsevier Science Imprint. 2002.
6. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;340:115-126.

7. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1135-1143.
8. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285:2486-2497.
9. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). final report. *Circulation* 2002;106:3143-3421.
10. Scott M, Bryan B, Cleeman J. Definition of metabolic syndrome. *Circulation* 2004;109:433-438.
11. Grupo de Estudio del Síndrome Metabólico. Consenso Mexicano de Resistencia a la Insulina y Síndrome Metabólico. *Rev Mex Cardiol* 1999;10(1): 3-18.
12. Consenso Mexicano sobre el Tratamiento Integral del Síndrome Metabólico. *Rev Mex Cardiol* 2002;13(1):4-30.
13. Auer J, Weber T, Berent R, Lassnig E, Lamm G, Eber B. Genetic polymorphisms in cytokine and adhesion molecule genes in coronary artery disease. *Am J Pharmacogenomics*. 2003;3:317-28.
14. Unkelbach K, Gardemann A, Kostrzewa M et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:932-938.
15. Hubacek J, Pit'ha J, Skodová Z, et al. C(-260)T Polymorphism in the promoter of the CD14 monocyte receptor gene as a risk factor for myocardial infarction. *Circulation*. 1999;99:3218-3220.
16. Mausumee G, Mackman N. LPS induction of gene expression in human monocytes. *Cellular Signalling* 2001;13:85-94.
17. Simmons DL, Tan S, Tenen DG, et al. Monocyte antigen CD14 is a phospholipids anchored membrane protein. *Blood*. 1989;73:284-289.
18. Liao W. Endotoxin: possible roles in initiation and development of atherosclerosis. *J Lab Clin Med*. 1996;128:452-460.
19. Kazunori S, Watanabe Y, Moruno H, Iwama Y, Daida H, Yamaguchi H. Common polymorphism in the promoter of the CD14 monocyte receptor gene is associated with acute Myocardial Infarction in Japanese men. *Am J Cardiol*. 2000;86:682-684.
20. Ellis SG, Vandormael MG, Cowley MJ, et al: Coronary morphologic and clinical determinants of procedural outcome with Angioplasty for multivessel coronary disease: Implications for patient selection. *Circulation* 1990;82:1193-1202.
21. Meisel SR, Shapiro H, Radnay J, Neuman Y, Khaskia AR, Gruener N, Pauzner H, David D. Increased expression of neutrophil and monocyte adhesion molecules LFA-1

- and Mac-1 and their ligand ICAM-1 and VLA-4 throughout the acute phase of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31:120-125.
22. Lusis AJ, Weinrb A, Drake TA. Genetics of atherosclerosis. En: Topol EJ, editor. *Textbook of cardiovascular medicine*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998; p. 2389-496.
23. Cambien F, Tiret L. Genotype and risk of coronary heart disease. *Cardiovasc Risk Factors* 1997;7:118-28.
24. Kohler HP, Grant PJ. Plasminogen-activator inhibitor type I and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000;343:1792-801.
25. Kiechl S, Lorenz E, Reindl H, Wiedermann C, Oberhollenzer F, Bonora E, Willert J, Schwartz D. Toll-like receptor 4 polymorphisms and atherogenesis. *N Eng J Med*. 2002;347:185-92.
26. Woods A, Bruhl DJ, Humphries SE, Montgomery HE. Genetic of inflammation and risk of coronary artery disease: the central role of interleukin-6. *Eur Heart J* 2000;21:1574-83.
27. Gorodezky C, Alaez C, Vazquez-García MN, De la Rosa G, Infante E, Balladares S, Toribio R, Perez-Luque E, Muñoz L. The genetic structure of Mexican Mestizos of different locations: tracking back their origins through MHC genes, blood group systems, and microsatellites. *Hum Immunol*. 2001;62:979-91.
28. Lisker R, Ramírez E, Babinsky V. Genetic structure of autochthonous populations of Meso-America: Mexico. *Hum Biol*. 1996;68:395-404.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**