



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO.

HOSPITAL GENERAL REGIONAL No. 1
"DR CARLOS MACGREGOR SANCHEZ NAVARRO".



TÍTULO:

**ASOCIACIÓN DE ICTUS ISQUÉMICO CON LA PRESENCIA DE
POLIMORFISMO -1131T>C DEL GEN DE APOLIPOPROTEÍNA A-V.**

TESIS

Para obtener el título de

Especialista en Medicina Interna.

PRESENTA

Dr. Miguel Alejandro Benítez Sanfeliz.

Director de tesis:

Dr. Jorge Escobedo de la Peña.

Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica
Hospital General Regional No.1 'Carlos MacGregor Sánchez Navarro'

México, Distrito Federal

2015



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.

DR. FRANCISCO JAVIER PADILLA DEL TORO

PRESIDENTE DEL COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN Y ÉTICA.

DIRECTOR MEDICO DE HGR No. 1 “DR. CARLOS MACGREGOR SANCHEZ
NAVARRO”

DR. FELIPE ÓRTIZ CONTRERAS.

COORDINADOR CLINICO DE EDUCACIÓN
E INVESTIGACIÓN EN SALUD.

DR. JÓRGE ESCOBEDO DE LA PEÑA.

DIRECTOR DE TESIS.

DRA. MARIA GABRIELA LICEAGA CRAVIOTTO.

PROFESORA TITULAR DEL CURSO DE MEDICINA INTERNA.

DR. MIGUEL ALEJANDRO BENÍTEZ SANFELIZ

AUTOR.



"2014, Año de Octavio Paz".

Dictamen de Autorizado

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

FECHA 05/11/2014

DR. JORGE ESCOBEDO DE LA PEÑA

P R E S E N T E

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

ASOCIACIÓN DE ICTUS ISQUÉMICO CON LA PRESENCIA DE POLIMORFISMO -1131T>C DEL GEN DE LA APOLIPOPROTEÍNA A-V.

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

Núm. de Registro
R-2014-3609-27

ATENTAMENTE

DR.(A). CARLOS-ERNESTO CASTILLO HERRERA

Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3609

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

AGRADECIMIENTOS.

Dedicado a ti Miguel Alejandro, hijo mío, con todo mi amor y mi ser, por enseñarme todos los días el valor del amor padre- hijo y por ayudarme a encontrar esa poderosa fuerza que lo mueve todo “la voluntad”.

A ti, madre, por tus cuidados, tu amor infinito, comprensión y apoyo incondicional en este largo caminar por la vida y por enseñarme que hasta en los días de borrasca se pueden ver resplandores, con todo mi corazón. A ti, padre, por tu amor, por darme el mejor ejemplo de cómo ser un excelente médico y mejor ser humano, por tus consejos en los momentos difíciles, por enseñarme a caminar con paso firme y a aprovechar cada oportunidad para hacer el bien.

A ti, abuelita Yulia, gracias por tus cuidados, tu amor e infinita ternura cuando niño y como hombre. A ti abuelito Gume, por tus cuidados y enseñanzas cuando niño. A mis abuelos Miguel (QEPD) y María del Rosario (QEPD) y mi tío Olver, siguen aquí, muy cerca de mi corazón, siempre llevare conmigo su amor y enseñanzas.

A mis hermanas Laura Guadalupe y María del Rosario, de quien he recibido el amor más puro e incondicional que existe, con toda mi admiración y respeto por siempre, a los inigualables momentos juntos y por cada palabra de aliento, gracias.

A mis tíos: Xochitl, Elmer, Francis Guadalupe, Saúl, Silvia, Arcelia, por su amor y consejos.

A Primos: Jousset, Maria Eugenia, Saúl, Yentel, Yorela, Xochitl, Nayibi, Lizbeth, Yulia, Isaac, Sara, Moises, gracias por los consejos y su compañía en este camino.

A la facultad de medicina de mi alma mater: Universidad Regional del Sureste, Oaxaca: “Formación en la libertad para servir”, a todos mis grandes maestros, por las herramientas necesarias para mi formación, en especial Dr. Álvaro Jiménez de Alba (QEPD), Dr. Carazo Prado, Dr. Ismael Arjóna Pérez, QBP. Audifred, Dr. Solís Ramírez, Dra. Olvera Sumano, Dr. Arnaud Carreño, Dr. Ambrosio, Dra. Salustia. A la división de posgrado de la UNAM y sus autoridades académicas, a todos mis maestros de la especialidad: En especial al Dr. Santos, Dr. Mondaca, Dr. Reyes, Dra. Martinez, Dr. Jacobo, Dr. Escobedo, Dra. Paty Hernández, Dra. Bety Hernández, Dr. Espinoza, Dra. Ortega, Dra. Flores, Dr. Soto, gracias por compartirme su tiempo, su ciencia y arte.

A mis amigos, ahora hermanos: Juan Ignacio, por tu tenacidad, Humberto, por tu perseverancia, Raúl, José Roberto, Jesús, Casandra, Karla, Diana, Javier, Martín, Rosalba, Jaen, Verenice, mis inmejorables compañeros de generación... como creció la familia. A José Angel, Victor Alfonso, Luis A. Estudillo, Victor Alfonso, Arturo, Rey Angel, amigos de infancia, aunque lejos físicamente, seguimos unidos.

A los que estuvieron y están conmigo en este camino: compañeros residentes, médicos internos, medico pasantes, estudiantes, enfermeras, enfermeros, trabajo social, asistentes médicos, de cada hospital que conocí, en especial mi sede HGR 1 “Carlos Macgregor Sánchez Navarro”.

A dios, a la vida, a la música que es alimento del alma, por dejarme ver lo hermoso de cada instante y de cada persona. A ti, gracias por llegar a mi vida.

A cada persona, cada enfermo, que deposito en mi la confianza para ayudarlo con mi arte y a veces solo oírlo, al mejor libro que un internista puede tener, gracias.

IDENTIFICACIÓN DE LOS INVESTIGADORES.

INVESTIGADOR 1: Miguel Alejandro Benítez Sanfeliz.

Residente de 4º año de la especialidad de Medicina Interna, Hospital General Regional No. 1 "Carlos Macgregor Sánchez Navarro" Instituto Mexicano del Seguro Social. Gabriel Mancera 222, Col. Del Valle, Del. Benito Juárez, México, Distrito Federal, CP. 03100. Teléfono: 55 5369-4688.

Datos personales:

Dirección: Calle Yácatas No. 83, Interior 8, Col. Narvarte, Del. Benito Juárez, México, Distrito Federal. CP. 03020. Teléfono: Celular 961 24 99 653, Casa 55 65497916. Correo Electrónico: sanfe_md@live.com.mx.

INVESTIGADOR 2: Dr. Jorge Escobedo de la Peña

Médico Internista, Jefe de la Unidad de Investigación en epidemiología clínica del Hospital General Regional No.1 'Carlos MacGregor Sánchez Navarro' Gabriel Mancera 222. Col. del Valle. 03100 México, DF. Teléfono: 5639-4688. Correo Electrónico: jorgeep@unam.mx

INVESTIGADOR 3: Dr. Miguel Cruz López.

Jefe de la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. Av. Cuauhtémoc 330, Col. Doctores C.P. 06720. Teléfono: (55) 5761 2358; fax 5627 6914. Correo Electrónico: mcruzl@yahoo.com

INVESTIGADOR 4: Dra. Evangelina González Figueroa.

Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica. Hospital General Regional No. 1 "Carlos Macgregor Sánchez Navarro" IMSS. Gabriel Mancera 222. Col. del Valle. 03100 México, DF. Teléfono: 5639-4688.

Índice	Página.
Titulo	1
Comité de aceptación	2
Dictamen de autorización	3
Agradecimientos.	4
Identificación de los investigadores	5
Resumen	7
Marco Teórico	10
Justificación	17
Planteamiento del problema	18
Objetivos	19
Hipótesis de trabajo.	20
Material y métodos.	21
Análisis estadístico.	33
Aspectos éticos.	34
Recursos, financiamiento y factibilidad.	35
Aspectos de bioseguridad.	36
Cronograma de actividades.	37
Resultados	38
Discusión	47
Conclusiones	51
Referencias bibliográficas.	53
Anexos	55

RESUMEN.

Asociación de ictus isquémico con la presencia de polimorfismo -1131T>C del gen de la Apolipoproteína A-V.

Nombre y adscripción del investigador principal e investigadores asociados.

Dr. Jorge Escobedo de la Peña*, Dr. Miguel Alejandro Benítez Sanfeliz**, Dr. Miguel Cruz López***, Dra. Evangelina González Figueroa****.

*Médico Internista, Jefe de la Unidad de Investigación en epidemiología clínica del HGR No.1 'Carlos MacGregor Sánchez Navarro', Gabriel Mancera 222. Col. del Valle. 03100 México, DF. Teléfono: 5639-4688.

**Residente de 4º año de la especialidad de Medicina Interna, HGR No.1 'Carlos MacGregor Sánchez Navarro', IMSS.

*** Jefe de la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. Av. Cuauhtémoc 330, Col. Doctores C.P. 06720. Teléfono: (55) 5761 2358; fax 5627 6914.

****Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica. Hospital General Regional No.1 "Carlos Macgregor Sánchez Navarro" IMSS.

Antecedentes.

El Ictus isquémico, es la primera causa de discapacidad neurológica del adulto, 3ª causa de años de vida perdidos a nivel mundial, la 2ª causa de mortalidad en adultos en México y dentro de las primeras 10 causas de internamiento en un servicio de medicina interna. Es una enfermedad multifactorial, resultado de una compleja interacción gen-gen y gen-medio ambiente. Se ha asociado la presencia de polimorfismos del gen de la apolipoproteína A5 con un incremento en el riesgo de enfermedad cardiovascular y la presencia de ictus isquémico. El polimorfismo de nucleótido simple o SNP -1131T>C de la apolipoproteína A5, se ha asociado a múltiples factores de riesgo cardiovascular, desde fenotipos intermedios como hipertrigliceridemia o hiperglucemia, hasta fenotipos finales como el ictus isquémico o coronariopatía. Los factores de riesgo genético toman relevancia en adultos jóvenes con un solo factor de riesgo, que tienen expresión temprana de enfermedad cardiovascular, los cuales pueden funcionar como un marcador preventivo de daño. En la actualidad no existen estudios en México, que asocien este SNP con Ictus isquémico u otros factores de riesgo cardiovascular, por lo que se requiere un estudio que determine la frecuencia alélica y confirmen esta asociación en nuestro país.

Objetivos.

Objetivo primario.

Demostrar que la presencia del polimorfismo -1131T>C de APOA5 se asocia al incremento en la incidencia de Ictus isquémico.

Objetivos secundarios.

Analizar material genético de pacientes con ictus isquémico y controles pareados por edad y sexo.

Determinar la presencia de polimorfismo -1131T>C de la Apolipoproteína A-V en casos y controles.

Analizar la asociación del polimorfismo -1131T>C de la Apolipoproteína A-V con la presencia de ictus isquémico y las variables de confusión asociadas al estudio.

Material y métodos. Se realizó un estudio no experimental de casos y controles, con proporción 1 a 1, pareados por edad y sexo, en pacientes del Hospital General Regional No. 1 del IMSS. Se incluyeron 504 pacientes en el estudio, el grupo de casos $n= 252$ de pacientes con diagnóstico de ingreso de ictus isquémico, hospitalizados en el servicio de medicina interna y el grupo de controles $n= 252$ de pacientes sin ictus isquémico ni enfermedad aterotrombótica reciente, hospitalizados en el servicio de cirugía general. Previo Se aplicó la hoja de registro de datos a cada paciente, se tomaron muestras sanguíneas para análisis de DNA y determinación de polimorfismo -1131T>C de APOA5 en los genes candidato, mediante amplificación de las regiones conocidas por PCR en tiempo real, Se utilizó el primer con referencia AY422949 (GenBank de NCBI) y tecnología TaqMan para el rs662799, con dos fluorocromos, que se unen a los sitios polimórficos de cada alelo. Se determinó el SNP en un total de 240 casos y 233 controles, existieron 31 pérdidas en el análisis del SNP por baja concentración de ADN en la muestra y señal inadecuada de la sonda Taqman.

Análisis estadístico.

Se realizó análisis estadístico univariado, bivariado y multivariado de los datos obtenidos, se realizó estadística descriptiva para las variables demográficas, clínicas y bioquímicas, se aplicó razón de momios (OR) de la prevalencia, con IC al 95%, valor alfa al 0.05. Se aplicó el modelo de regresión logística no condicional para las variables de confusión.

VARIABLES DE ESTUDIO.

Variable dependiente: Ictus isquémico.

Variable independiente: Presencia de polimorfismo -1131 T>C de la Apolipoproteína A-V.

Consideraciones éticas y de bioseguridad.

En acuerdo a lo dispuesto el Título Quinto, Capítulo Único, con todas sus Fracciones en la Ley General de Salud, última reforma publicada en el Diario Oficial de la Federación el 18 de diciembre de 2007, el Título Segundo, Capítulo I, Artículo 17, Fracción II, del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación en Salud, última reforma publicada en el Diario Oficial de la Federación el 06 de enero de 1987; se considera que esta investigación es de riesgo mínimo, ya que contempla la realización de examen físico, interrogatorio y toma de muestras de sangre. El estudio no contempla la participación de menores de edad, mujeres embarazadas o grupos subordinados.

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

La información se manejará en forma confidencial, de tal forma que se eliminará el nombre del paciente y su cédula de identificación en todas las bases de datos y solo se vinculará con el número de folio para en caso de que haya información faltante que sea necesaria recabar. Solo el investigador principal tendrá acceso a esta información. El análisis será siempre en forma grupal, de forma tal que no será posible identificar a los individuos participantes en el análisis.

Aspectos de bioseguridad.

Las actividades del presente estudio, se han clasificado con un nivel de bioseguridad 2 (CDC), grupo de riesgo 1 (OMS- 2005), por lo que se tomaron las consideraciones pertinentes en su realización.

Recursos e infraestructura.

Se conto con un médico residente capacitado y dos químicos biólogos expertos en el área en la realización del estudio. El HGR 1 cuenta con un área adecuada para manejo y almacenamiento de muestras, el método de transporte de las mismas fue efectivo, se dispuso de los recursos financieros necesarios para la realización del mismo. El universo de trabajo del proyecto fue accesible, se dispuso de los recursos humanos, físicos y financieros necesarios.

Tiempo de desarrollo. Marzo de 2014 a Enero de 2015.

Palabras clave: Ictus isquémico, polimorfismo -1131T>C, Apolipoproteína A-, riesgo cardiovascular.

Marco teórico.

La enfermedad vascular cerebral (EVC), fue la tercera causa de años de vida perdidos a nivel mundial en el 2012, mostrando un incremento del 12% en los últimos 10 años [1]. Según datos de la American Heart Association (AHA), la enfermedad vascular cerebral es la principal causa de discapacidad neurológica del adulto, con una incidencia anual de 610 000 nuevos casos; en el 83% de los casos, la EVC es de tipo isquémico (Ictus isquémico), con una tasa de mortalidad de 22.8% la cual incrementa con la edad [2,3]. La EVC fue la sexta causa de mortalidad general en México en el año 2012 [4].

Los factores de riesgo modificables como la hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia, tabaquismo, consumo de alcohol, obesidad y síndrome metabólico explican en mayor medida la incidencia de EVC tipo isquémico, sin embargo gracias a los estudios de escaneo en todo el genoma (GWAS, por sus siglas en inglés), actualmente se han identificado un espectro cada vez mayor de factores de riesgo genéticos asociados a la enfermedad [5,6].

Se ha demostrado que la hipertrigliceridemia es un factor independiente de riesgo para EVC. Un meta-análisis de 21 poblaciones basado en estudios prospectivos con un total de 65.863 hombres y 11.089 mujeres, se encontró una asociación entre los niveles de triglicéridos (TG) y enfermedad cardiovascular en población general. En promedio la elevación de 89 mg/dL en la concentración de TG se asoció con un incremento de 12% del riesgo cardiovascular en hombres y 37% en mujeres tras ajustar por CT (Colesterol total), LDL-C (Colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad), HDL-C (Colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad), índice de masa corporal (IMC), presión arterial y diabetes [7]. En 13 951 pacientes en el Copenhagen Heart Study seguido por 33 años para el accidente cerebrovascular isquémico, el aumento de niveles escalonados de triglicéridos postprandiales se asociaron con un mayor riesgo de accidente cerebrovascular isquémico en hombres y mujeres. Los niveles elevados de colesterol total no se asociaron con riesgo de accidente cerebrovascular isquémico en mujeres, pero los niveles de > 9,00 mmol/L incrementaron el riesgo en hombres [3].

Apolipoproteína A-V: Estructura y función.

El gen de la apolipoproteína A5 o A-V, fue descubierto en el año 2001 por Pennacchio y cols. Como resultado de sus investigaciones sobre nuevos marcos de lectura abierta en el cromosoma 11q23 en el conjunto de genes (Clúster) ApoA-I/ApoC-III/ApoA-IV.

El gen de ApoA5, se localiza a 30 kilobases (kb) con dirección 3' del gen ApoA4 y 40 kb del gen ApoC3, consiste en 4 exones que codifican 366 aminoácidos, con 71% de similitud a APOA5 murino y 27% del gen APOA4 humano. Se expresa en el hígado y su producto la apolipoproteína A5 (APOA5) es un monómero con masa

molecular de aproximadamente 39 kDa. En cuanto a su estructura, destaca un importante componente alfa hélice en un contexto de predominio hidrofóbico, donde el extremo C-terminal tiene un papel importante en la unión de la proteína a los lípidos. Se secreta a la circulación ligada a quilomicrones, VLDL (colesterol asociado a lipoproteínas de muy baja densidad) y HDL, cuenta con valores plasmáticos en el humano que varían entre 24 y 406 µg/l (<0.1% de la concentración de Apo A-I), lo que dificulta su medición en plasma mediante técnicas de inmunoanálisis [8,9,10]. La maduración de esta proteína ocurre por pérdida de 23 aminoácidos correspondientes al péptido señal. Es sobre-expresada en respuesta a factores de transcripción que afectan al metabolismo de TG como el PPAR-α (*Peroxisome proliferator activated receptor alpha*), el receptor nuclear y el ROR (*Receptor tyrosine kinase-like orphan receptor*) 1 y 4 y los ligandos del receptor X del hígado (T0901317) pueden regular la expresión a través de SREBP-1c (*Sterol Element Binding Protein 1C*). [8].

La ApoA5 ha demostrado ser un regulador clave del nivel plasmático de TG, Van der Vliet et al. Observaron una reducción de 70% en el nivel de triglicéridos (TG) plasmáticos en ratones con sobreexpresión adenoviral de Apo A5 en comparación con ratones de tipo salvaje. Esta reducción se atribuyó a la disminución de los TG en la fracción VLDL. Por el contrario los ratones con nula producción de Apo A5 (*knock-out*) tuvieron un incremento de 4 veces las cifra de TG plasmáticos. Estos resultados indican una relación inversa entre los niveles de ApoA5 y TG, por lo que el funcionamiento anormal de ApoA5, es un factor de riesgo para hipertrigliceridemia. La distribución de ApoA5 en lipoproteínas es similar a la de Apo C-III, al parecer tiene un efecto antagónico y una intermodulación en la regulación de los niveles plasmáticos de TG. Se ha demostrado una disminución en la expresión de ApoA5 por acción de la insulina, mediante inhibición del promotor de ApoA5, hecho que puede explicar la asociación entre hiperinsulinemia e hipertrigliceridemia. Además de su papel en el metabolismo de los TG, la ApoA5 también ha sido reconocida como una proteína de fase aguda, esto se demostró por el incremento de los niveles de APOA5 de forma independiente a los niveles de triglicéridos, en ratones que fueron inyectados con una endotoxina.

Una teoría de los mecanismos moleculares mediante los cuales ApoA5 regula los TG plasmáticos, es debido al incremento de catabolismo de lipoproteínas ricas en TG mediado por LPL (lipoproteína lipasa). Merkel et al. reportaron que la reducción de triglicéridos asociados a VLDL y quilomicrones es resultado del aumento de la hidrólisis mediada por LPL, asimismo observaron que Apo A5 no tuvo efecto sobre la tasa hidrolítica de LPL en ausencia de proteoglicanos. Xiao Shu et al. Reportaron que ApoA5 posee alta afinidad por proteoglicanos de heparan sulfato, a través de su residuo de carga positiva que mejora la unión e hidrólisis de lipoproteínas [9,10]. Estudios en ratones transgénicos demostraron que la ApoA5 actúa mediante una interacción con proteoglicanos que unen la LPL a la superficie celular (11).

Los proliferadores de peroxisomas activados por receptores (PPARs), son factores de transcripción nuclear activados por ligandos, que pertenecen a la superfamilia

de receptores esteroideos y juegan un papel importante en la homeostasis de nutrientes. Se conocen 3 subtipos PPAR α , PPAR β/δ y PPAR γ . Un elemento de respuesta funcional del PPAR α ha sido identificado en el promotor del gen de APO A5 humano, clasificado como gen candidato. Los agonistas de PPAR α incrementan la expresión hepática y los niveles plasmáticos de APO A5, el cual es un regulador positivo de lipoproteína –lipasa (LPL), enzima que se une al endotelio capilar del musculo y tejido adiposo para mediar la eliminación de triglicéridos unidos a lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y quilomicrones. La expresión de la LPL en hígado está restringida a las células de Kupffer, La actividad de la LPL, tiene una regulación postranslacional a través de la secreción de factores de modulación, que incluyen apolipoproteína A-V (APO A5) [12].

Una teoría alternativa propone que la APOA5, inhibe la tasa de producción de VLDL. Weinberg et al. Proporcionaron evidencias estructurales y químicas de que ApoA5 modifica los niveles de TG alterando la tasa de ensamblaje y secreción de las partículas VLDL en lugar de mejorar la hidrólisis de lipoproteínas LPL ricas en TG. En un estudio en ratones, mediante transfección de ApoA5 por adenovirus, Schaap et al. demostraron una reducción de hasta 37% en VLDL asociadas a TG, sin afectar las partículas VLDL de montaje.

En estudios de hepatectomía parcial en ratas, se observó un incremento del ARNm de apo A-V hasta 3,5 veces. Shu et al. Encontraron que aproximadamente el 50% de la Apo A-V recién sintetizada es retenida en la célula en asociación con gotitas de lípidos citosólicas. Pamir et al. Informaron que ratones transgénicos ApoA5 con una dieta alta en grasa y sacarosa, secretaban cantidades inferiores de TG. En un estudio con células de hepatocarcinoma Humano tipo McArdle 7777 transfectadas con APOA5, se demostró por microscopia de fluorescencia confocal que APOA5 funciona como un reóstato que dirige la secreción y montaje de inclusiones de lípidos citosolicos en el hepatocito [13].

Polimorfismos de APOA5 asociados a factores de riesgo cardiovascular.

El 90 % de la diversidad fenotípica humana proviene de las variaciones heredadas de una sola base o polimorfismos de nucleótido único (SNP). La cual se origina por el intercambio reciproco de los nucleótidos; adenina, citosina, timina o guanina y presentan una incidencia mayor del 1 %. Ocurren aproximadamente cada 100 a 1000 bases, variable y con distribución aleatoria a lo largo del genoma humano. La identificación de genes clínicamente relevantes permite redefinir muchas enfermedades en función de la relación genotipo- fenotipo. Es factible que esta nueva clasificación molecular genética de la enfermedad, establezca categorías solo basadas en la modulación de genes individuales, que actuarían como factores predictivos, permitiendo un mejorar el abordaje diagnostico – terapéutico [14,15]. Los SNP funcionales que se encuentran en los promotores de los genes que sintetizan proteínas, afectan los niveles de expresión génica [15].

Hay varios SNPs asociados con el gen ApoA5, los tres haplotipos más comunes relacionados con el gen ApoA5 son APOA5 * 1, ApoA5 * 2, y ApoA5 * 3. Estos

incluyen cinco de los más típicos SNPs ApoA5: -1131T> C, -3A> G, 56C> G (también referido como S19W), IVS + 476G> A, y 1259T> C. Estos 3 haplotipos, cuya frecuencia poblacional es del 83,4, el 8,0 y el 8,4%, respectivamente, corresponden al 98% de los haplotipos Apo A5 en la población blanca.

El haplotipo ApoA5*2 contiene 4 alelos raros (-1131T>C, -3A>G, IVS+476G>A y 1259TC) y se reporta que posee importancia en el metabolismo de TG. La presencia del polimorfismo -1131T>C, también conocido como SNP3, define el haplotipo ApoA5*2 [16].

El SNP -1131T>C o rs662799 de APOA5 es la variante más estudiada de este gen, también denominada SNP3, con posición 116792991, localizado en la región promotora del cromosoma 11, su asociación con la concentración de TG muestra bastante consistencia y ha sido confirmada en varios estudios que incluían Caucásicos, Japoneses, Chinos y Taiwaneses. Se ha propuesto que este polimorfismo podría modular la actividad trascricional de la proteína, pero este hecho no se ha podido demostrar, llegando a sugerirse que -1131T > C y el resto de polimorfismos integrantes de haplotipos *APOA5*2* carecen de funcionalidad y que las asociaciones encontradas, reflejarían el hecho de que -1131 T > C es un marcador de variaciones funcionales del gen *APOC3* siendo los efectos de *APOA5*2* debidos al desequilibrio de ligamiento de -1131T > C con 482T > C (*APOC3*) [8,16].

La frecuencia reportada para el alelo raro de SNP -1131T>C (-1131C) en diferentes poblaciones es: Hungría 5.7%, Reino unido 6.0%, España 7.0%, EE.UU (Blancos 6.0%, Afroamericanos 12%, hispanos 16%), India 20%, China 29.9%, Japón 34%, la frecuencia alélica es mayor en población afroamericana e hispánica que en blanca. Los análisis genéticos indican que los homocigotos para la variante -1131C en población blanca, presentan concentraciones 40% mas elevadas de TG que en los homocigotos del alelo común. En mujeres asiáticas se ha observado una elevación del 36% de TG para la variante -1131C.

La asociación entre los portadores del alelo raro de polimorfismo -1131T>C del gen ApoA5 y mayor riesgo de enfermedad coronaria se ha demostrado en mujeres estadounidenses con OR 1.85 (1.03-3.34) IC 95% y en chinos OR 2.26 (1.12-4.53) IC 95%. Esta asociación se ha reportado también en pacientes húngaros con enfermedad coronaria grave OR 1.99 (1.30-3.04) IC 95%, parece ser independiente de la etnia y es similar en magnitud en las poblaciones india y blanca [16].

En un estudio chileno de casos y controles, cuyo objetivo fue determinar la asociación entre coronariopatía y SNPs de ApoA5, n= 425, con edades entre 33 y 74 años, 209 con coronariopatía (estenosis >70%) y 261 controles, se realizó la genotipificación de los SNP S19W y -1131T>C del gen ApoA5 mediante la técnica de PCR- RFLP. La distribución genotípica para el polimorfismo -1131T>C en pacientes con EC (TT: 56%, TC: 37%, y CC: 7%). Las ORs relacionadas a los alelos mutados 19W (1.12; I.C.95%, 0.72 – 1.74, p=NS) y -1131C (1.19; I.C.95%,

0.87 – 1.63, $p=NS$), confirman la ausencia de asociación, sin embargo las concentraciones de glucosa y TG fueron mayores en los sujetos portadores de SNP -1131C, tanto en casos como en controles, por lo que al ser factores de riesgo conocidos incrementan el riesgo de coronariopatía [17].

En el Framingham Heart study, el cual incluyó 1,129 hombres y 1,262 mujeres se investigó la asociación de 5 SNPs del gen de ApoA5: -1131T>C, -3A>G, 56C>G IVS3+, 476G>A y 1259T>C, con subfracciones de lipoproteínas y riesgo cardiovascular. El polimorfismo -1131T>C se asoció significativamente a una mayor concentración de TG plasmáticos en ambos géneros, con una $P=0.001$ y una concentración menor de HDL en mujeres, con una $P=0.019$. Se realizó un análisis de supervivencia con el modelo de regresión de Cox, ajustando las variables: edad, índice de masa corporal (IMC), tabaquismo, diabetes mellitus, consumo de alcohol, uso de betabloqueadores para ambos géneros y menopausia o terapia de remplazo hormonal en mujeres, para determinar riesgo de enfermedad cardiovascular asociado a los SNPs de ApoA5, los resultados mostraron que el alelo menor -1131T>C se asoció a un incremento de riesgo en mujeres (1.85; IC 95%, 1.23-3.34; $P=0.040$) [18].

Un estudio de asociación genética entre ApoA5 y niveles de triglicéridos: The Dallas Heart Disease Prevention Program, el cual incluyó 2600 individuos (negros, hispanos y blancos), demostró una fuerte asociación genética entre los SNPs -1131T>C y c.56C>G de APOA5 con niveles elevados de triglicéridos, resultado que predominó en mujeres hispanas y hombres blancos e hispanos [10].

En un estudio español que estudió la asociación entre el SNP-1131T>C y los lípidos de la dieta mediado por concentraciones de lipoproteínas ricas en TG, con una $n=1465$ pacientes, entre 20 y 65 años, con sobrepeso y obesidad (IMC 25 - 40). Las concentraciones de TG y colesterol VLDL (VLDL-C) fueron mayores en portadores del alelo menor (CC), para TG (1.5 ± 0.61 vs. 1.1 ± 0.46 mmol/L) ($P=0.02$) y para VLDL (0.7 ± 0.32 vs. 0.6 ± 0.22 mmol/L) ($P=0.01$) [19].

Polimorfismo -1131T>C y enfermedad vascular cerebral tipo isquémico.

Algunos estudios de epidemiología molecular se han centrado en la asociación entre SNP -1131T>C de APOA5 con enfermedad vascular cerebral tipo isquémico y niveles de TG.

En un estudio chino de casos y controles, se determinó la asociación entre enfermedad vascular cerebral (EVC) tipo isquémico y presencia de SNP -1131T>C, con una $n=588$, 272 casos de EVC y 316 controles. Se obtuvo una OR 2.1, (1.01-4.37, IC 95%) para EVC en portadores de genotipo -1131CC, 1.34 (1.02-1.76, IC 95%) para -1131CG y 0.71 (0.51-0.92, IC 95%) para el alelo -1131TG [20]. Un estudio en Hungría investigó la distribución del SNP -1131T>C de APOA5 mediante PCR-RFLP en 201 pacientes con síndrome metabólico y edad promedio de 61.1 ± 0.76 años, comparado con 210 controles sanos, con edad

promedio de 52.9 ± 1.23 años. Los resultados del análisis con el modelo de regresión múltiple determino que el alelo -1131CC es probablemente un factor de riesgo independiente de síndrome metabólico, al ajustar las variables de edad, genero, colesterol total, infarto del miocardio e infarto cerebral la asociación fue mayor (OR=3.622, IC 95%: 1.200-10.936, $p=0.02$) [21].

Un estudio chino con 106 casos de pacientes con Enfermedad vascular cerebral tipo isquémico o ataque isquémico transitorio y 157 controles sanos, determinó la presencia del SNP 1131T>C por PCR-RFLP (Reacción en cadena de polimerasa-polimorfismos de longitud por fragmentos de restricción) en ambos grupos. Los resultados mostraron un OR para la asociación del alelo C con ictus isquémico de 0.96 (0.66-1.38, IC 95%). No hubo diferencias significativas en las frecuencias alélicas entre los géneros de los controles. Mediante un modelo de regresión logística condicional, posterior a ajustar por edad y género, se mostró que las siguientes variables se asociaron a ictus isquémico: Antecedente de hipertensión arterial sistémica con OR = 1,93, (1.19 - 3.13, IC del 95%), diabetes mellitus con OR = 2,47 (1,36 - 4,50, IC 95%) y nivel de triglicéridos. Un aumento de 1 unidad de logaritmo natural (2.72x) en el nivel de triglicéridos se asoció con una OR ajustada de 2,22 (1,35-3,63, IC 95%) [22].

Mediante el meta-análisis, (National Knowledge Infrastructure y CBM Chinese BioMedical Literature Database), se evaluó la asociación entre SNP -1131T>C con enfermedad vascular cerebral tipo isquémico y niveles de TG, se calculó razón de momios combinada con IC 95% en el modelo dominante (CC+TC vs TT), modelo recesivo (CC vs TC+TT), comparación entre homocigotos (CC vs TT) y heterocigotos (TC vs TT). La asociación entre el modelo dominante (CC+TC vs TT) y los niveles plasmáticos de colesterol total (CT), HDL-C y TG se midieron por una diferencia de medias ponderada (DMP) con IC 95%, asimismo se realizó un análisis por subgrupos para evaluar los efectos específicos de cada etnia. Se evaluaron un total de 2.294 casos de EVC isquémico y 1.858 controles, contenidos en 8 estudios. Los resultados mostraron que el SNP - 1131T > C de APOA5 m, se asoció significativamente con EVC isquémico en todos los modelos de comparación (CC + TC vs TT, OR = 1,70, IC 95% = 1.24- 2,32; CC vs TC + TT, OR = 1,36, IC 95% = 0,98 - 1,90; CC frente a TT, OR = 1,73, IC 95% = 1,34 - 2,23; TC vs TT, OR = 1,67, IC 95% = 1,19 - 2,36). En el análisis de subgrupos según la etnia, los europeos poseían un mayor riesgo de EVC, mayor en CC vs TT (OR = 4.47, 95% = 1,33 a 15,06). Hubo asociación significativa entre el alelo C y niveles elevados de TG en casos y controles. Los niveles de TG fueron mayores en el EVC tipo isquémico y controles portadores del alelo APOA5- 1131 C (CC + TC vs TT, DMP casos= 0,43, IC 95%=0,27 - 0,59 DMP controles 0.51, IC 95% = 0.35- 0,66). No hubo diferencia significativa, entre los niveles de HDL-C y CT en ambos grupos. De acuerdo a este estudio los pacientes portadores del alelo CC de SNP -1131T>C DE APOA5, tienen 73% más de riesgo de EVC tipo isquémico y los portadores de alelo CC+TC un incremento de 45 y 51 % respectivamente en niveles de TG [23].

Se realizó un estudio en Turkia para determinar si los polimorfismos S19W (rs3135506) and G185C (rs2075291) y el SNP del promotor -1131T>C (rs662799) de APOA5, son factores de riesgo para ictus isquémico. Se estudiaron 272 pacientes con ictus isquémico y 123 controles. Se determinaron los genotipos por PCR – RFLP, para -1131T>C y G185C. La frecuencia del alelo S19W fue de 0.090 en pacientes con ictus isquémico y 0.062 en controles (P=0.191). Las frecuencias del alelo menor de -1131T>C and G185C en pacientes fue de 0.106 y 0.004 respectivamente y similares en controles. El colesterol total (CT) y LDL, fueron significativamente mayores en pacientes con ictus isquémico que tenían el alelo S19W comparado con no portadores. Una diferencia significativa se encontró en los niveles de CT en pacientes con EVC, el cual fue más elevado en portadores de alelo -1131C que en los de alelo salvaje. Hubo una tendencia a una mayor frecuencia de accidente cerebrovascular isquémico entre hipertensos portadores del alelo -1131C, diabéticos o con sobrepeso en comparación con los no portadores. Sin embargo, mediante un análisis de regresión logística los genotipos APOA5 no estaban asociados con el riesgo de ictus isquémico. El presente estudio demostró que la realización de alelos raros de APOA5: S19W, -1131T > C y G185C solos, no constituyen un riesgo para el accidente cerebrovascular isquémico en los sujetos estudiados [24].

Se investigó la asociación del polimorfismo del promotor -1131T>C con EVC tipo isquémico con los subtipos de pequeño vaso, gran vaso y mixta, mediante un estudio con 302 casos y 289 controles. Los resultados mostraron un incremento de nivel de TG en todos los grupos en comparación con controles (p=<0.01). La frecuencia del alelo -1131C de APOA5, fue aproximadamente el doble en pacientes con EVC en comparación con controles ((5 vs 10-12%, p <0,05. El alelo -1131C también se asoció a un mayor incremento en los niveles de TG 2.21±0.6 mmol. En un análisis multivariado mediante modelo de regresión logística, ajustado por edad, sexo, colesterol sérico, la hipertensión, diabetes mellitus, tabaquismo, consumo de alcohol y cardiopatía isquémica, se observó que el alelo -1131C se asoció a un incremento de riesgo para EVC (p <0,05; OR = 2.1 [1.3 a 4.7]), en todos sus subtipos. Lo anterior sugiere que el alelo -1131C deAPOA5 es un factor de riesgo independiente para desarrollo de EVC tipo isquémico [25].

Existen múltiples estudios que demuestran que la presencia de polimorfismos de genes de APOA5, sobretodo en el SNP mas estudiado -1131T>C (rs662799) se asocia a un incremento de riesgo cardiovascular, correlaciona con elevación de cifras de TG plasmáticos, descenso de HDL-C, Hiperglicemia y síndrome metabólico, así como por los efectos intrínsecos de la expresión anormal de este gen y las alteraciones funcionales que conllevan un desequilibrio en el metabolismo lipídico y finalmente cambios en la superficie endotelial, condicionando mayor riesgo de aterosclerosis. Se ha considerado que el polimorfismo -1131T>C de APOA5 pueda ser una factor de riesgo genético independiente para ictus isquémico, la mayoría de los estudios se han realizado en población asiática y caucásicos, en los cuales los SNPs encontrados varían de una población a otra. Sin embargo a la fecha no se ha realizado ningún estudio mexicano.

JUSTIFICACIÓN.

El ictus isquémico es la causa más frecuente de discapacidad neurológica en el adulto y 3ª causa de años de vida perdidos a nivel mundial y la 2ª causa de mortalidad en adultos en México.

En el Hospital General Regional No. 1 del IMSS es una de las 10 principales causas de ingreso al servicio de urgencias y medicina interna. Esta descrito que pacientes con múltiples factores de riesgo cardiovascular posiblemente desarrollen una enfermedad aterotrombotica que sea la causa de muerte, sin embargo en adultos jóvenes con un solo factor de riesgo, identificar factores de riesgo genéticos representa un campo de estudio importante en nuestra población.

Los estudios previos de polimorfismos de nucleótido único del gen de APOA5 y su relación con ictus isquémico se han realizado con mayor frecuencia en población europea y asiática (con características genéticas diferentes de nuestra población), sin embargo, en la actualidad no existen estudios en México, por lo que se requiere un estudio que determine la frecuencia alelica y confirmen esta asociación en nuestro país.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La presencia de polimorfismo de nucleótido único -1131T>C de la apolipoproteína A-V, se ha asociado con incremento de riesgo cardiovascular en estudios previos, incluso se asociado con mayor incidencia de fenotipos intermedios como hipertrigliceridemia y fenotipos finales como coronariopatía e ictus isquémico.

No existen estudios en nuestro país que demuestren esta asociación.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:

¿Cuál es la asociación de la presencia de polimorfismo -1131T>C de la apolipoproteína A-V y enfermedad vascular cerebral tipo isquémico en pacientes del Hospital General Regional No. 1?

OBJETIVOS

GENERAL:

- Demostrar que la presencia del polimorfismo -1131T>C de la Apolipoproteína A-V se asocia con incremento en la incidencia de enfermedad vascular cerebral tipo isquémico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Identificar pacientes con Enfermedad Vascular Cerebral tipo Isquémico.
- Tomar muestras sanguíneas para identificar variables de confusión y extraer material genético.
- Analizar material genético de pacientes con ictus isquémico y controles pareados por edad y sexo.
- Determinar la presencia de polimorfismo -1131T>C de la Apolipoproteína A-V en casos y controles.
- Analizar la presencia de polimorfismo -1131T>C de la Apolipoproteína A-V con la presencia de ictus isquémico.
- Analizar variables de confusión asociadas al estudio tales como: LDL-C (colesterol de baja densidad), HDL-C (colesterol de alta densidad), triglicéridos, presión arterial sistólica.

HIPÓTESIS

H1: La presencia de polimorfismo -1131 T>C de la Apolipoproteína A-V se asocia con incremento en la incidencia de enfermedad vascular cerebral tipo isquémico.

H0: La presencia de polimorfismo -1131 T>C de la Apolipoproteína A-V no se asocia con incremento en la incidencia de enfermedad vascular cerebral tipo isquémico.

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO: *No experimental, de Casos y controles pareados* (proporción 1 a 1).

UNIVERSO DE TRABAJO: Población derechohabiente del IMSS, adscrita al Hospital General Regional No. 1.

LUGAR: Hospital General Regional No.1 “Dr. Carlos Macgregor Sánchez Navarro” del Instituto Mexicano del Seguro Social”.

Gabriel Mancera 222, Col. Del valle, Delegación Benito Juárez; México, Distrito Federal.

FECHA DEL ESTUDIO. Marzo de 2014 a Enero del año 2015.

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

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

Que acepten participar en el estudio.

Mayores de 18 años.

Ambos sexos.

Controles: Pacientes hospitalizados en el servicio de cirugía general.

Que acepten participar en el estudio.

Mayores de 18 años.

Ambos sexos.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

Casos: Ictus hemorrágico (antecedente o reciente), cardiopatía isquémica con historia de síndrome isquémico coronario (SICA) reciente.

Controles: Ictus de cualquier tipo e historia de SICA reciente.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.

Pacientes en los que no se completo el proceso de determinación del polimorfismo, serán eliminados para esta variable.

VARIABLES DE ESTUDIO

- Dependiente:

Enfermedad vascular cerebral tipo isquémico (Ictus isquémico)

- Independientes :

Presencia de polimorfismo -1131 T>C de la Apolipoproteína A-V.

Edad.

Sexo.

Confusoras:

Tabaquismo.

Diabetes Mellitus tipo 2.

Hipertensión Arterial Sistémica.

Dislipidemia.

Cardiopatía Isquémica.

Obesidad.

Niveles de hemoglobina.

Niveles de Glucosa.

Niveles de Triglicéridos.

Niveles de Colesterol.

TA sistólica.

Tamaño de la muestra.

Cálculo de la Muestra: Se obtuvo mediante la fórmula de estimación de riesgos en estudio de caso y control pareado, como se muestra a continuación.

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

$$p = \frac{p_1 + p_2}{2} \quad z_{1-\alpha/2} = 1,96 \quad z_{1-\beta} = 0,84$$

$$p_1 = \frac{wp_2}{(1-p_2) + wp_2}$$

Odds ratio aproximado que se desea estimar (w)= **3.4**.
Frecuencia de la exposición entre los casos (p_1)
Frecuencia de la exposición entre los controles (p_2) = **0.05 (5%)**.
Seguridad o riesgo de cometer un error de tipo I (α): 95% ($\alpha = 0,05$).
Poder estadístico ($1-\beta$) o riesgo de cometer un error de tipo II: $\beta = 0,2$ (80%).
Razón de tamaño de la muestra, casos/controles=1.

$$p_1 = 3.4 \times 0.05 / (1-0.05) + 3.4 \times 0.05 = 0.17 / 1.12 = 0.15 \text{ (15\%)}$$

$$p = 0.15 + 0.05 / 2 = 0.2 / 2 = 0.1$$

$$n = [1.96 \sqrt{2 \times 0.1(1-0.1)} + 0.84 \sqrt{0.15(1-0.15) + 0.05(1-0.05)}]^2 / (0.15 - 0.05)^2$$

$$= [1.96 \sqrt{(0.2)(0.9)} + 0.84 \sqrt{(0.15)(.85) + (0.05)(0.95)}]^2 / (0.15 - 0.05)^2$$

$$= [0.82 + (0.84)(\sqrt{.12 + 0.04})]^2 / (0.1)^2 = 0.82 + (0.84)(\sqrt{0.16}) / 0.01 = [0.82 + 0.33]^2 / 0.01$$

$$= [1.15]^2 / 0.01 = 1.34 / 0.01 =$$

Tamaño de la muestra -casos=252.

Tamaño de la muestra -controles= 252.

Total= 504.

Fuente:

Fleiss JL: Statistical methods for rates and proportions. 2nd edition, John Wiley & Sons, 1981: 38-48.

DEFINICIÓN DE VARIABLES.

Nombre	Definición	Escala	Indicador
Polimorfismo A-1131 T>C de la Apolipoproteína A-V.	La presencia de SNP -1131 T>C de la Apolipoproteína A-V.	Nominal	Alelo TT=0 Alelo TC=1 Alelo CC=2
Enfermedad Vasculares Cerebral tipo Isquémico (ictus isquémico):	Desarrollo de síntomas y signos clínicos de alteración focal o global de la función cerebral, con una duración de una hora o más, o que progresan hacia la muerte y no tienen otra causa aparente que un origen vascular por disminución en el aporte sanguíneo y/o presencia de Hipodensidad compatible con infarto o signos tempranos demostrados en la tomografía de cráneo simple con signos y síntomas acompañantes. (Alteraciones tempranas del EVC isquémico por tomografía: reforzamiento de la arteria cerebral media, edema localizado, disminución de la relación sustancia gris-blanca, disminución de la visualización de los ganglios de la base).	Nominal	Presencia 1 Ausencia 2
Tabaquismo	Consumo de cigarrillos en la vida del sujeto, expresado por el tiempo de duración y el número promedio de cigarrillos consumidos, en función del consumo en el último año y en los últimos cinco años.	Nominal	Fuma = 1 No fuma = 0

Obesidad	Índice de masa corporal (IMC) mayor de 30 ó 25 con peso bajo (talla <150 cm. En mujeres, <160 cm. En Hombres) de acuerdo a Según la NOM-008-SSA3-2010 para manejo Integral del sobrepeso y la Obesidad.	Nominal	Con obesidad =1. Sin obesidad =0.
Género	Característica biológica que distingue al hombre de la mujer.	Nominal	1. Femenino 2. Masculino
Edad	Número de años cumplidos al momento del estudio.	Razón	Número de años
Cardiopatía isquémica	Antecedente de infarto agudo de miocardio, angina inestable o angina estable con o sin tratamiento médico farmacológico.	Nominal	Con cardiopatía isquémica =1 Sin cardiopatía isquémica= 0
Hipertensión arterial	Aumento de las cifras tensionales y metas de control de acuerdo a la clasificación del 8° informe del Comité Nacional Conjunto de Hipertensión arterial de los Estados Unidos (JNC 8). Antecedente.	Nominal	Normotenso = 0. Hipertenso = 1.
Diabetes Mellitus	Diagnóstico previo de Diabetes Mellitus; Ingesta de fármacos hipoglucemiantes o uso de insulina; según criterios de la ADA 2014: Glucemia central mayor de 126 en dos o más determinaciones a partir de su ingreso; Glucemia mayor de 200 más síntomas clásicos de la Diabetes Mellitus; Curva de tolerancia oral a glucosa >200 mg/dl	Nominal	Sin Diabetes = 0 Diabetes = 1

	a las 2 horas, Hemoglobina glucosilada mayor de 6.5 %.		
Dislipidemia	Diagnóstico previo de dislipidemia; Colesterol mayor de 200 mg/dl; colesterol LDL > 160 mg/dl, Trigliceridos mayores de 150 mg/dl, Colesterol HDL > 40 mg/dl; Ingesta de fármacos hipolipemiantes.	Nominal	Con dislipidemia = 1 Sin dislipidemia = 0
Niveles séricos de: glucosa Colesterol total Triglicéridos	Son los niveles en sangre periférica de los diferentes parámetros bioquímicos considerados como factores de riesgo.	Razón	Niveles en mg/dl.

Operacionalización de variables

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

Polimorfismo A-1131 T>C de la Apolipoproteína A-V: Sustitución de Timina (alelo mayor) por Citosina (alelo menor) en la posición 116 792 991, región de promotor en el cromosoma 11q23 determinado como SNP: rs662799 (NCBI/dbSNP: www.ncbi.nih.gov/SNP).

Modelos genéticos de comparación	Expresión
Modelo dominante	TC+CC VS TT
Modelo recesivo	CC VS TT+CC
Homocigoto	CC VS TT
Heterocigoto.	TC VS TT

Extracción, cuantificación e integridad del DNA. El aislamiento del DNA de las células mononucleares se realizará por el método basado en la separación en columnas (QIAamp DNA BloodMidi/ Kit, Quiagen, Alemania). La pureza y concentración se evaluarán en el espectrofotómetro a 260/280 nm, y la integridad

mediante electroforesis en geles de agarosa al 0.9%. Se realizará en las instalaciones del laboratorio de la unidad de investigación en bioquímica del Hospital de Especialidades de Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS.

Análisis de los SNPs de los genes candidato. El análisis de los polimorfismos de los genes candidato se realizará mediante amplificación de las regiones conocidas por PCR para la detección de los SNPs con el equipo PCR tiempo real. Se utilizara primer con referencia AY422949 (GenBank de NCBI) con las siguientes secuencias: 5 'CCC CAG GAACTG GAG CGAAATT 3' y 5 'TTC AAG CAG AGG GAA GCC TGT A 3'. El método consiste en el empleo de la tecnología TaqMan con dos fluorocromos diferentes (rojo y verde) que se unen a los sitios polimórficos de cada alelo. Los “primers” o iniciadores al amplificar el gen liberar a la enzima y se libera el color que es detectado por un sistema electrónico que convierte las señales en números que mediante un programa de la computadora se pueden identificar aquellos individuos que posean el polimorfismo, que no sean polimórficos o a los homocigotos. La otra ventaja es que se pueden analizar hasta 384 muestras por corrida (placa), lo que significa un ahorro importante de tiempo y reactivos. Se solicitará la sonda TaqMan para el rs662799 identificada como: TaqMan® SNP Assays MTO, Human SM TaqMan® Pre-Designed SNP Genotyping Assays-Human-Small Scale, 188µL- 40X, -1,500 reactions of 5UI de life technologies.

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

presión sistólica sanguínea sea mayor de 140 mm de Hg. o presión diastólica sanguínea mayor de 90 mm de Hg o cuando el paciente este consumiendo medicamentos antihipertensivos.

Diabetes Mellitus. Se interrogará al paciente sobre antecedente de diagnóstico de diabetes mellitus, se realizará diagnóstico de la enfermedad si tiene glucosa sérica en ayuno mayor de 126 mg /dl en 2 ocasiones o glucosa sérica al azar mayor de 200 mg/dl con síntomas sugestivos.

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

Tabaquismo. Se interrogará sobre si fuma o no, tipo: cigarro, pipa, puro, si usa filtro o no, frecuencia con la que fuma, cantidad de cigarros fumados al día, cuanto tiempo lleva fumando. Se calculara el índice tabáquico (paquetes / año) de acuerdo a los resultados obtenidos.

Dislipidemia: Se interrogará al paciente sobre antecedente de diagnóstico de dislipidemia y tratamiento utilizado (si utiliza), se realizará diagnóstico de la enfermedad si se cuenta con estudios de laboratorio con colesterol mayor de 200 mg/dl, colesterol LDL mayor de 160 mg/dl, HLD menor de 40 mg/dl y/ ó triglicéridos mayor de 150 mg/dl. Según la NOM-037-SSA2-2012, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias.

Obesidad: Se tomará por interrogatorio directo el peso y la talla del paciente expresados en kg y cm respectivamente, para calcular el índice de masa corporal y se clasificará como obesidad un índice mayor de 30 Kg/m² SCT y mayor de 25 Kg/m² SCT en mujeres con talla <150 cm y hombres <160 cm. Según la NOM-008-SSA3-2010, para el tratamiento integral del sobrepeso y la obesidad.

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

- Colesterol total.
- Glucosa.
- Triglicéridos.
- Hemoglobina.

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

Se categorizaran colesterol total: ≤ 160 , 161-199.9, ≥ 200 mg/dL; TG: ≤ 150 mg/dL, 151-199.9 mg/dL, ≥ 200 mg/dL; Hb: < 6.5 g/dL, 6.51-10-9 g/dL, ≥ 11 g/dL, ≤ 12.9 g/dL y ≥ 13 g/dl. Glucosa

Edad. Se interrogará la edad en años cumplidos.

Género: Se consignará el sexo fenotípico aparente: hombre o mujer.

PLANIFICACIÓN, ORGANIZACIÓN DEL ESTUDIO Y RECOLECCIÓN DE DATOS.

Procedimientos.

Se incluirán pacientes Hospitalizados en HGR 1 del Instituto Mexicano del Seguro Social, en el servicio de urgencias o en el servicio de Medicina Interna, con diagnóstico de ingreso de Evento vascular cerebral isquémico, definido previamente, se leerá consentimiento informado y se solicitará autorización para obtener información sobre datos personales y antecedentes personales patológicos, en caso de que el paciente no esté en condiciones de firmar o contestar los datos interrogados, se obtendrá autorización y respuesta por parte del familiar. Se registrarán datos en la hoja de recolección de datos anexada. Posteriormente se tomará una muestra de 15 ml de sangre venosa, mediante punción de vena periférica, con previo aseo de la zona a puncionar con alcohol 96°, tomando muestras sanguíneas para análisis de ADN y variables de confusión descritas, con la muestra obtenida se llenaran 3 tubos /EDTA. Las muestras de ambos grupos (casos y controles) serán inmediatamente procesadas, separando

plasma de capa leucocitaria, obteniendo 3 tubos (alícuotas) de plasma y 3 de capa leucocitaria por cada paciente, mediante centrifugación. Para el procedimiento se utilizara una centrifuga Clay Adams (Brand) modelo Compact II de Becton Dickinson, la cual se encuentra en un consultorio dentro del mismo hospital, el cual pertenece a la unidad de Investigación en Epidemiología Clínica. Las muestras serán identificadas con un folio como EVC-iniciales de nombre a partir apellido paterno y numero de muestra en los casos y una letra “c” las iniciales de nombre a partir apellido paterno y numero de muestra en el caso de los controles, mismos que se ubicaran en las hojas de datos. Las muestras se mantendrán bajo congelación ($\leq 20^{\circ} \text{C}$) y serán transportadas al laboratorio del banco nacional de DNA y posteriormente al laboratorio de la unidad de investigación en bioquímica del CMN Siglo XXI del IMSS, para el análisis genético del polimorfismo. Los pacientes serán pareados por edad y sexo de acuerdo al paciente caso obtenido, en servicio de Cirugía General del mismo hospital de marzo de 2014 a enero de 2015. Se realizará la determinación del polimorfismo en ambos grupos.

Mediante la Sonda Taqman requerida para el rs662799 del polimorfismo (-1131 T>C), se podrán analizar hasta 500 muestras con la misma sonda y al mismo tiempo, dicho procedimiento se llevará a cabo en el laboratorio de la unidad de investigación en bioquímica del Centro Médico Nacional Siglo XXI. Para el uso de la sonda se extraerá previamente DNA de cada muestra de sangre, este procedimiento se llevará a cabo en el Banco Nacional de ADN de CMN Siglo XXI, con ayuda del personal que ahí labora, posteriormente se realizarán diluciones para la siembra el material genético y análisis con la sonda Taqman.

La búsqueda de pacientes, obtención del consentimiento informado, toma de muestras, centrifugación y separación de las mismas será realizada por los residentes de cuarto año de Medicina interna, anotados en este proyecto, mismos que centrifugaran y separarán la muestra, en el laboratorio de bioquímica para procesar el material genético se recibirá ayuda de parte del Dr. Miguel Cruz López

(Jefe de la unidad de investigación en bioquímica) con el respectivo personal que labora en esa unidad de investigación.

Análisis estadístico.

Univariado. Verificación de datos, análisis exploratorio, frecuencias simples y proporciones de las variables. Para las variables continuas: se verificará normalidad de los datos. Si cumplen se aplicaran medidas de tendencia central y dispersión.

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

Multivariado. Modelo de regresión logística no condicional para las variables de confusión.

ASPECTOS ÉTICOS.

De acuerdo a los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos se cumple con lo acordado en el código de Núremberg, del Tribunal Internacional de Núremberg, 1946, la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, sobre los principios éticos para las investigaciones médicas en Seres humanos, modificada por última vez en Tokio en 2004, las Pautas Éticas Internacionales para la Investigación Biomédica en Seres Humanos preparadas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) en colaboración con la Organización Mundial de la Salud (OMS).

En acuerdo a lo dispuesto el Título Quinto, Capítulo Único, con todas sus Fracciones en la Ley General de Salud, última reforma publicada en el Diario Oficial de la Federación el 18 de diciembre de 2007, el Título Segundo, Capítulo I, Artículo 17, Fracción II, del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación en Salud, última reforma publicada en el Diario Oficial de la Federación el 06 de enero de 1987; se considera que esta investigación titulada:

“Asociación de ictus isquémico con la presencia de polimorfismo -1131T>C del gen de Apolipoproteína A-V” es de riesgo mínimo, ya que contempla la realización de examen físico, interrogatorio y toma de muestras de sangre. El estudio no contempla la participación de menores de edad, mujeres embarazadas o grupos subordinados.

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

La información se manejará en forma confidencial, de tal forma que se eliminará el nombre del paciente y su cédula de identificación en todas las bases de datos y solo se vinculará con el número de folio para en caso de que haya información faltante que sea necesaria recabar. Solo el investigador principal tendrá acceso a esta información. El análisis será siempre en forma grupal, de forma tal que no será posible identificar a los individuos participantes en el análisis.

RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD.

Recursos humanos.

El personal consta de: un médico residente y dos químicos biólogos expertos en el área. El médico residente que participa en el proyecto, seleccionara los casos y controles de la investigación acorde a los criterios descritos; se encargara de recabar los datos, la toma y procesamiento de muestras (centrifugación) como paso inicial para extracción de material genético, posteriormente será capacitado y apoyado por personal del banco de ADN y laboratorio de la unidad de investigación en bioquímica del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social, para la extracción del ADN y la identificación del polimorfismo (SNP) mediante PCR y aplicación de la tecnología Taqman de digestión enzimática, con una capacitación de un mes.

Recursos físicos.

Lugar:

Instalaciones del consultorio de la Unidad de Investigación en epidemiología clínica del Hospital General Regional Numero 1.

Instalaciones del laboratorio del Banco de ADN del CMN siglo XXI del Instituto Mexicano del seguro social.

Instalaciones del laboratorio de investigación en bioquímica del CMN siglo XXI del Instituto Mexicano del seguro social.

Recursos financieros.

INSUMO.	NUM. PIEZAS	COSTO	APLICACIÓN.	FINANCIAMIENTO
Sonda TaqMan para el RS: 662799 identificada como: TaqMan® SNP Assays MTO, Human SM TaqMan® Pre-Designed SNP Genotyping Assays-Human-Small Scale, 188µL- 40X, -1,500 reactions of 5UI de life technologies.	1	\$ 4911.44 MN	Es específica para la identificación del polimorfismo de APOA5.	Autor.
Puntillas de plástico para micropipeta.	1000	\$400.00 MN	Extracción de capa leucocitaria.	Autor.
Tubos EDTA.	900	\$ 900.00 MN	Toma de muestras.	Autor.
Hielera de plástico	1	\$250.00 MN	Transporte de muestras	Autor.
TOTAL.		\$ 6461.44 MN		

No se recibirá apoyo financiero de ninguna persona o institución para la realización de este proyecto.

Factibilidad.

El autor del proyecto dispone de los recursos financieros necesarios para la realización del mismo y el autor asumirá los gastos generados. El universo de trabajo del proyecto es accesible, asimismo por el volumen de la población adscrita y la alta incidencia del padecimiento a estudiar se lograra alcanzar la meta en la muestra calculada para este estudio. Se dispone de los recursos humanos, físicos y financieros, por lo que se considera factible la realización de este proyecto.

Aspectos de bioseguridad.

Debido a que el presente estudio involucra la toma y manipulación de muestras de sangre humana, para su procesamiento y traslado; se han considerado los aspectos de bioseguridad hospitalaria y en laboratorios en base a exposición a agentes de riesgo biológico.

Las actividades del presente estudio, se han clasificado con un nivel de bioseguridad 2 (CDC), grupo de riesgo 1 (OMS- 2005), por lo que se tendrán las siguientes consideraciones:

1. Acceso limitado al área de investigación.
2. Señalización de peligro biológico y manejo de residuos. Se depositaran los residuos de material que haya contenido sangre utilizado en el procesamiento de las muestras en bolsas rojas para RPBI y en caso de residuos líquidos en contenedor hermético rojo.
3. Manual de bioseguridad disponible: Manual de bioseguridad en el laboratorio, Tercera edición; OMS 2005.
4. Aplicación de la técnica de lavado de manos.
5. Barreras primarias. Gabinetes de seguridad clase I, para las manipulación de muestras de sangre: bata de laboratorio, goggles, guantes de látex y cubre bocas.
6. Barreras secundarias. Contar con mesas con lavabos y agua corriente.

En las instalaciones de los laboratorios y banco central de ADN del CMN siglo XXI, donde se almacenen y procesen las muestras.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDADES/ FECHA	MARZO- ABRIL 2013	MAYO – JUNIO 2014	JULIO – AGOSTO 2014	SEPT- OCT 2014	NOV-DIC 2014	ENERO – FEBRERO 2015
Elaboración del protocolo.	X	X	X	X		
Elaboración de cedula de recolección de datos	X					
Búsqueda de pacientes que reúnan criterios de inclusión y aplicación de cedula	X	X	X	X		
Captura de datos	X	X	X	X	X	X
Procesamiento de muestras				X	X	X
Análisis estadístico y reporte					X	X
Elaboración del informe final						X
Entrega de resultados						X
Presentación y Publicación de resultados						X

RESULTADOS.

Se ingresaron al estudio 504 pacientes, 252 casos y 252 controles pareados por edad y sexo, cuyas características basales se muestran en la tabla 1 y 2.

Tabla 1. Características demográficas, clínicas y bioquímicas de la población de estudio.				
Variable	Casos	%	Controles	%
Sexo				
Mujer	114	45%	119	47%
Hombre	138	55%	133	53%
Grupos etarios.				
35 a 69 años	80	31.8%	82	32.5%
70 a 80 años	85	33.7%	86	34.1%
>81 años	87	34.5%	84	33.3%
Tabaquismo				
Si	104	41.3%	102	40.5%
No	148	58.7%	150	59.5%
Diabetes mellitus Tipo 2				
Si	115	45.6%	101	40.1%
No	137	54.4%	151	60.0%
Dislipidemia				
Si	79	31.4%	77	30.6%
No	173	68.7%	175	69.4%
Hipertensión Arterial				
Si	149	59.1%	119	47.2%
No	103	41.0%	133	53.0%
Cardiopatía Isquémica				
Si	75	30.0%	81	32.1%
No	177	70.2%	171	68.0%
Presión arterial sistólica (mm Hg)				
<120	74	29.4%	124	49.4%
121 a 140	117	46.4%	109	43.4%
≥140	61	24.2%	18	7.2%
IMC *(kg/m²)				
18 a 27	161	64.0%	143	57%
27 a 29	36	14.3%	59	23.4%
≥30	55	22.0%	50	20%

*IMC: Índice de Masa Corporal.

** Las variables esta expresadas en número de sujetos y porcentajes

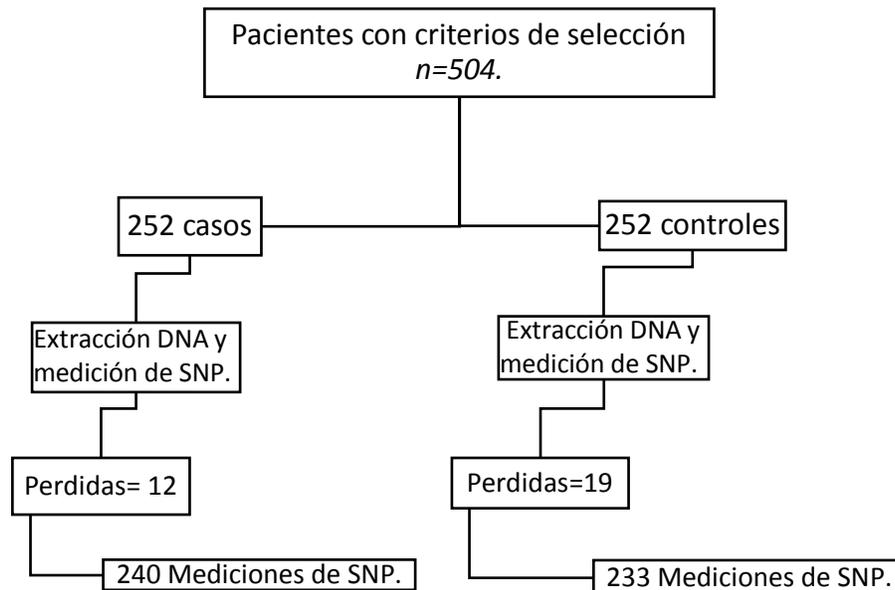
Tabla 2. Características bioquímicas de la población de estudio.

Variable	Casos	%	Controles	%
Hemoglobina g/dL				
6.5 a 8.9	9	4.0%	4	2.0%
9 a 10.9	93	37.0%	53	21.0%
>11	150	59.5%	195	77.4%
Triglicéridos mg/dL				
<150	125	50.0%	115	46%
151 a 199.9	72	29.0%	102	41%
>200	55	21.8%	35	13.9%
Colesterol mg/dL				
<159	120	48.0%	85	34%
160 a 199.9	62	25%	105	42%
>200	69	27.4%	62	25%
SNP -1131T>C				
Homocigoto ancestro (TT)	155	46.69 %	177	53.31%
Heterocigoto variante (TC)	79	60.31%	52	39.69%
Homocigoto variante (CC)	6	60%	4	40%

*SNP: Polimorfismo de Nucleótido Simple.

** Las variables esta expresadas en número de sujetos y porcentajes.

Flujograma general del estudio



En cuanto a las variables clínicas y demográficas, se realizó análisis univariado, expresando su frecuencia en porcentaje (tabla 1 y 2), asimismo se realizó análisis bivariado con la medida de efecto: Razón de momios de la prevalencia, con IC al 95%, valor alfa al 0.05, para las variables clínicas y bioquímicas (tabla 3 y 4).

En las variables demográficas, la edad se agrupó en terciles, sin existir diferencias significativas entre los mismos por el pareamiento acorde al diseño del estudio, sin embargo cabe mencionar 68.2% de los sujetos de estudio tenían eran mayores de 70 años.

Se identificó el antecedente de tabaquismo en el 41.3% de los casos y 40.5% de los controles, sin encontrarse relevancia estadística a la aplicación de la razón de momios, con una OR de 1.04 ($p=0.8$, IC 95% 0.6-1.2) para la variable dependiente. El antecedente de diabetes mellitus tipo 2, estuvo presente en el 45.6% de los casos y 40.1% de los controles, con una OR de 1.28 ($p=0.2$, IC 95% 0.9-1.9) confiriendo 28% de probabilidad para sujetos con EVC, con una p no significativa. El antecedente de hipertensión arterial sistémica estuvo presente en el 59.1% de los casos y 47.2% de los controles, con diferencia estadísticamente

significativa, con una OR de 1.60 ($p=0.009$, IC 95% 1.1-2.3), lo que confirió hasta un 60 % más de probabilidad de EVC, en los pacientes de este estudio. La variable de antecedente de dislipidemia, se obtuvo en un 31.4 de los casos y un 30.6% de los controles, sin ser estadísticamente significativa para la variable dependiente, con una OR de 1.1 ($p=0.8$, IC 95% 0.7-1.6). El antecedente de cardiopatía isquemia estuvo presente en 30% de los casos y 32.1% de los controles, con una OR 0.8 ($p=0.4$, IC 95% 0.4-1.4) sin encontrarse relevancia estadística. La presión arterial sistólica en el grupo de ≥ 140 mmHg se presentó en 24.2% de los casos y 7.2 % de los controles, con una OR de 5.1 ($p<0.0001$, IC 95% 2.8-9.3), con asociación estadísticamente significativa para la presencia de ictus isquémico. El comportamiento de la variable IMC fue similar en ambos grupos del estudio, encontrando sobrepeso en el 14.3% de los casos y 23.4% de los controles con una OR 0.5 ($p=0.013$, IC 95% 0.3-0.9) y obesidad en 22% de los casos y 20% de los controles, con una OR 0.9 $p=0.7$, IC 95% 0.5-1.5), por lo cual no confirió riesgo para ictus en nuestro estudio.

En cuanto a las variables bioquímicas, se determinó que los niveles de triglicéridos de 150 a 199.9 mg/dl, (considerado esto como niveles no óptimos) se encontró en el 25% de los casos y 42% de los controles, con una OR 0.6 ($p=0.036$, IC 95% 0.4-1), lo que indica una asociación negativa, sin embargo los niveles ≥ 200 mg/dL en el 21.8% de los casos y 13.9% de los controles, con una OR 1.5 ($p=0.2$, IC 95% 0.9-2.5), con una p no significativa.

Para los niveles de colesterol total de 160-200 mg/dL, presentes en 25 % de los casos y 42% de los controles, con una OR 0.5 ($p=0.0001$, IC 95% 0.3-0.7) y ≥ 200 mg/dL en el 27.4% de los casos y 25% de los controles, con una OR 0.8, ($p=0.2$, IC 95% 0.9-2.5).

En cuanto a los niveles de hemoglobina, estos fueron ≥ 6.5 -8.9 mg/dL (definiendo anemia severa) en 4% de los casos y 2% de los controles, con una OR de 0.3 ($p=0.09$, IC 95% 0.08-1.20), los niveles de 8.9-10.9 mg/dL (definiendo anemia moderada), se encontraron en 37% de los casos y 21% de los controles, con una OR 0.7 ($p=0.67$, IC 95% 0.7 0.2), sin observarse asociación el EVC, sin embargo se encontraron niveles ≥ 11 g/dL en 77.4% de los controles y solo 59.5 % de los casos.

Tabla 3. Factores de riesgo clínicos para ictus isquémico análisis bivariado.				
Variable	OR	IC95%	P	
Tabaquismo				
Si	1.04	0.7	1.60	0.8
No	1			
Diabetes mellitus tipo 2				
Si	1.28	0.9	1.90	0.2
No	1			
Dislipidemia				
Si	1.10	0.7	1.60	0.8
No	1			
Hipertensión Arterial				
Si	1.6	1.1	2.30	0.009*
No	1			
Cardiopatía Isquémica				
Si	0.8	0.4	1.40	0.4
No	1			
Presión arterial sistólica (mmHg)				
<120	1			
121 a 139.9	1.8	1.2	2.80	0.005*
>140	5.1	2.8	9.30	<0.0001*
IMC (kg/m²)				
18 a 27	1			
27 a 29	0.50	0.3	0.90	0.013*
>30	0.90	0.5	1.50	0.7

*Valor de p <0.05.

**Se utilizó prueba RM para comparar por grupo.

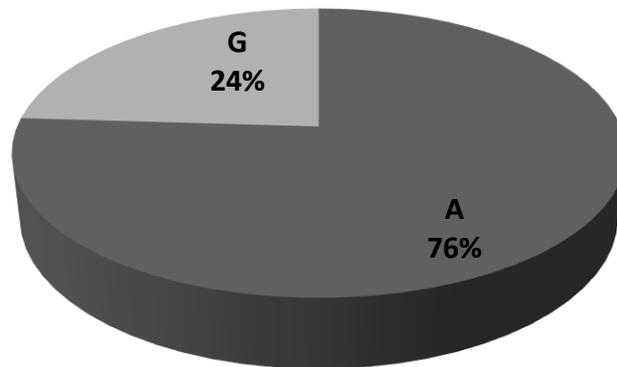
Tabla 4. Factores de riesgo bioquímicos para ictus isquémico análisis bivariado.				
Variable	OR	IC95%	P	
Hemoglobina g/dL				
6.5 a 9	0.70	0.2	2.90	0.67
9 a 10.9	0.30	0.08	1.20	0.09
>11	1			
Triglicéridos				
<150	1			
151 a 200	0.6	0.4	1	0.036*
>200	1.5	0.9	2.5	0.2
Colesterol				
<159	1			
160 a 200	0.5	0.3	0.7	<0.0001*
>200	0.8	0.5	1.3	0.4

*Valor de p <0.05.

**Se utilizó prueba RM para comparar por grupo.

Se realizó la determinación del polimorfismo para ambos grupos $n= 504$, sin embargo se tuvieron 31 pérdidas por cuestiones técnicas, que implicaron baja concentración de DNA de la muestra (a pesar de procesamiento para concentración) y señal inapropiada de la sonda Taqman para el rs662799. Se obtuvieron un total de 473 mediciones, 240 casos y 233 controles, a partir de lo cual se determinó una frecuencia alélica de 75.96% para el genotipo A (ancestro) y 24.04% para el genotipo G (variante) en los controles (gráfico 1). Se determinó una frecuencia de 64.58% para el genotipo A (ancestro) y 35.42% para el genotipo G en los casos (gráfico 2). Los alelos presentaron la siguiente distribución (tabla 5).

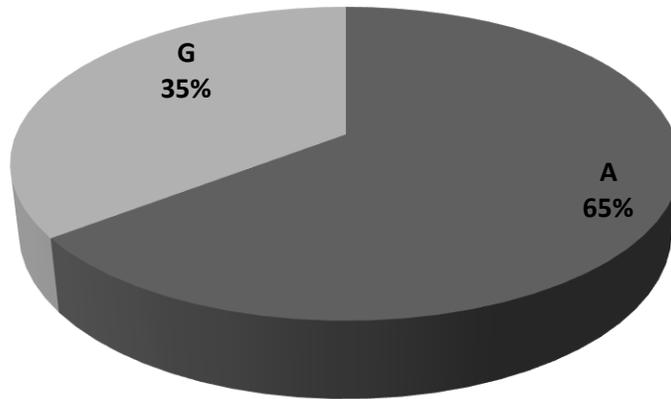
Gráfico 1. Frecuencia alélica del SNP -1131T>C en grupo de controles.



*Se expresa la frecuencia alélica en porcentajes.

**Alelos A= TT y G=CC+TC.

Gráfico 2. Frecuencia alelica del SNP -1131T>C en grupo de casos.



*Se expresa la frecuencia alelica en porcentajes.

**Alelos A= TT y G=CC+TC.

Tabla 5. Distribución alelica del SNP -1131T>C de Apolipoproteína A5.

Genotipo SNP* -1131T>C	Alelo	Casos	Controles	Total
Homocigoto ancestro.	TT	46.69 %(155)	53.31%(177)	70.19%(332)
Heterocigoto variante.	TC	60.31%(79)	39.69%(52)	27.70%(131)
Homocigoto variante.	CC	60%(6)	40%(4)	2.11%(10)
TOTAL		240	233	100% (473)

*SNP: Polimorfismo de Nucleótido Simple.

** Las variables esta expresadas en número de sujetos y porcentajes.

En el análisis del SNP, se agruparon los resultados en cuatro modelos, genotípicos obteniéndose los siguientes resultados en relación al grupo de casos y controles (tabla 6).

Tabla 6. Distribución alelica del SNP -1131T>C de Apolipoproteína A5 por modelo genético.

Modelo	Expresión	Casos	Controles
Dominante	TC+CC vs TT	33.75%(81)	24.04%(56)
Recesivo	CC vs TT+TC	2.5% (6)	1.71% (4)
Homocigoto	CC vs TT	2.5%(6) vs 64.58%(155)	1.71% (4)vs 75.96%(177)
Heterocigoto	TC vs TT	32.91% (79) vs 64.58%(155)	22.31% (52) vs 75.96% (177)

*SNP:Polimorfismo de Nucleótido Simple.

** Las variables esta expresadas en número de sujetos y porcentajes.

Se realizo análisis bivariado con la medida de efecto: Razón de momios de la prevalencia, con IC al 95%, valor alfa al 0.05, para la medir la asociación de la presencia del polimorfismo -1131T>C con ictus isquémico, como se muestra a continuación (tabla 7).

Tabla 7. Polimorfismo -1131T>C de apolipoproteína A5 en ictus isquémico, análisis bivariado.

Variable	OR	IC95%	p
Heterocigoto (TC)	1.69	1.09-2.63	0.01*
Homocigoto (CC)	1.21	2.98-4.97	0.78

*Valor de p <0.05.

**Se utilizó prueba RM para comparar por grupo.

Se realizó análisis multivariado mediante un modelo de regresión logística, ajustando las variables: Edad, sexo, polimorfismo -1131T>C, Presión arterial sistólica, diabetes mellitus tipo 2 y niveles de hemoglobina (tabla 8).

Tabla 8. Polimorfismo -1131T>C de apolipoproteína A5 en ictus isquémico, modelo multivariado por regresión logística condicional.					
Variable	OR	IC95%	ORa*	IC95%	P
Heterocigoto (TC)	1.69	1.09-2.63	1.67	1.02-2.76	0.04
Homocigoto(CC)	1.21	2.98-4.97	1.54	0.27-8.6	0.61
Ancestro (TT)	1				
Diabetes mellitus tipo 2					
Si	1.28	0.9-1.9	1.28	0.82-2.0	0.26
No	1		1		
Tensión arterial sistólica (mmHg)					
<120	1				
121-139.9	1.8	1.2-2.8		1.04-2.7	0.03
≥140	5.1	2.8-9.3		1.94-7.34	<0.00001
Nivel de Hemoglobina					
<13 g/dL	-	-	1.98	1.20-3.25	0.007
≥13.1 g/dL	-	-	1		

*Valor de p <0.05.

**OR ajustada para comparar por grupo.

LR $\chi^2 = 47.26$

P = < 0.00001

R²=0.16

DISCUSIÓN.

El ictus isquémico es la principal causa de discapacidad neurológica del adulto, se ha reportado una tasa de mortalidad de 22.8%, con incremento en relación a la edad, cabe destacar que en nuestro estudio el 68.2% de los pacientes con ictus isquémico, fueron mayores de 70 años, por lo que se corrobora la frecuencia de esta entidad en el adulto mayor.

El ictus isquémico es una enfermedad multifactorial que resulta de la interacción gen- gen y gen ambiente, en relación a factores de riesgo modificables y no modificables. Los factores genéticos (no modificables), pueden favorecer la expresión temprana de los fenotipos finales de enfermedad cardiovascular, como el ictus isquémico y/o coronariopatía. Asimismo se han identificado un incremento de fenotipos intermedios, como la hipertrigliceridemia e hiperglucemia, los cuales se relacionan con incremento del riesgo cardiovascular [2,3].

Factores de riesgo genético asociado al ictus isquémico.

La identificación de genes clínicamente relevantes permite redefinir muchas enfermedades en función de la relación genotipo- fenotipo. Es factible que esta nueva clasificación molecular genética de la enfermedad, establezca categorías solo basadas en la modulación de genes individuales, que actuarían como factores predictivos, permitiendo un mejorar el abordaje diagnóstico – terapéutico.

El polimorfismo de nucleótido simple -1131T>C de la apolipoproteína A5, motivo de nuestro estudio, funciona como un promotor y afecta los niveles de expresión génica de esta proteína, asimismo se ha determinado que es un marcador de variaciones funcionales del gen *APOC3* siendo los efectos de *APOA5*2* debidos al desequilibrio de ligamiento de -1131T > C con 482T > C (*APOC3*) por lo cual es importante su determinación [15].

Frecuencia alelica para SNP -1131T>C de APOA5 en población mexicana.

La frecuencia reportada para el alelo raro de SNP -1131T>C (-1131C) en diferentes poblaciones es: Hungría 5.7%, Reino unido 6.0%, España 7.0%, EE.UU (Blancos 6.0%, Afroamericanos 12%, hispanos 16%), India 20%, China 29.9%, Japón 34%, es notable que la frecuencia alélica es mayor en población afroamericana, asiática e hispánica que en blanca. En nuestro estudio, el primero en determinar frecuencia alelica de este SNP en población mexicana, se determino un frecuencia de 24.04% del alelo raro (-1131C) en el grupo control, con un porcentaje similar al descrito en la base de datos del International Hap Map Project para población asiática en que es del 29%, difiriendo del 12% reportado para población americana o el 8% para población europea. Las frecuencias reportadas para el homocigoto del ancestro (TT) fueron de 53.3%, por debajo de lo reportado para población europea de hasta un 92% y cercanas a las reportadas en asiáticos de un 66%, pero más bajas que la población mundial en general.

En cuanto a la frecuencia genotípica en nuestro estudio, el CC (homocigoto de la variante) se expreso en un 1.7% para los controles y 2.5% para los casos, por lo

que se observo una frecuencia en relación a lo reportado en población asiática o africana de hasta un 4.7%. La frecuencia genotípica de TC (heterocigoto a la variante), fue de 39.69% para los controles y 60.31% en los casos, encontrándose cercano a lo reportado para población asiática.

La variante del SNP -1131T>C predomino en todos los modelos genotípicos: dominante, recesivo, homocigoto y heterocigoto (ver tabla 5), de los pacientes con ictus en comparación a los controles, predominando esta diferencia en el modelo dominante (TC+CC vs TT, siendo de un 33.75% en los casos vs 24.04% en controles de nuestro estudio. (16)

En el meta-análisis, (National Knowledge Infrastructure y CBM Chinese BioMedical Literature Database), con 2.294 casos de EVC isquémico y 1.858 controles que evaluó la asociación entre SNP -1131T>C con enfermedad vascular cerebral tipo isquémico y niveles de TG, mediante razón de momios combinada con IC 95%, el SNP - 1131T > C de APOA5, se asoció significativamente con EVC isquémico en todos los modelos de comparación (CC + TC vs TT, OR = 1,70, IC 95% = 1.24-2,32; CC vs TC + TT, OR = 1,36, IC 95% = 0,98 - 1,90; CC frente a TT, OR = 1,73, IC 95% = 1,34 - 2,23; TC vs TT, OR = 1,67, IC 95% = 1,19 - 2,36). En nuestro estudio se demostró asociación significativa para el modelo genotípico heterocigoto para la variante TC vs TT, con un OR= 1.69, IC 95%=1.09-2.63, $p=0.01$, confirmando hasta 69% más riesgo de EVC, mediante análisis de regresión logística, ajustada por variables de confusión (ver tabla 6), similar a lo reportado en la literatura, no fue así en el modelo homocigoto CC vs TT, donde a pesar de ser frecuente en los casos que los controles, mostro un OR = 1.21, IC 95%=2.98-4.97, pero con $p=0.78$, no significativa, sin embargo al realizar un análisis crítico esto puede deberse a las pérdidas durante el estudio, las cuales no fueron controladas ni equitativas en ambos grupos, siendo mayores en el grupo control, por lo que se propone realizar un análisis con control de perdidas, para que se lleve a una equidad máxima en los grupos y no se alteren los resultados finales, así como un incremento de la n en estudios futuros.

Asociación de polimorfismo -1131T>C y factores de riesgo cardiovascular.

La asociación de este SNP con la concentración de triglicéridos (TG), muestra bastante consistencia y ha sido confirmada en varios estudios que incluían Caucásicos, Japoneses, Chinos y Taiwaneses. Se ha demostrado que la hipertrigliceridemia es un factor de riesgo independiente para ictus isquémico. En nuestro estudio el 21.8% de los pacientes con ictus vs 13.9% de controles, mostraron elevaciones de triglicéridos ≥ 200 mg/dl, sin embargo no se demostró asociación en relación a la incidencia de ictus [23]. No hubo asociación significativa entre los portadores del alelo C con los niveles elevados de TG en casos y controles; con una OR 0.61, IC95% 0.37-1.01, $p= 0.05$, para los niveles de 160-199.9 mg/dL y OR 0.95, IC95% 0.51-1,78, $p=0.89$ para los niveles ≥ 200 mg/dL, sin embargo son muchos los factores que pueden alterar estos niveles y la medición de dicha variable, por ejemplo el tratamiento inicial con estatinas o fibratos en el servicio de urgencias o tratamiento previo utilizado, las condiciones en la toma de la muestra, variables que no fueron medidas en el presente estudio.

Se ha estudiado el papel de la apolipoproteína A5 en la regulación del metabolismo lipídico, principalmente de triglicéridos, pero también en su relación con los niveles de colesterol HDL y VLDL, por lo que se considera sería importante medir y asociar estas últimas variables [7,8,9,10].

No hubo diferencia significativa, entre los niveles de colesterol total en ambos grupos de nuestro estudio y concordando con lo reportado en la cohorte del Copenhagen Heart Study, no se encontró asociación de riesgo entre el ictus isquémico y los niveles de colesterol total [3].

La coronariopatía considerada en nuestro estudio como antecedente de cardiopatía isquémica, no tuvo diferencia significativa en los casos y controles, con una OR= 0.8 IC95%=0.4-1.4, $p=0.4$, similar a lo reportado en un estudio chileno de casos y controles, $n= 425$, con edades entre 33 y 74 años, 209 con coronariopatía (estenosis >70%) y 261 controles, con OR=1.19; I.C.95%, 0.87 – 1.63, $p=NS$), que confirman la ausencia de asociación, sin embargo las concentraciones de TG fueron mayores en los sujetos portadores de SNP -1131C, tanto en casos como en controles para ese estudio, hecho que difiere en nuestro estudio en el que no se demostró asociación estadísticamente significativa [17]. Asimismo estos datos difieren de lo reportado en otros estudios en mujeres estadounidenses con OR 1.85 (1.03-3.34) IC 95%, chinos OR 2.26 (1.12-4.53) IC 95%, húngaros con enfermedad coronaria grave OR 1.99 (1.30-3.04) IC 95%, donde se considero un fenotipo final independiente de la raza, pero estas dos poblaciones americanas la chilena y mexicana no presentaron este comportamiento [16].

El índice de masa corporal (IMC), no tuvo asociación con la presencia de ictus isquémico o del SNP -1131T>C, OR 0.5, IC95% 0.3-0.9, $p=0.013$ en el rango de 27-29 kg/m²SCT, sin embargo se observa incluso que puede ser un factor con asociación negativa de riesgo, pero algunas condiciones que pueden explicar este hecho son la edad de los pacientes, la mayoría mayores de 70 años, con un predominio importante de sarcopenia, lo cual disminuye el IMC.

La hipertensión arterial sistémica, medida como antecedente, presentó una OR 1.6 1.1-2.3 $P= 0.009$, por lo que se asocio a riesgo de ictus isquémico, con un incremento del mismo de hasta 2.3 veces. En el análisis multivariado por regresión logística se encontró un OR 5.1, IC95% 1.94-7.34, $p<0.00001$, para la presión arterial sistólica ≥ 140 mmHg, por lo que existe una asociación significativa con incremento de riesgo de ictus de hasta 7.3 veces (ajustado para la edad, genero, diabetes mellitus tipo 2 y niveles de hemoglobina), en asociación a la presencia del polimorfismo, lo anterior concuerda con lo reportado por Mei et al, en un estudio de 106 casos de pacientes con enfermedad vascular cerebral tipo isquémico o ataque isquémico transitorio y 157 controles sanos, que determinó la presencia del SNP 1131T>C, mediante un modelo de regresión logística condicional, posterior a ajustar por edad y género, que mostró asociación con el

antecedente de hipertensión arterial sistémica con OR = 1,93, (1.19 - 3.13, IC del 95%).

En cuanto al antecedente de diabetes mellitus tipo 2, se determino un OR de 1.28, IC95% 0.82-2.0, $p=0.26$, (ajustado para la edad, genero, presión arterial sistólica y Niveles de hemoglobina), por lo que se observa que su riesgo incrementa con la presencia del polimorfismo y se asocia positivamente al ictus isquémico, como factor de riesgo modificable, sin embargo menor a lo previamente descrito por Mei et al. Con un OR = 2,47 (1,36 - 4,50, IC 95%) [21].

Se categorizo la variable niveles de hemoglobina, con el punto de corte ≥ 13 g/dL definiendo de esta manera la presencia o no de anemia en ambos grupos del estudio; para niveles de Hb <12.9 g/dL, se determino un OR 1.98, 1.2-3.25, $p=0.007$, por lo que se identifica a la anemia, como un factor de riesgo independiente de ictus isquémico (ajustado para la edad, genero, diabetes mellitus y presión arterial sistólica), hecho relevante ya que estudios previos han demostrado esta asociación, como encontrado en población china por Chang et al, donde se reporta un OR 1.45, IC 95% 1.34 -1.58, para anemia (ajustado por HAS, DM, Cardiopatía isquémica, dislipidemia y tabaquismo) [26].

Los niveles de glucosa no mostraron una asociación significativa con la presencia de ictus o el polimorfismo, con una OR 0.61, IC95% 0.99-1.00, $P=0.15$, lo cual difiere de otros estudios en los que se ha demostrado una relación del polimorfismo con niveles elevados de glucosa como fenotipo intermedio.

De acuerdo a los resultados de nuestro estudio se comprueba la hipótesis de trabajo, ya que mediante análisis multivariado por regresión logística, se demostró asociación de la variante heterocigoto del polimorfismo -1131 T>C del gen de la apolipoproteína A5, con incremento del riesgo de ictus isquémico, con OR 1.67, IC 95% 1.02-2.76, $p=.04$ (ajustado por edad, genero, presión arterial sistólica, niveles de hemoglobina y diabetes mellitus tipo 2). En cuanto a los portadores del homocigoto de la variante o alelo CC, se determino un OR 1.54, IC 95% 0.27-8.6, $p= 0.61$, con incremento del riesgo, sin embargo es necesario incrementar la n para demostrar asociación con una p significativa.

Los pacientes portadores del alelo TC de SNP -1131T>C DE APOA5, tienen 69% más de riesgo de ictus isquémico, con un incremento de hasta 2.7 veces más el riesgo de ictus, en comparación a los portadores del genotipo TT, similar a lo que ya ha sido reportado en otros estudios, sin embargo el presente es una primicia en México, en el cual se encontró que los pacientes portadores del alelo C, con predominio del modelo heterocigoto de la variante, es un factor de riesgo independiente de ictus isquémico, no obstante se identificaron otros factores ampliamente estudiados como la diabetes mellitus tipo 2, antecedente de hipertensión arterial sistémica, presión arterial sistólica elevada y anemia, los cuales se asociaron significativamente a ictus isquémico de forma independiente, por lo que esto habla de una importante interacción gen- medio ambiente, que incrementa el riesgo cardiovascular en nuestra población [23,25].

CONCLUSIONES.

1. El presente es el primer estudio en su tipo que busca demostrar asociación del SNP -1131T>C de la APOA5 y enfermedad vascular cerebral de tipo isquémico en población mexicana.
2. La presencia de la variante -1131T>C de la APOA5, se asocio al desarrollo de enfermedad vascular cerebral de tipo isquémico.
3. El genotipo TC es un factor de riesgo independiente para enfermedad vascular cerebral tipo isquémico en la población mexicana de este estudio.
4. La frecuencia alelica global del SNP mostró una distribución similar a la de la población asiática.
5. La frecuencia alelica del homocigoto del ancestro o TT fue más baja para la población mexicana, que lo reportado en la literatura a nivel mundial.
6. La variante del SNP -1131T>C predominó en todos los modelos genotípicos: dominante, recesivo, homocigoto y heterocigoto, al comparar los pacientes con diagnóstico de ictus con los controles, predominando esta diferencia en el modelo dominante (TC+CC vs TT).
7. Las cifra de Tensión arterial sistólica ≥ 140 mmHg, fue el factor de riesgo independiente con mayor impacto en nuestro estudio, para el desarrollo de de enfermedad vascular cerebral tipo isquémico; hecho que se relaciona de forma directa como predictor de daño endotelial.
8. Los niveles de triglicéridos elevados, la hipertensión arterial y la diabetes mellitus tipo 2, son factores de riesgo con significancia estadística en este estudio para el desarrollo de enfermedad vascular cerebral tipo isquémico.
9. Los niveles de triglicéridos elevados, se asociaron a riesgo de enfermedad vascular cerebral y la presencia del polimorfismo, sin embargo esta fue menor en nuestra población que lo reportado en otros estudios a nivel mundial, por lo que la hipertrigliceridemia en población mexicana no es un fenotipo intermedio común en este estudio, pero se deberá incrementar la *n* para determinar si existe asociación.
10. El antecedente de cardiopatía isquémica no se asocio a riesgo de enfermedad vascular cerebral ni a la presencia del polimorfismo, coincidiendo con lo reportado en otros países latinoamericanos.
11. Los niveles de colesterol sérico no se asociaron a riesgo de enfermedad vascular cerebral ni con la presencia del polimorfismo, coincidiendo con lo reportado en grandes cohortes de enfermedad cardiovascular.

12. El antecedente de dislipidemia, no se asocio a riesgo de enfermedad vascular cerebral ni con la presencia del polimorfismo.
13. El tabaquismo no fue un factor de riesgo independiente de enfermedad vascular cerebral en nuestro estudio, ya que el consumo fue similar ($\geq 40\%$) en ambos grupos (casos y controles) de la población estudiada, lo que habla de un alto índice de consumo y como factor modificable puede impactar a largo plazo incrementando el riesgo cardiovascular.
14. La obesidad, definida por un IMC ≥ 30 , no se asocio a riesgo de enfermedad vascular cerebral de tipo isquémico, en nuestra población de estudio, una posibilidad es que por el grupo etario que predomina (≥ 70 años) hay más riesgo de sarcopenia y un menor IMC.
15. Aunque se encontraron cifras de hemoglobina más bajas en los pacientes con ictus que los controles, no existió una asociación positiva o negativa en el análisis bivariado.
16. Un índice de masa corporal menor de 29 Kg/m^2 de SCT, fue un factor protector para enfermedad vascular cerebral tipo isquémico en nuestro estudio.
17. Debido a la baja frecuencia reportada en el alelo raro del polimorfismo - 1131T>C de APOA5 y la desigualdad en pérdidas de muestras por grupos durante el análisis genético, se deben realizar más estudios, con un diseño metodológico similar para confirmar en mayor medida la asociación de dicho alelo con ictus isquémico, en el contexto de la participación de APOA5 en la patogénesis de la enfermedad.
18. La determinación de un SNP en población general es factible y disminuye los costos al realizarse en gran volumen, sin embargo se requiere de una unidad especializada con gran capacidad para almacenamiento, procesamiento y óptima interpretación de resultado.
19. No existe un población blanco definida en México para la determinación de un SNP de riesgo, en particular el 1131T>C de APOA5, se deberán definir criterios de selección para dicho estudio en población aparentemente saludable o con bajo riesgo cardiovascular.
20. La influencia específica de una anomalía genética conocida asociada con enfermedad vascular cerebral puede no ser el mismo para todas las razas. Por lo tanto, es conveniente establecer la contribución específica de cada anomalía genética o factor de riesgo ambiental en las personas con diferente antecedentes genéticos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Organización Mundial de la Salud, Estadísticas Sanitarias Mundiales 2014: “años de vida perdidos por la mortalidad prematura: tendencias y causas”. pp 45-49. Ginebra 2014.
2. Mendis S, Puska P, Norrving B. Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control, World Health Organization, Geneva 2011.
3. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, et al. On behalf of the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics—2014 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2014; 129: e28–e292.
4. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, defunciones generales totales por principales causas de mortalidad, 2012. Disponible en: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/sisept/Default.aspx?t=mdemo107&s=est&c=23587>
5. Kernan WN, Ovbiagele B, Black HR, et al. Guidelines for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attack: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association, *Stroke*. 2014 Jul; 45(7):2160-236.
6. Markus HS, Stroke genetics, *Human Molecular Genetics*, 2011, Vol. 20, Review Issue 2 R124–R131.
7. Abdel-Maksoud MF, Hokanson JE. The complex role of triglycerides in cardiovascular disease. *Semin Vasc Med* 2002; 2 (3): 325-33.
8. Sotos –Prieto M, Frances F, Corella D, Impacto de la apolipoproteína A5 en el riesgo cardiovascular. *Modulaciones genéticas y ambientales. Rev Med Chile* 2010; 138: 868-880.
9. Garelnabi M, Lor K, Jin J, et al. The Paradox of ApoA5 Modulation of Triglycerides: Evidences from Clinical and Basic Research. *Clin Biochem*. 2013 January ; 46(1-2): 12–19.
10. Pennacchio LA, Rubin EM, *Apolipoprotein A5*, a Newly Identified Gene That Affects Plasma Triglyceride Levels in Humans and Mice, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23:529-534.
11. Fruchart-Najib J, Bauge E, Niculescu LS, et al. Mechanism of triglyceride lowering in mice expressing human apolipoprotein A5. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 319:397-404.
12. Rakhshandehroo M, Knoch B, Müller M, Kersten S. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha Target Genes, *PPAR Res*. 2010: 1-20.
13. Gao X, Forte TM, Ryan RO. Influence of apolipoprotein A-V on hepatocyte lipid droplet formation, *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 October 19; 427(2): 361–365.
14. Spalvieri MP, Rotenberg RG, *Medicina genómica, aplicaciones del polimorfismo de un nucleótido y micromatrices de ADN. MEDICINA (Buenos Aires)* 2004; 64: 533-542.
15. Ramirez BJ, Vargas AG, et al. Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP): implicaciones funcionales de los SNP reguladores (rSNP) y de los SNP-ARN

- estructurales (srSNP) en enfermedades complejas. *Gaceta Médica de México*. 2013; 149: 220-8.
16. Oliveira SM, Alfa P, Pinto X, Gen de la apolipoproteína A5: asociación con el metabolismo de los triglicéridos y las enfermedades cardiovasculares. *Med Clin (Barc)*. 2008; 130(20):787-93
 17. Saavedra N, Cuevas A, Hernández A, et al. Polimorfismos genéticos de APOA5 se asocian a hipertrigliceridemia e hiperglicemia en individuos chilenos con enfermedad coronaria y controles. *Rev Chil Cardiol* 2010; 29: 19-27.
 18. Lai C-Q, Demissie S, Cupples LA, et al. Influence of the APOA5 locus on plasma triglyceride, lipoprotein subclasses and CVD risk in the Framingham Heart Study, *J. Lipid Res*. 2004. 45: 2096-2105.
 19. Sánchez-Moreno C, Ordova JM, Smith CE, et al. APOA5 Gene Variation Interacts with Dietary Fat Intake to Modulate Obesity and Circulating Triglycerides in a Mediterranean Population, *J. Nutr*. 141: 380–385, 2011.
 20. Zhang K, Qiu F, Li L, Gu GY, Tao Y, Wang L, et al. The associated study on apolipoprotein A5 gene polymorphisms with carotid atherosclerosis in patients with cerebral infarction. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2008; 25 (3): 284-8.
 21. Maasz A, Kisfali P, Horvatovich K, et al. Apolipoprotein A5 T-1131C variant confers risk for metabolic syndrome. *Pathology Oncology research*, Vol.13, No. 3, 2007; 243-47.
 22. Mei WH, Sing WK, Keung NH, et al. Apolipoprotein A5 polymorphism and triglycerides in ischemic cerebrovascular disease. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology in the Post Genomic Era*, Volume 2 Issue 1.
 23. Pi Y, Zhang L, Yang Q, et al. Apolipoprotein A5 Gene Promoter Region -1131T/C Polymorphism Is Associated with Risk of Ischemic Stroke and Elevated Triglyceride Levels: A Meta-Analysis. *Cerebrovasc Dis* 2012; 33:558–565.
 24. Can DB, Şahin E, Türkanoglu ÖA, et al. Apolipoprotein A5 polymorphisms in Turkish population: association with serum lipid profile and risk of ischemic stroke. - *Mol Biol Rep* - 2012; 39(12): 10459-68.
 25. Havasi V, Szolnoki Z, Talián G, et al. Apolipoprotein A5 gene promoter region T-1131C polymorphism associates with elevated circulating triglyceride levels and confers susceptibility for development of ischemic stroke. *J Mol Neurosci*. 2006;29(2):177-83.
 26. Chang Y, Hung S, Ling W, Lin H, et al. Association between Ischemic Stroke and Iron-Deficiency Anemia: A Population-Based Study. *Plos One*. 2013; 8: 120-126.

ANEXO 1. Carta de Consentimiento Informado (Adultos).



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN.

Título: ASOCIACIÓN DE ICTUS ISQUÉMICO CON LA PRESENCIA DE POLIMORFISMO -1131T>C DEL GEN DE APOLIPOPROTEÍNA A-V.

México, Distrito Federal; a _____ de _____ de 2014.

Registrado ante el Comité Local de Investigación o la CNIC con el número: R-2014-3609-27 .

Justificación y objetivo del estudio.

La ocurrencia de infartos cerebrales ha tenido un aumento en países como el nuestro, se han reconocido diversos factores que contribuyen a que una persona tenga mayor posibilidad de presentar dicha enfermedad. En investigaciones recientes se han encontrado alteraciones en los genes que pueden modificar funciones en el metabolismo de las grasas, los pacientes que presentan estos cambios se considera pudieran tener mayor riesgo de presentar infartos cerebrales. Los estudios de los genes (polimorfismos) nos permiten identificar las alteraciones de estos y su relación con ciertas enfermedades. En este estudio se identificara la presencia de la alteración de los genes llamado polimorfismo -1131T>C de una proteína relacionada con el metabolismo de los grasas (apolipoproteína A -V) y la relación que existe entre esta y la presencia de infarto cerebral.

Se me ha explicado que mi participación consistirá en:

Responder preguntas sobre la evolución de mi enfermedad y sobre mi persona, para obtener antecedentes de importancia para mi enfermedad. Se obtendrán muestras de mi sangre, por punción con aguja hueca, obteniendo aproximadamente 15 ml, dividido en varios tubos, parte de la muestra obtenida será utilizada para realizar estudios para determinar niveles de colesterol, triglicéridos, glucosa en el suero de mi sangre y el resto para realizar la búsqueda de cambios en mis genes asociados con la enfermedad. Mi participación en el estudio no tendrá costo alguno ni obtendré beneficio económico por la participación en el proyecto.

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

Dolor temporal y /o moretones en el sitio de punción, sangrado leve en el sitio de punción, infecciones en el sitio de punción, baja de presión arterial y/o desmayo.

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

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

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

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

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

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

Colección de material biológico:

<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>

No autorizo que se tome la muestra.

Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.

Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.

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

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

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

Colaboradores: Dr. Miguel Alejandro Benítez Sanfeliz. Residente de 4º año de Medicina Interna. Matrícula 98373231. Hospital General No.1 "Carlos Macgregor Sánchez Navarro" del IMSS. Teléfonos: (55) 6549-7916 ó 044 961 24 99653.

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

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

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

Nombre y firma del paciente y/o familiar responsable.

Dr. Miguel Alejandro Benítez Sanfeliz R4 Medicina Interna. Matricula 98373231.

Testigo 1.

Testigo 2.

Nombre, dirección, relación y firma.

Nombre, dirección, relación y firma.

2810-009-013

ANEXO 2.



Folio:

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL GENERAL REGIONAL No. 1: DR CARLOS MACGREGOR SANCHEZ NAVARRO

MEDICINA INTERNA

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

“Asociación de ictus isquémico con la presencia de polimorfismo -1131T>C del gen de Apolipoproteína A-V”.

Hoja de recolección de datos.

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

Nombre:

Afiliación:

Edad:

Sexo:

Fecha:

IMC:

Peso:

Talla:

Antecedentes:

Tabaquismo	Si	No
Diabetes Mellitus	Si	No
Dislipidemia	Si	No
Hipertensión Arterial Sistémica	Si	No
Cardiopatía isquémica	Si	No

ANEXO 2.



Folio:

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL GENERAL REGIONAL No. 1: DR CARLOS MACGREGOR SANCHEZ NAVARRO

MEDICINA INTERNA

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

“Asociación de ictus isquémico con la presencia de polimorfismo -1131T>C del gen de Apolipoproteína A-V”.

Hoja de recolección de datos.

Laboratorios:

Glucosa	mg/dl		
Trigliceridos	mg/dl		
Colesterol Total	mg/dl		
HDL	mg/dl		
LDL	mg/dl		
T/A	mmHg		
Hemoglobina	g/dl.		
Polimorfismo -1131T>C	TT	TC	CC