



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

POLIMORFISMOS DEL GEN *LPA* Y SU ASOCIACIÓN CON CALCIO VALVULAR AÓRTICO EN POBLACIÓN MESTIZO-MEXICANA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LIC. en QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

SHAMAR LUISA MARÍA LALE FARJAT

DIRECTOR DE TESIS

DR. GUILLERMO C. CARDOSO SALDAÑA

Ciudad Universitaria, Cd. Mx. 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Dra. Marisol López López

VOCAL: Dr. Jesús Fernando Montiel Aguirre

SECRETARIO: Dr. Guillermo Celestino Cardoso Saldaña

1er. SUPLENTE: Dr. Félix Morales Flores

2° SUPLENTE: M. en C. Alberto Ortega Vázquez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ

DEPARTAMENTO DE ENDOCRINOLOGÍA

LABORATORIO DE ENDOCRINOLOGÍA

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Guillermo Celestino Cardoso Saldaña

SUSTENTANTE:

Shamar Luisa María Lale Farjat

CONTENIDO

ABREVIATURAS	- 5 -
ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS	- 7 -
RESUMEN	- 8 -
INTRODUCCIÓN	- 10 -
<i>Epidemiología de las enfermedades cardiovasculares</i>	- 10 -
Factores de riesgo clásicos y emergentes.....	- 11 -
Aterosclerosis subclínica	- 11 -
Calcificación Valvular Aórtica (CVA)	- 12 -
<i>Generalidades de la Lipoproteína (a)</i>	- 13 -
Síntesis.....	- 14 -
Estructura y características generales.....	- 14 -
Metabolismo.....	- 17 -
Funciones.....	- 20 -
<i>Isoformas de Apo(a) y concentración de Lp(a)</i>	- 24 -
<i>Diferencias étnicas en la concentración de Lp(a)</i>	- 26 -
<i>Asociación de Lp(a) con EAC</i>	- 27 -
<i>Asociación de Lp(a) con CVA</i>	- 28 -
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	- 29 -
JUSTIFICACIÓN	- 29 -
OBJETIVO	- 30 -
HIPÓTESIS	- 30 -
DISEÑO EXPERIMENTAL	- 31 -
<i>Estudio GEA</i>	- 31 -
METODOLOGÍA	- 32 -
<i>Población</i>	- 32 -
Consideraciones éticas.....	- 32 -
<i>Características antropométricas</i>	- 32 -
<i>Determinaciones bioquímicas</i>	- 33 -
<i>Tomografía Axial Computarizada</i>	- 34 -
<i>Definición de las variables</i>	- 34 -

<i>Análisis estadístico</i>	- 35 -
RESULTADOS	- 36 -
DISCUSIÓN	- 42 -
<i>Fortalezas y limitaciones del estudio</i>	- 46 -
CONCLUSIONES	- 48 -
REFERENCIAS	- 49 -
ANEXOS	- 63 -
<i>ANEXO I CUESTIONARIO DE RIESGO CARDIOMETABÓLICO</i>	- 63 -
<i>ANEXO II CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO</i>	- 72 -
<i>ANEXO III DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS</i>	- 74 -
Determinación de glucosa: Método enzimático-colorimétrico (GOD-PAP).....	- 74 -
Determinación de colesterol total: Método enzimático-colorimétrico (CHOD-PAP)	- 74 -
Determinación de triglicéridos: Método enzimático-colorimétrico (GPO-PAP)	- 75 -
Determinación de C-HDL: Método enzimático-colorimétrico homogéno	- 75 -
Determinación de insulina: Radioinmunoanálisis.....	- 76 -
Determinación de proteína C reactiva de alta sensibilidad: Inmunonefelometría.....	- 76 -
Determinación de Lp(a): Inmunonefelometría.....	- 76 -

ABREVIATURAS

ECV	Enfermedades Cardiovasculares
Lp(a)	Lipoproteína (a)
EAC	Enfermedad Arterial Coronaria
CAC	Calcificación de las arterias Coronarias
CVA	Calcificación Valvular Aórtica/ Calcio valvular aórtico
TAC	Tomografía Axial Computarizada
LDL	Lipoproteína de baja densidad
Apo(a)	Apolipoproteína(a)
ApoB	Apolipoproteína B
LPA	Gen de la Apo(a)
PGL	Gen del plasminógeno
K	Kringle
Cys	Cisteína
Lys	Lisina
LDLR	Receptor de lipoproteínas de baja densidad (por sus siglas en inglés)
VLDLR	Receptor de Lipoproteínas de Muy Baja Densidad (por sus siglas en
MMP-12	Metaloproteinasa de matriz 12
LBS	Sitios de Unión a Lisinas (por sus siglas en inglés)
Ser	Serina
Ile	Isoleucina
Arg	Arginina
Val	Valina
PG	Plasminógeno
tPA	Activador tisular del plasminógeno
PAI-1	Inhibidor del activador del plasminógeno 1
PKC	Proteína quinasa C
SERPINA-	Serina Proteasa Inhibidora 1
OxLp(a)	Lipoproteína(a) oxidada
TGF-β	Factor de Crecimiento Transformante beta (por sus siglas en inglés)
IL-8	Interleucina 8

IL-1β	Interleucina 1 beta
TNF-α	Factor de Necrosis Tumoral alpha
MCP-1	Proteína quimiotáctica de monocitos 1
ICAM-1	Molécula de Adhesión Intracelular tipo I
VCAM-1	Molécula de Adhesión Vasculatipo I
oxLp(a)	Lp(a) oxidada
OxPLs	Fosfolípidos oxidados
SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
SNP	Polimorfismos de un Sólo Nucleótido
CNV	Variación en el Número de Copias
MAF	Alelo de menor frecuencia
AR	Alelo de riesgo
AS	Alelo silvestre (ancestral)
IMC	Índice de masa corporal
TAS	Tensión arterial sistólica
TAD	Tensión arterial diastólica
CT	Colesterol Total

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Principales causas de Mortalidad General en la República Mexicana, 2000-2011. ...	10 -
Figura 2. Factores de riesgo para la Calcificación Valvular Aórtica.	13 -
Figura 3. Forma característica del kringle.	15 -
Figura 4. Ilustración esquemática de la homología estructural entre PLG y LPA.	15 -
Figura 5. Estructura de la Lp(a)	16 -
Figura 6. Ensamblaje de Lp(a)	17 -
Figura 7. Catabolismo de la Lp(a)	18 -
Figura 8. Actividad antifibrinolítica aterotrombótica de la Lp(a).	21 -
Figura 9. Acciones protrombóticas de la Lp(a)	21 -
Figura 10. Lp(a) acarreado un fosfolípido oxidado.	23 -
Figura 11. Isoformas de Apo(a) y Lp(a) plasmática.	24 -
Figura 12. Relación entre el tamaño de isoforma de Apo(a) y la concentración de Lp(a).	25 -
Figura 13. Distribución de la concentración de Lp(a) en diferentes poblaciones.	27 -
Figura 14. Mecanismo mediante el cual la Lp(a) participa en la mineralización de la válvula aórtica.	46 -
Gráfico 1. Frecuencia de aterosclerosis subclínica y concentración de Lp(a) elevada en sujetos sin EAC.	36 -
Gráfico 2. Prevalencia genotípica de los polimorfismos de LPA en sujetos sin EAC.	37 -
Gráfico 3. Frecuencias genotípicas agrupando portadores del MAF por polimorfismos de LPA en sujetos sin EAC.	38 -
Tabla 1. Acciones aterogénicas de la Lp(a) como efecto de sus interacciones moleculares. ...	22 -
Tabla 2. Polimorfismos del gen LPA	28 -
Tabla 3. Características antropométricas y bioquímicas de los polimorfismos de LPA en sujetos sin EAC.	39 -
Tabla 4. Análisis de regresión multivariado entre el polimorfismo rs10455872 de LPA con Lp(a) > 30 mg/dl, CAV >0 UA y CAC > 0 UA en población mexicana sin EAC.	40 -
Tabla 5. Análisis de regresión multivariado entre el polimorfismo rs7765803 de LPA con Lp(a) > 30 mg/dl, CAV >0 UA y CAC > 0 UA en población mexicana sin EAC.	41 -

RESUMEN

Introducción: En los últimos años, entre los factores de riesgo para la enfermedad arterial coronaria (EAC), se han identificado factores de riesgo emergentes entre los que destaca la concentración elevada de lipoproteína(a) (Lp(a)). La Lp(a) es sintetizada en los hepatocitos y está formada por una partícula similar a la LDL a la que se une covalentemente otra proteína, la Apo(a). Esta apoproteína es altamente polimórfica y está regulada hasta en un 90% por el gen *LPA*. Se han descrito varios polimorfismos en el gen *LPA*. Actualmente la asociación de estos con la concentración de Lp(a), las isoformas de Apo(a) y las diferentes manifestaciones de la EAC es motivo de intensa investigación. Los hallazgos han sido inconclusos y contradictorios. Se han informado diversos grados de asociación entre distintos grupos étnicos (europeos, africanos, norteamericanos, hispanos y asiáticos), por lo que se ha concluido que el riesgo de EAC asociado al gen *LPA* y las concentraciones de Lp(a) dependen de la población y el diseño de estudio. El polimorfismo del gen *LPA* y su asociación con la EAC en población mexicana se desconoce.

Objetivo: El objetivo de este estudio es investigar la asociación de seis polimorfismos del gen *LPA* (rs10455872, rs7765803, rs6907156, rs1321195, rs12212507 y rs6919346) con la concentración de Lp(a) y el depósito de calcio valvular aórtico en una muestra de adultos mestizo-mexicanos sin antecedentes personales ni familiares de EAC.

Metodología: Se seleccionó una muestra de 1600 voluntarios aparentemente sanos que participan en el proyecto Genética de la Enfermedad Aterosclerosa (GEA) que se realiza en el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez. En las muestras de estos sujetos se determinó perfil de lípidos y lipoproteínas por métodos enzimáticos colorimétricos, y la Lp(a) por nefelometría en equipo automatizado. Los polimorfismos se determinaron por medio de PCR en tiempo real y el CVA por tomografía axial computada (TAC). Para el análisis estadístico de los datos se utilizaron pruebas paramétricas y no paramétricas dependiendo de la distribución de las variables utilizando el software SPSS versión 15.0.

Resultados: De los 1600 sujetos estudiados se obtuvieron datos de CAC en 1563 sujetos, 26.9% de ellos presentaron depósito de calcio en las arterias coronarias y en 1270 se evaluó el CVA, 19.9% presentaron calcificación valvular. La concentración de Lp(a) se midió en 634 individuos de los cuales 9.3% presentaron concentraciones elevadas.

Respecto a los seis polimorfismos estudiados, los portadores de la variante rs10455872-G se caracterizaron por tener mayor concentración de Lp(a) ($p < 0.001$) y presencia de CVA ($p < 0.001$) y los portadores de la variante rs7765803-G del gen *LPA* tuvieron menor concentración de Lp(a) ($p = 0.033$) y menor frecuencia de CAC ($p = 0.035$).

Conclusiones:

Las variantes del gen *LPA* rs10455872-G y rs7765803-G tienen una asociación significativa e independiente con las concentraciones de Lp(a). Ambos polimorfismos se asociaron significativa e independientemente con aterosclerosis subclínica, evaluada como CVA para rs10455872-G y como CAC para rs7765803-G.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son un grupo heterogéneo de desórdenes del corazón y de los vasos sanguíneos. La cardiopatía coronaria, las enfermedades cerebrovasculares, las arteriopatías periféricas, la cardiopatía reumática y congénita, así como las trombosis venosas profundas y embolias pulmonares se encuentran dentro de este grupo¹.

Epidemiología de las enfermedades cardiovasculares

Las ECV son la principal causa de muerte en el mundo. Cada año mueren más personas por ECV que por otra causa. Estas se presentan en cualquier estrato socioeconómico y ubicación geográfica. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) 3 de cada 10 defunciones son causadas por estas enfermedades (aprox. 17.3 millones de personas mueren al año en el mundo, 2012)¹.

En México, las ECV también ocupan las primeras causas de mortalidad en la población general con más de 105,000 defunciones al año y las cifras van en aumento (Figura 1). La enfermedad cardiovascular es un problema que debe ser tratado en sus etapas tempranas ya que pueden prevenirse eventos fatales si se actúa sobre los factores de riesgo de estas enfermedades, por lo tanto es importante un diagnóstico oportuno².

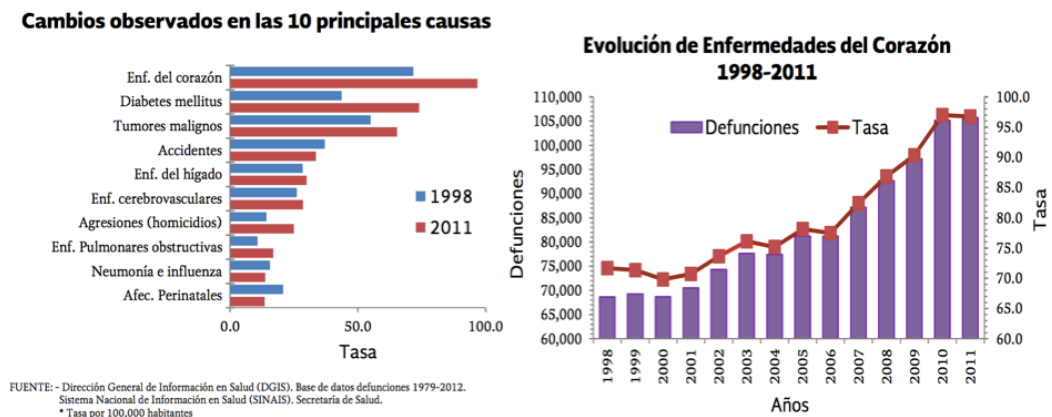


Figura 1. Principales causas de Mortalidad General en la República Mexicana, 2000-2011.

Factores de riesgo clásicos y emergentes

Dada la tasa elevada de mortalidad por las ECV y las evidencias que demuestran que su detección y tratamiento tempranos son efectivas para disminuir el riesgo en la morbi-mortalidad de la enfermedad³, es necesario identificar bio-marcadores específicos y sensibles que permitan detectar la etapa preclínica silente de la enfermedad. Biomarcadores con esas características pueden orientar la implementación de medidas de prevención y de tratamiento adecuados.

Un factor de riesgo es una acción, condición anatómica o funcional, serológica, genética o ambiental, que influye de manera estadísticamente significativa en la probabilidad de que se presente o se desarrolle una enfermedad⁴. Los factores de riesgo para las ECV se clasifican en clásicos y emergentes. Los clásicos consideran la edad, el género, las dislipidemias, presión arterial alta, tabaquismo y diabetes.

Los factores de riesgo emergentes son condiciones o características para los que recientemente se ha demostrado una relación causa-efecto significativa y consistente, con el desarrollo de una enfermedad. Por ejemplo, las concentraciones elevadas de lipoproteína(a) (Lp(a)), las citocinas, la proteína C reactiva, el fibrinógeno y la homocisteína⁵ son factores emergentes para las ECV. La presencia de varios factores de riesgo en un individuo aumenta la probabilidad de que se presente un evento cardiovascular; la precisión en predecir el riesgo cardiovascular en un sujeto varía considerablemente².

Aterosclerosis subclínica

La enfermedad arterial coronaria (EAC) es la afección más común dentro de las ECV. La historia natural de ésta comprende un largo periodo silente o asintomático conocido como aterosclerosis subclínica⁶. Es un proceso patológico que puede iniciar en la niñez y progresa durante más de 50 años, sin embargo, el desarrollo es más rápido en sujetos que presentan factores de riesgo³.

La aterosclerosis es una enfermedad que el humano ha padecido durante más de 3500 años⁷. Las primeras alteraciones comienzan en el endotelio o túnica íntima de

los vasos sanguíneos, continúan en espacio subendotelial y progresivamente afectan toda la pared, incluyendo las tunicas media y adventicia. En el espacio subendotelial se deposita colesterol y se infiltran monocitos circulantes que se transforman en macrófagos espumosos al incorporar el exceso de colesterol^{3,8}.

Las células musculares lisas de la túnica media, estimuladas por factores liberados por las células endoteliales y macrófagos, migran al espacio subendotelial transformando su fenotipo contráctil a secretor. Sintetizan y liberan proteasas que debilitan la capsula fibrosa que contiene al colesterol y los macrófagos espumosos, el centro necrótico y apoptótico, los que favorece que la placa aterosclerosa se rompa y la formación de un trombo que puede obstruir, parcial o totalmente la luz del vaso sanguíneo y provocar un infarto⁹.

La aterosclerosis subclínica se puede evaluar determinando la presencia de calcio en las arterias coronarias (CAC), el depósito de calcio en la válvula aórtica (CVA) o el aumento en el grosor de la íntima media carotídea^{2,6,10-12}.

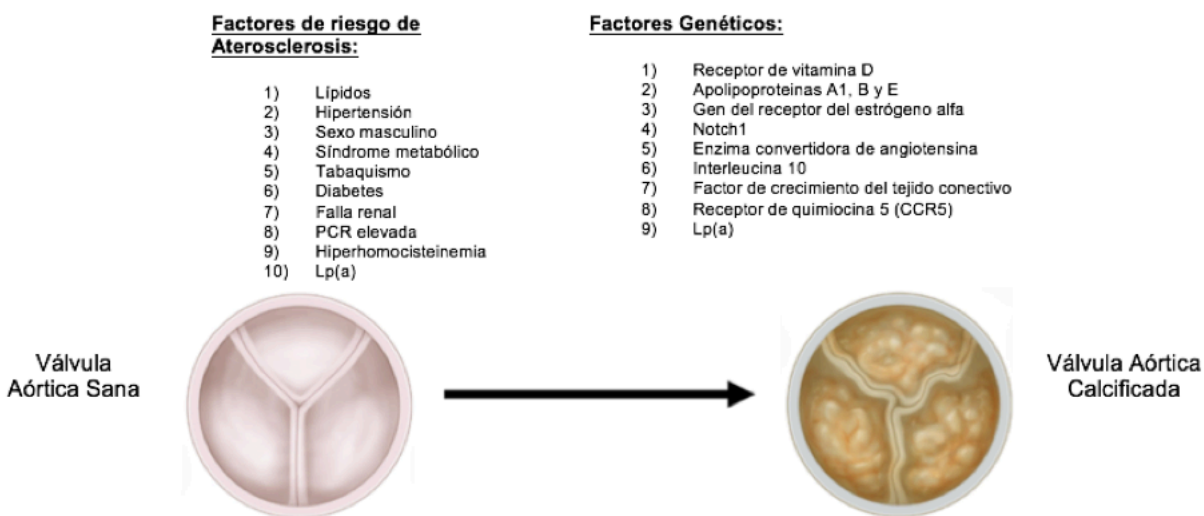
Calcificación Valvular Aórtica (CVA)

La calcificación de la válvula aórtica es un problema frecuente en las personas mayores de edad. Se estima que en el 2030 en los países desarrollados habrá 4.5 millones de personas mayores de 60 años con enfermedad de la válvula aórtica calcificada¹³. Por mucho tiempo se consideró que la calcificación de la válvula aórtica era consecuencia del envejecimiento, sin embargo, actualmente se conocen factores de riesgo que también influyen en este proceso dinámico y progresivo que involucra inflamación, acumulación de lípidos y calcificación¹⁴.

Se conoce como esclerosis de la válvula aórtica a los estados tempranos de calcificación. La etapa inicial de esclerosis aórtica se caracteriza por el engrosamiento subendotelial, acumulación de lípidos e infiltración de células inflamatorias como macrófagos, células espumosas y linfocitos T¹⁵. El 25-hidroxicolesterol, un producto de la oxidación del colesterol, estimula la osteogénesis y la calcificación del tejido valvular¹⁶.

Posteriormente se clasifica como estenosis a etapas avanzadas en las cuales la válvula disminuye su función causando obstrucción del flujo sanguíneo^{9,14,17}. Los estadios tempranos de la enfermedad se caracterizan por la presencia de calcio valvular aórtico sin obstrucción hemodinámica⁹. El estrés mecánico en la válvula bicúspide también pudiera asociarse con alteraciones estructurales y el proceso de calcificación valvular¹⁴. La tomografía axial computarizada (TAC) es una herramienta sensible y precisa para cuantificar el calcio valvular^{9,18,19}.

Varios factores de riesgo para el desarrollo de la estenosis valvular son similares a los de la aterosclerosis^{9,20} (Figura 2). Entre los factores de riesgo emergentes asociados significativamente con la CVA se encuentran algunos polimorfismos del gen *LPA* y la concentración elevada de Lp(a). Es decir que algunos sujetos están genéticamente predispuestos a presentar enfermedad de la válvula aórtica calcificada^{14,21-25}.



Modificado de *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2016;36:774-776

Figura 2. Factores de riesgo para la Calcificación Valvular Aórtica.

Generalidades de la Lipoproteína (a)

En 1963, Kare Berg, usando anticuerpos obtenidos de conejos inmunizados con lipoproteína de baja densidad (LDL) humana, identificó una variante genética de esta lipoproteína que definió como un determinante antigénico al que llamó antígeno (a) de lipoproteína o Lp(a)²⁶. En 1968 Berg demostró que la Lp(a) es una lipoproteína

diferente a la LDL ya que en la electroforesis migra entre las partículas beta y prebeta, por lo que también se le conoció como prebeta₁ o prebeta hundida²⁶.

La Lp(a) únicamente se encuentra en humanos, primates y erizos²⁷. ¿Por qué el gen de la Apo(a) se ha conservado en tan pocas especies? y ¿Cuál es su función fisiológica? Son preguntas para las que aún no se tiene respuesta, sin embargo, la asociación entre las concentraciones elevadas de Lp(a) y la EAC está bien demostrada^{20,28-32}.

Síntesis

La Lp(a) es sintetizada en el hígado y sus concentraciones plasmáticas van desde <1mg/dL hasta >1000mg/dL²⁴. Concentraciones mayores a los 30mg/dL están asociadas con dos veces mayor riesgo de desarrollar EAC²⁸. A diferencia de las otras lipoproteínas, las concentraciones de Lp(a) están determinadas hasta un 90% por su gen y no están moduladas por la actividad de las enzimas que catalizan el metabolismo de las otras lipoproteínas²⁴, tampoco es un derivado del catabolismo de otra lipoproteína ni es metabolizada para formar otras lipoproteínas^{33,34}.

A pesar de las similitudes entre la LDL y la Lp(a), la síntesis y metabolismo de la Lp(a) es independiente de la LDL²⁴. Se ha observado que la Apo(a), la LDL y la ApoB se secretan por separado para unirse posteriormente y formar la Lp(a). Se sugiere que hay dos *pools* de ApoB, uno para la LDL y otro para la Lp(a)^{24,35}, lo que ha llevado a confirmar que la síntesis de Lp(a) es independiente del metabolismo de la LDL.

Estructura y características generales

El gen de la Apo(a) (*LPA*) y el del plasminógeno (*PLG*) tienen 70% homología³⁶. Ambos genes codifican para dominios estructurales altamente glucosilados en forma de bucles conformados por aproximadamente 78 aminoácidos denominados kringles³⁷. Cada kringles(K) adquiere su forma característica por la unión de tres puentes disulfuro entre residuos de cisteínas: Cys 1-6, Cys 2-4 y Cys 3-5²⁷. (Figura 3)

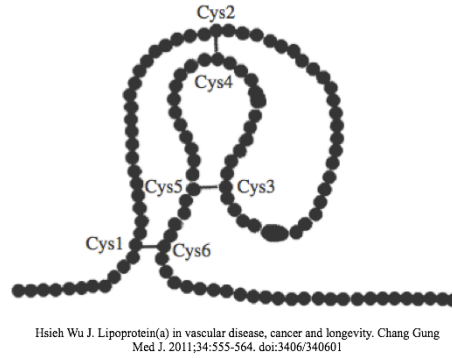
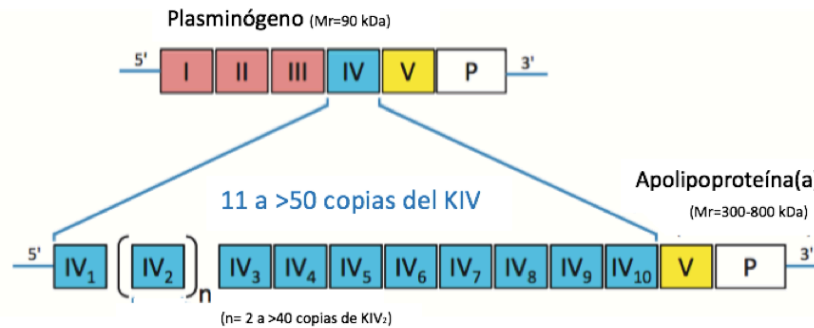


Figura 3. Forma característica del kringle.

El gen *PLG* codifica para una sola copia de cinco kringles diferentes (KI al KV) y un dominio proteasa activo. El gen *LPA* no codifica para el KI, KII y KIII, pero codifica para múltiples copias del KIV y una copia del KV, además de la región serin-proteasa homologa en 94% al *PLG*³⁸ pero sin actividad proteolítica²⁷. Los KIV y KV de la Lp(a) son homólogos en un 84% y 91%, respectivamente, con los del plasminógeno³⁸. A diferencia del PGL, la Apo(a) presenta 10 tipos de KIV, el KIV tipo 2 (KIV₂) está presente en múltiples repeticiones, desde 2 hasta >50 copias determinando el tamaño y peso molecular de la Apo(a)²² (Figura 4).



Modificado de Journal of Internal Medicine. 2013. 273: 6-30

Figura 4. Ilustración esquemática de la homología estructural entre *PLG* y *LPA*.

La Lp(a) es un complejo macromolecular con un diámetro de aproximadamente 25nm y una densidad entre 1.05-1.12 g/mL³⁹. La conforman una LDL y la apoproteína (a), una proteína altamente glucosilada, rica en ácido neuramínico con peso molecular entre 300 a 800 kDa^{27,37} (Figura 5).

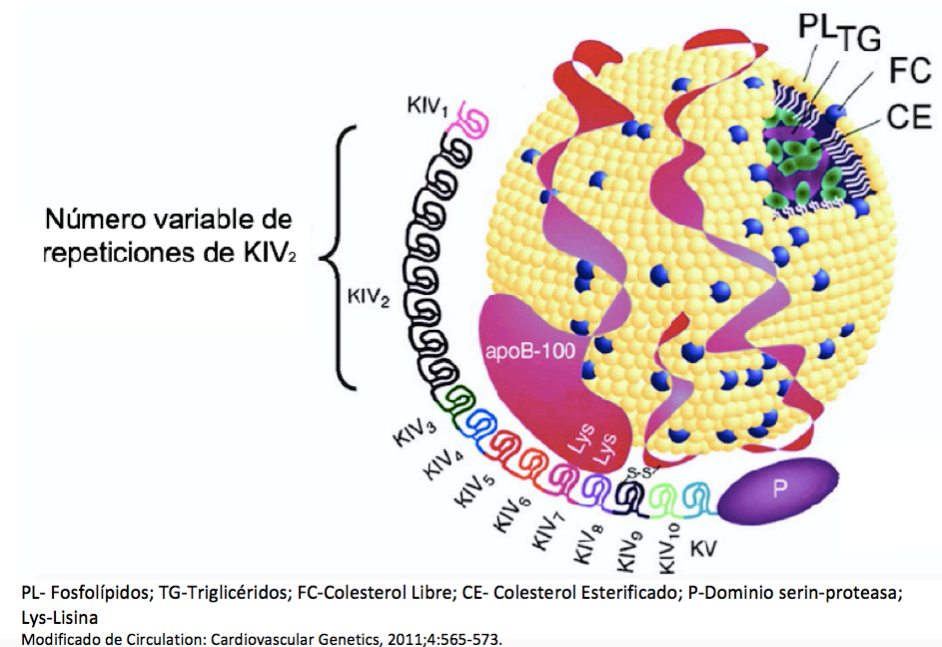
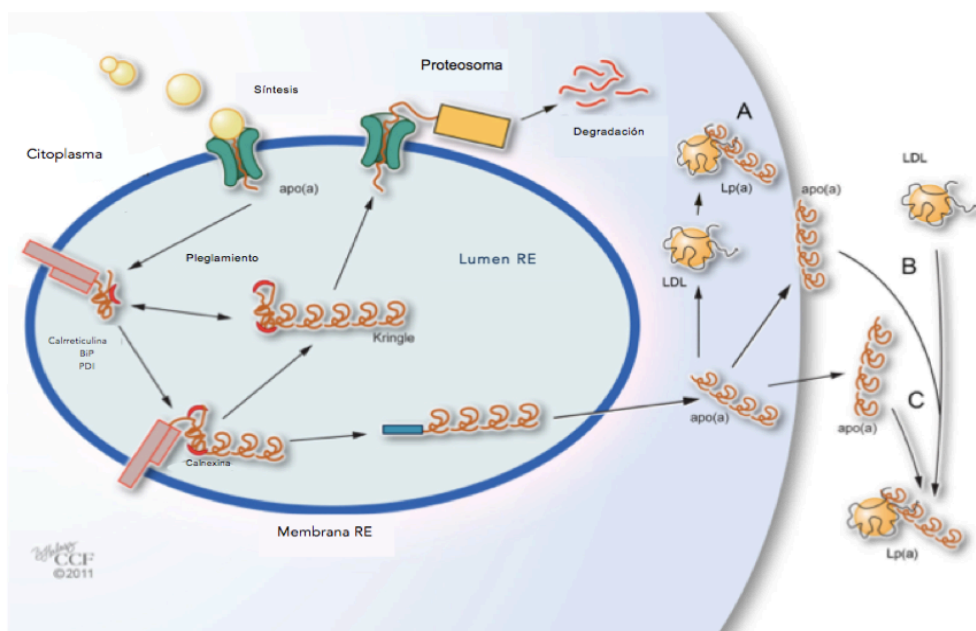


Figura 5. Estructura de la Lp(a)

Se ha demostrado que la eficiencia en el ensamblaje de la Lp(a) se debe a la formación de enlaces no covalentes con lisinas localizadas en el KIV₇ de la Apo(a) con ApoB Lys680/ApoB Lys690 y el KIV₈ de la Apo(a) y ApoB Lys4372, y un puente disulfuro entre la única cisteína libre en la Apo(a), Cys1568 ubicada en el KIV₉, y Cys4326 en la ApoB. La ubicación de estos enlaces hace que la Apo(a) envuelva a la LDL^{27,40}.

El sitio de ensamblaje entre la Apo(a), la ApoB y la LDL aún es controversial. Algunos estudios sugieren que puede ocurrir a nivel intracelular³⁵ y otros datos sugieren que puede ser a nivel extracelular^{41,42}. En lisados de hepatocitos primarios humanos se han encontrado complejos Apo(a):LDL⁴³, indicando que la unión es a nivel intracelular. Otros estudios *in vitro* han demostrado que la síntesis de Apo(a) se lleva a cabo en los hepatocitos y que la unión con ApoB ocurre en la superficie celular o en el espacio de Disse^{42,44}. También se ha sugerido que la Lp(a) se desensambla y vuelve a ensamblarse en el plasma. Esto significa que la Apo(a) no siempre se encuentra unida a la ApoB⁴⁵ lo que podría explicar la inconsistencia de los reportes sobre el sitio en el que se ensambla esta lipoproteína³⁴.

En el proceso de síntesis, la Apo(a) recién sintetizada entra al retículo endoplásmico donde es plegada y liberada, ya sea al Aparato de Golgi o transportada al proteosoma para ser degradada. La calnexina es una proteína chaperona del retículo endoplásmico que unida a la Apo(a) previene su degradación. El plegamiento de la Apo(a) no aparenta ser dependiente del tamaño, sin embargo, un porcentaje mayor de isoformas grandes (>22KIV) son degradadas en comparación a las isoformas pequeñas (<22KIV). Lo que explica por qué las concentraciones plasmáticas de Lp(a) son inversamente proporcional al tamaño de la isoforma de Apo(a)^{24,46} (Figura 6).

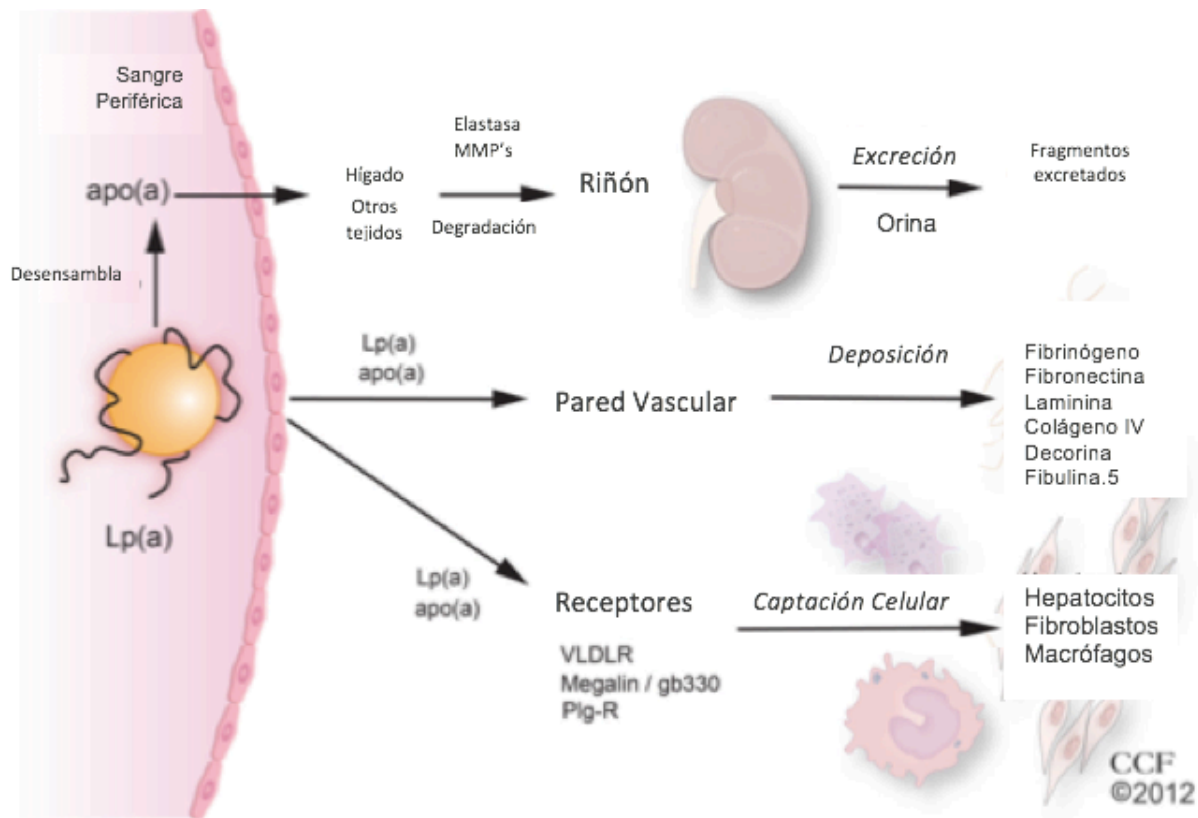


BiP- Chaperona molecular endoplásmica; PDI-Proteína disulfuro isomerasa.
Modificado de Metabolism. 2013;62(4): 479-491

Figura 6. Ensamblaje de Lp(a)

Metabolismo

El sitio en el cual la Lp(a) y la Apo(a) son catabolizadas aún no está claro. Se ha sugerido que la Apo(a) puede ser cortada en fragmentos en el plasma, hígado y otros tejidos antes de excretarse por la orina. No se sabe si existen receptores específicos para la Lp(a), como los descritos para otras lipoproteínas³⁴, sin embargo, se sabe que la Lp(a) y la Apo(a) se unen a las proteínas de la pared vascular. La Lp(a) también se puede unir al VLDLR o megalina, y ser captada por hepatocitos, fibroblastos o macrófagos. (Figura 7)



Modificado de Metabolism. 2013;62(4): 479–491

Figura 7. Catabolismo de la Lp(a)

Se han descrito que independientemente del tamaño de la isoforma de Apo(a), se generan hasta 10 fragmentos distintos con peso molecular de 30 a 160 kDa derivados de la región N-terminal⁴⁷. Esto sugiere que hay enzimas que cortan la Apo(a) en sitios específicos^{48,49}. Los fragmentos encontrados en el plasma son más largos que los encontrados en orina cuya proporción es de 1-3% de la Apo(a) plasmática^{34,49}. Estudios *in vitro*⁵⁰ han mostrado que la Apo(a) es sustrato de la enzima elastasa neutrófila que corta a la Apo(a) entre el KIV₄ y el KIV₅ y de la enzima MMP-12 o elastasa macrófaga que fragmenta la Apo(a) en los mismos KIV pero en diferente posición⁵¹. No se han encontrado fragmentos de Apo(a) cuando es incubada con plasma *ex vivo*, lo que sugiere que la fragmentación se lleva a cabo en los tejidos⁵². Los fragmentos encontrados en la orina sugieren que hay diferentes mecanismos catabólicos para las regiones C-terminal y N-terminal³⁴. Sin embargo, las concentraciones de Lp(a) aumentan en pacientes con enfermedad renal y los

fragmentos de Apo(a) disminuyen en la excreción urinaria lo que sugiere que el riñón es importante y necesario en el catabolismo de Apo(a)⁴⁸.

Por otro lado, por su similitud con la LDL, el receptor para esta lipoproteína se ha sugerido como un posible sitio de captación y degradación de Lp(a), sin embargo, la remoción de Lp(a) por esta vía, si existe, es limitada y el papel que este desempeña en su catabolismo es controversial³⁶. Únicamente una pequeña fracción de Lp(a) se une al hepatocito por medio de los receptores de LDL⁵³, algunos estudios han demostrado que la Lp(a) circulante se une, con menor afinidad, a estos receptores⁵⁴⁻⁵⁶. Por otro lado, hay evidencia que los receptores de LDL no son tan importantes para la remoción de la Lp(a) del plasma dado que las estatinas no alteran las concentraciones de Lp(a) a pesar de inducir una sobreexpresión de los receptores de LDL⁵⁷.

Se ha observado que la Lp(a) se une con mayor afinidad a otros dos receptores, el receptor VLDL (VLDLR) y el de megalina/330gp⁵⁸. El VLDLR se expresa en el corazón, músculo esquelético y tejido adiposo. La megalina es un receptor de endocitosis que se expresa en la membrana de células epiteliales, músculo esquelético y en el células del túbulo proximal de las nefronas⁵⁹ y es más abundante en el tejido tiroideo. La Lp(a) se une a la megalina y es catabolizada en los fibroblastos. El significado de la captación y degradación de la Lp(a) por VLDLR⁶⁰ y la megalina *in vivo* aún no está claro. Se ha sugerido que los receptores de plasminógeno reconocen los sitios de unión a lisinas (LBS) de la Apo(a) pero se desconoce si contribuyen a la degradación de Apo(a)⁶¹.

Otros receptores pueden estar involucrados en la eliminación de la Lp(a) como son los receptores de asialoglicoproteína⁶² y receptores de macrófagos “scavenger”⁶⁰.

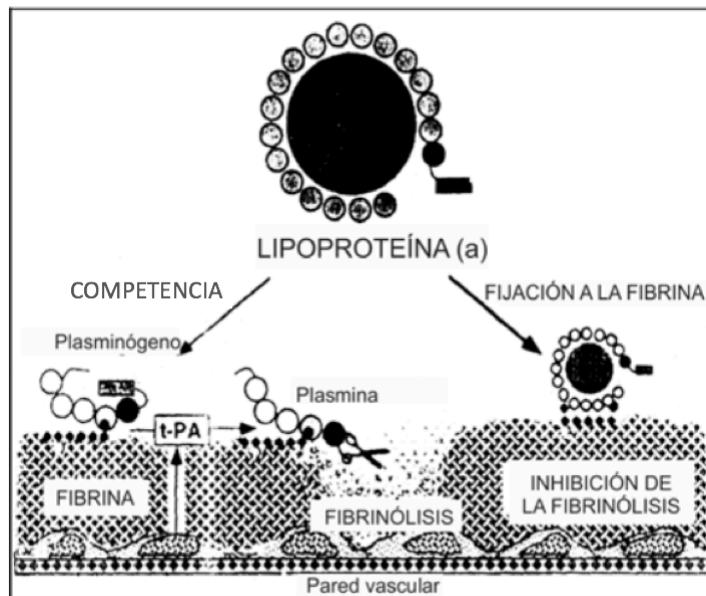
Estudios *in vivo* indican que las variaciones de las concentraciones plasmáticas de Lp(a) en individuos con isoformas diferentes se deben a la tasa de producción de Apo(a) y no a la tasa de eliminación⁶³.

Funciones

Aún se desconoce la función fisiológica de la Lp(a) y cómo es que ésta lipoproteína se conservó sólo en los primates, continúa siendo un enigma. La complejidad de la Lp(a) y el limitado número de modelos animales ha complicado los estudios para determinar su función³⁴.

Sin embargo, se sabe que la Lp(a) participa en diferentes procesos celulares moleculares⁶⁴. Se le ha identificado en tejidos dañados por lo que se ha sugerido que participa en la regeneración de tejidos, ya que su colesterol es utilizado por los fibroblastos para la reparación y proliferación celular en la pared de vasos sanguíneos^{36,40,64-66}.

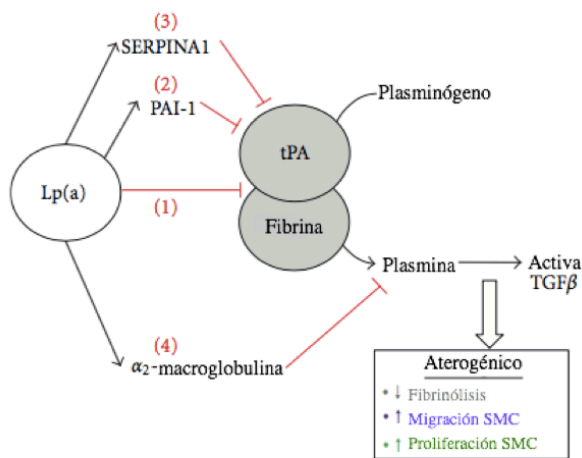
Por su similitud estructural con el plasminógeno, tiene una acción pro-trombótica. La terminación proteasa de la Apo(a) tiene una mutación donde Ser⁵⁶¹-Ile⁵⁶² es substituida por Arg⁵⁶¹-Val⁵⁶² manteniendo su homología con la terminación proteasa del plasminógeno^{64,67} ésta modificación resulta en inactivación de la región proteasa de la Apo(a) pero conserva la capacidad de unirse a sitios de unión a la lisina en la fibrina. De esta manera la Apo(a) inhibe por competencia, la unión del PG a la fibrina y por lo tanto su conversión a plasmina, enzima que hidroliza la fibrina^{4,68-71} y limita la formación de trombos. Se ha observado que las isoformas pequeñas de Apo(a) tienen mayor potencial para competir por el plasminógeno e inhibir la fibrinólisis⁷⁰ (Figura 8).



Lipoproteína a: Lp(a) factor de riesgo vascular emergente. Opción Médica; 1036:30-36.

Figura 8. Actividad antifibrinolítica aterotrombótica de la Lp(a).

La Lp(a) puede inhibir la activación del plasminógeno por medio de otras vías: inhibiendo la asociación del complejo ternario entre el plasminógeno, la fibrina y tPA; reduciendo la disponibilidad de tPA⁷²; aumentando la expresión de PAI-1 dependiente de PKC⁷³, y asociándose al inhibidor serín-proteínasa 1 (SERPINA1), ambos inhibidores de tPA; y uniéndose a α_2 -microglobulina, un inhibidor de plasmina⁶⁷ (Figura 9). El resultado de estas interacciones son efectos anti-fibrinolíticos, proliferación de células musculares lisas y migración de estas células al espacio sub-endotelial para formar parte de la placa aterosclerosa⁶⁴.



Hindawi Publishing Corp. Cholesterol Vol.2012, Article ID 923289, 10 pages doi:10.1155/2012/923289

Figura 9. Acciones protrombóticas de la Lp(a)

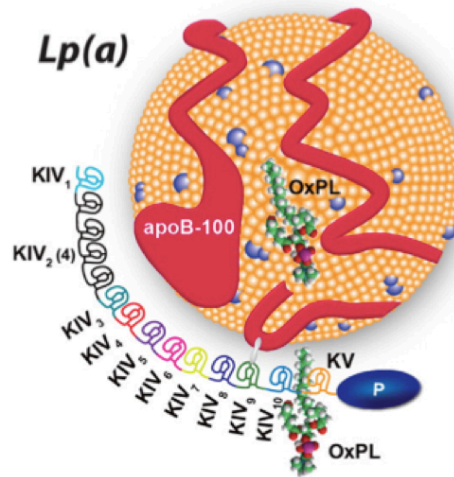
Se han realizado diversos estudios clínicos y experimentales para conocer las funciones de la Lp(a) y su participación en el desarrollo de la EAC. Comparada con la LDL, la Lp(a) tiene mayor afinidad por la matriz de la capa íntima de la pared vascular.⁷⁴ Estudios *in vitro* han mostrado que la Lp(a) se une a varias proteínas extracelulares como la fibrina, a péptidos como las defensinas liberados por neutrófilos durante la inflamación⁷⁵ y varias proteínas de la pared arterial ⁷⁶.

En la Tabla 1 se enlistan algunas de las interacciones de la Lp(a) con diversas moléculas y los posibles efectos aterogénicos.

Tabla 1. Acciones aterogénicas de la Lp(a) como efecto de sus interacciones moleculares.

Factor de Interacción	Interactúa con	Acción	Efecto	Referencias
TFPI	Apo(a)	<i>Inactiva</i>	Promueve coagulación	37,77
GPIIb/IIIa (Integrina $\alpha_{IIb}\beta_3$)	Lp(a)	<i>Inhibe</i>	Agregación plaquetaria	78
PAF	Apo(a)	<i>Aumenta</i>	Agregación plaquetaria	79
TRAP	Lp(a)	<i>Inhibe</i>	Agregación plaquetaria	68
$\alpha_M\beta_2$ (integrina de Mac-1)	Apo(a)	<i>Promueve</i>	Adhesión y migración transendotelial	36,80
Integrina $\alpha_V\beta_3$	KIV ₁₀ ; KV	<i>Reduce</i>	Producción y actividad de TGF β	81,82
Integrina $\alpha_V\beta_3$	KIV ₉	<i>Inhibe</i>	Activación TGF β	83
IL-6	Promotor Apo(a)	<i>Aumenta</i>	Expresión de Lp(a)	84
Integrina $\alpha_{IIb}\beta_3$	Lp(a) & Apo(a)	<i>Promueve</i>	Migración transendotelial	80,85
integrina Mac-1 ($\alpha_M\beta_2$)	Lp(a)	<i>Promueve</i>	Adhesión de monocitos	80
Integrina $\alpha_V\beta_3$	KIV ₁₀ y KV		Proliferación de células endoteliales	64,81
Acciones directas de Lp(a)		Acción	Efecto	Referencias
	Lp(a)	<i>Promueve</i>	Secreción de citocinas proinflamatorias (IL-8, IL-1 β , TNF- α y MCP-1)	64,86
	Lp(a)	<i>Induce</i>	Expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina)	87,88
	Lp(a)	<i>Atrae</i>	Células inflamatorias a sitios de deposición	87
	Lp(a)	<i>Induce</i>	Proliferación de las células del músculo liso	89,90
	OxLp(a)	<i>Incrementa</i>	Proliferación de las células del músculo liso	90
	OxLp(a)	<i>Induce</i>	Expresión PDGF (aumenta la proliferación dentro de las paredes vasculares)	91
	Lp(a); Apo(a) <22KIV ₂	<i>Induce</i>	Quimiotaxis de monocitos	92

La Lp(a) es un importante acarreador de fosfolípidos oxidados (OxPLs)^{86,93} que se unen covalentemente a la Apo(a) y se asocian de manera directa con la concentración de Lp(a)⁹⁴ pero de manera inversa con el tamaño de la isoforma de Apo(a)⁹⁵ (Figura 10). Los OxPL pueden acumularse en lesiones aterosclerosas⁹⁵ y contribuir a la desestabilidad y vulnerabilidad de la placa⁹⁶. La degradación de los OxPL a lisofosfatidilcolina y ácidos grasos libres participan en los procesos pro-inflamatorios asociados a la aterogénesis^{93,97}.



Estructura de la Lp(a) con 13 KIV. Unido covalentemente a la Apo(a) se encuentra un fosfolípido oxidado (OxPL), 1-palmitoil-2-oxovaleroil-*sn*-glicero-3-fosfolina (POVPC), quien se disuelve en la fase lipídica de la ApoB.
Modificado de Tsimikas S. The re-emergence of lipoprotein(a) in a broader clinical arena. Prog Cardiovasc Dis (2016)

Figura 10. Lp(a) acarreado un fosfolípido oxidado.

En resumen, los mecanismos pro-aterogénicos y protrombóticos de la Lp(a) incluyen:

1. Modulación de la agregación plaquetaria.
2. Reducción de la fibrinólisis.
3. Reclutamiento de células inflamatorias.
4. Inducción del remodelamiento vascular.
5. Transporte de OxPL

Actualmente la Lp(a) es considerada un factor de riesgo emergente para ECV³⁷. El riesgo está estrechamente relacionado con las propiedades y características de la Apo(a)⁹⁸. Sin embargo, en los individuos con concentraciones no detectables o muy

bajas de Lp(a) no se han observado deficiencias ni predisposiciones para padecer alguna enfermedad⁹⁹.

Isoformas de Apo(a) y concentración de Lp(a)

Una característica intrínseca de la Lp(a) es que, como en ninguna otra lipoproteína, su concentración en plasma y las características moleculares de la apo(a) están determinadas hasta en un 90% por variantes en gen *LPA*²², y su concentración es casi constante durante la vida de un sueto^{24,100}. Factores como edad, sexo, alimentación y hábitos no tienen efecto sobre su concentración¹⁰¹; por lo que se dice que están bajo control genético. El gen *LPA* se localiza en el mismo cluster del gen *PLG* en el brazo largo del cromosoma 6 en la región 6q.2.6-2.7³⁸. En la mayoría de los individuos se expresan los dos alelos para Apo(a), aunque no siempre en la misma proporción¹⁰². La peculiaridad del gen *LPA* son las múltiples copias del KIV y variaciones en su secuencia de aminoácidos. Se han descrito hasta 10 tipos diferentes: KIV₁-KIV₁₀. Cada repetición tiene 342 pares de bases de largo y codifica para 114 aa²⁷. El número de repeticiones de KIV está determinado genéticamente¹⁰², los sujetos heterocigotos expresan dos isoformas con número variable de KIV₂, desde 2 hasta más de 40³⁶, por lo que en el plasma se encontrarán dos partículas diferentes de Lp(a)¹⁰³. (Figura 11).

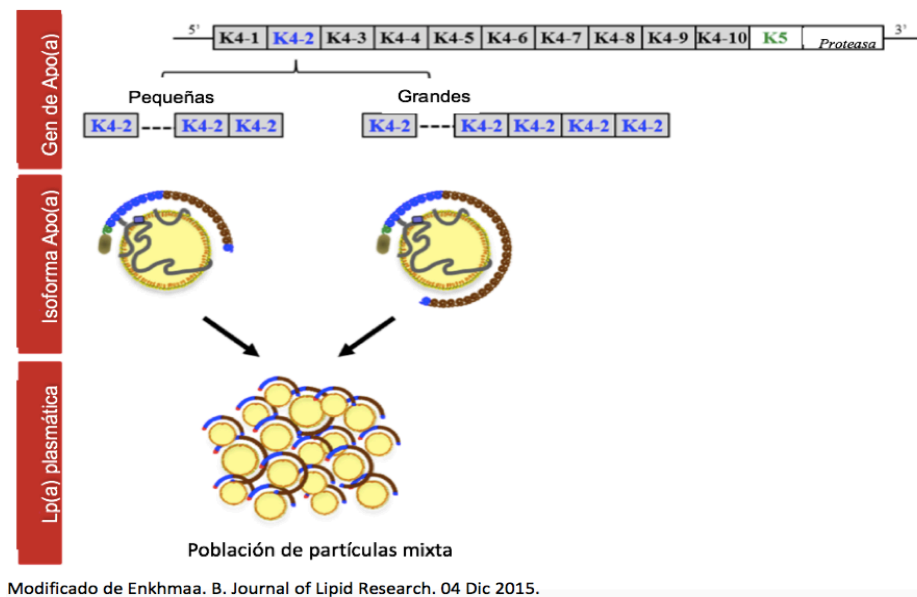


Figura 11. Isoformas de Apo(a) y Lp(a) plasmática.

Por otro lado, se ha sugerido que la variación en el locus del gen para *LPA*, controla el tamaño de la isoforma y consecuentemente las concentraciones de Lp(a) en plasma (Figura 12). El número de repeticiones del KIV de la Apo(a) se asocia inversamente con la concentración de la Lp(a) en plasma la cual puede variar de cifras indetectables hasta concentraciones de 200 mg/L.

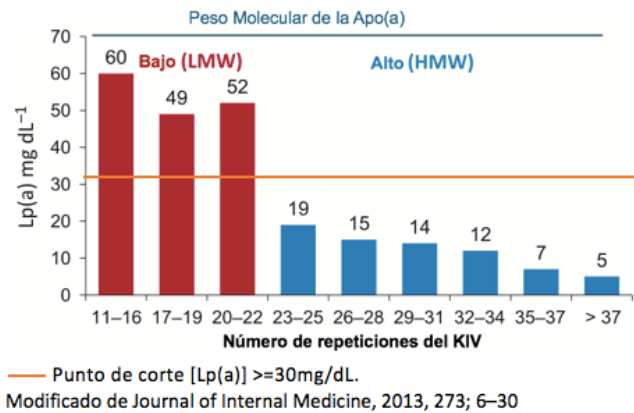


Figura 12. Relación entre el tamaño de isoforma de Apo(a) y la concentración de Lp(a).

La relación inversa entre el tamaño de apo(a) y la concentración de Lp(a) se debe a que los tamaños pequeños se sintetizan y secretan más eficientemente por los hepatocitos. Se ha observado que en ciertas enfermedades se altera la concentración de Lp(a), se incrementa en condiciones de inflamación crónica como artritis reumatoide, lupus sistémico eritematoso y SIDA, o que padecen falla crónica renal, trasplante de corazón e hipertensión arterial pulmonar. Por otro lado, enfermedades hepáticas y abuso en el uso de hormonas esteroideas disminuyen sus concentraciones²⁴.

Se ha reportado que polimorfismos en el gen *LPA* debidos a variaciones en un solo nucleótido (SNP) explican un poco más del 90% de las concentraciones de Lp(a)¹⁰⁴⁻¹⁰⁸, 69% se debe a variaciones en el número de KIV₂, 22% a variaciones en la secuencia de aminoácidos de los KIV, 1% a efectos de otros genes y 8% a otros factores no genéticos¹⁰⁹.

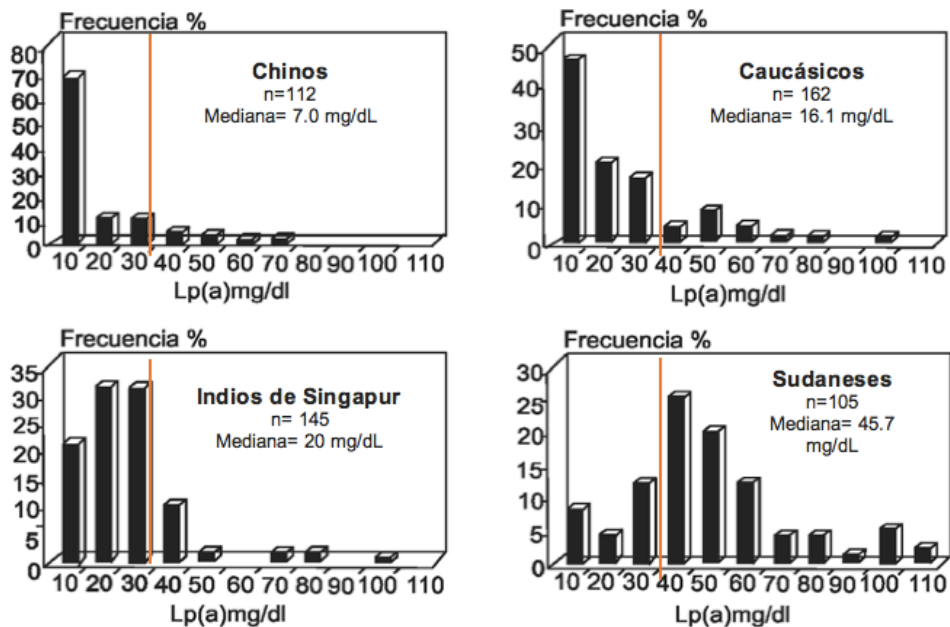
Diferencias étnicas en la concentración de Lp(a)

Los determinantes genéticos de las concentraciones de Lp(a) han sido investigados ampliamente en diferentes grupos étnicos. Se ha mencionado que las diferencias de concentración entre grupos se explican mediante: 1) la frecuencia alélica, 2) la región variable del número de copias (CNV) del KIV₂, 3) los polimorfismos en gen LPA¹¹⁰⁻¹¹³.

Dependiendo del grupo étnico, entre 30% y 70% de la variación en las concentraciones de Lp(a) se explica por el número de repeticiones del KIV₂¹¹¹. La variación entre las étnias muy posiblemente esté asociada con la compleja arquitectura genética entre CNV del KIV₂ y los SNPs en el gen LPA²².

Los niveles plasmáticos pueden diferir más de 1000 veces entre individuos de la mismo grupo étnico,²⁴ sin embargo, la distribución de las concentraciones de Lp(a) son muy variadas en entre una población y en la mayoría de los grupos étnicos está altamente sesgada hacia concentraciones bajas (< 30mg/dL)^{22,114} (Figura13).

En las poblaciones sub-saharianas y afroamericanas, la distribución de la Lp(a) tiende a la normalidad y las concentraciones son 2 o 3 veces más elevadas que las de poblaciones caucásicas u orientales¹¹⁴. Algunos grupos étnicos con ancestros africanos presentan concentraciones de Lp(a) hasta cuatro veces más altas que grupos con ancestros europeos²². Se ha sugerido que el grupo étnico es un factor que debe ser considerado para evaluar el riesgo cardiovascular asociado a Lp(a)¹¹⁵. Aproximadamente el 25% de la población tiene concentraciones mayores de 30 mg/dL y se asocian con riesgo de desarrollar aterosclerosis. Sin embargo, dada la variabilidad genética que existe entre poblaciones y los diferentes diseños de estudio, también se ha sugerido que en algunas poblaciones deberían usarse, como punto de corte, cifras mayores a 50 mg/dL^{23,95,116}.



— Punto de corte [Lp(a)] \geq 30 mg/dL.

Arteriosclerosis Vol 2 N° 4 Oct/1990, Pág. 157

Figura 13. Distribución de la concentración de Lp(a) en diferentes poblaciones.

Asociación de Lp(a) con EAC

Actualmente la Lp(a) es considerada un factor de riesgo para EAC determinado genéticamente²². Estudios clínicos de tipo transversal^{22,24,117} y prospectivos^{30,98,107,115,118,119} han confirmado la asociación entre las concentraciones elevadas de Lp(a) y el tamaño de Apo(a) con el riesgo de desarrollar una EAC, independiente de la presencia de otros factores de riesgo. Además la Lp(a) también se asocia con gran variedad de moléculas que participan en la aterogénesis, por ejemplo, citosinas inflamatorias, como TNF- α , TGF- β , IL-6 y MCP-1; por lo tanto, la participación de ésta podría ser multifacética^{64,120,121}.

Los SNPs del gen *LPA* como el CNV de KIV₂ han sido asociados particularmente con ciertas ECV, como la CVA¹¹⁵.

Asociación de Lp(a) con CVA

La asociación entre las concentraciones elevadas de Lp(a) y la calcificación valvular aortica se demostró hace más de 10 años¹²² y recientemente se informó que las concentraciones elevadas de esta lipoproteína se asocian con el resgo de presentar calcificación valvular aórtica³¹, sin embargo, las evidencias de que la concentración elevada de Lp(a) pueden ser una característica de los pacientes con calcificación valvular es escasa²⁵.

Dado que la Lp(a) está determinada genéticamente, diferentes estudios han investigado la asociación de los polimorfismos del gen *LPA* con las concentraciones de Lp(a) y el riesgo de CVA. Thanassoulis *et al.* identificó la variante rs10455872 en el locus *LPA* como susceptible para CVA¹²³. Esta asociación fue replicada en dos poblaciones, *Copenhagen City Heart Study* y *Malmö Diet and Cancer Study*. En otro estudio realizado por Dumitrescu *et al.*¹²⁴ se encontraron seis polimorfismos (rs1321195, rs1652507, rs6907156, rs7755463, rs7765803 y rs12194138) asociados con concentraciones de Lp(a) en población latinoamericana residente de Estados Unidos. (Tabla 2).

Tabla 2. Polimorfismos del gen *LPA*

SNP	ALELO ANCESTRAL	FRECUENCIA AA	ALELO DE RIEGO O MAF	FRECUENCIA AR O MAF	MUTACIÓN
rs10455872	A	0.9922	G	0.0078	Intrónica
rs6919346	C	0.8281	T	0.1719	Intrónica
rs6907156	T	0.9922	C	0.0078	Intrónica
rs1321195	G	0.9609	A	0.0391	Intrónica
rs12212507	G	0.9922	A	0.0078	Intrónica
rs7765803	C	0.2578	G	0.7422	Sin Sentido

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Aunque varios estudios han descrito asociación independiente y significativa de las concentraciones elevadas de Lp(a) con la presencia de CVA, existen claras diferencias entre los grupos étnicos. En población mexicana se han descrito las concentraciones de Lp(a)¹²⁵, las isoformas de apo(a)¹²⁶ y su asociación con la aterosclerosis en sujetos mexicanos con y sin EAC¹²⁷. Sin embargo, se desconoce si la Lp(a) en plasma y las variantes del gen *LPA* se asocian con el CVA.

JUSTIFICACIÓN

En población mexicana la prevalencia de CVA es de 20%, mayor a la de factores de riesgo de enfermedad coronaria como la hipertensión arterial y diabetes mellitus, pero, además, los sujetos con calcificación valvular presentan con mayor frecuencia factores de riesgo coronario como obesidad, tabaquismo, hipertensión, diabetes y dislipidemias¹²⁸.

Por lo anterior y debido a que se han informado diversos grados de asociación entre grupos étnicos, pero sobre todo a que los estudios de asociación del polimorfismo del gen *LPA* con el CVA realizados en grupos de México-americanos son inconsistentes, es importante conocer en nuestra población, el polimorfismo del gen *LPA* y su asociación con la CVA en población mexicana.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio es investigar la asociación de seis polimorfismos del gen *LPA* (rs10455872, rs7765803, rs6907156, rs1321195, rs12212507 y rs6919346) con la concentración de Lp(a) y el depósito de calcio valvular aórtico, en una muestra de adultos mestizo-mexicanos sin antecedentes personales ni familiares de EAC.

HIPÓTESIS

Como en población México-americana, los polimorfismos del gen *LPA*: rs10455872, rs7765803, rs6907156 y rs1321195 estarán asociados con las concentraciones elevadas de Lp(a) y con la calcificación valvular aórtica. Los polimorfismos rs12212507 y rs6919346 no estarán asociados con las concentraciones elevadas de Lp(a) ni con la calcificación valvular aórtica en sujetos mestizo-mexicanos sin antecedentes de EAC.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Estudio GEA

El estudio Genética de la Enfermedad Aterosclerosa (GEA) que se realiza Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” (INCICH), tiene como objetivo examinar las bases genéticas de la EAC y las relaciones entre los factores de riesgo, tradicionales y emergentes, con la aterosclerosis clínica y subclínica en población mexicana adulta. El estudio incluyó una selección de 1200 pacientes con EAC prematura (edad al diagnóstico: <55 años en hombres y <65 años en mujeres) y 1600 sujetos sin historia familiar o personal de EAC.

Los pacientes se seleccionaron de la consulta externa y del Departamento de Hemodinámica del INCICH, sin evento cardiovascular agudo, falla cardíaca congestiva o tratamiento con corticosteroides en los tres meses previos al estudio. Los participantes sin EAC fueron seleccionados de voluntarios que acuden con fines de donación al Banco de Sangre del INCICH o bien reclutados mediante invitación realizada a la población que acude a centros de servicio social. Los participantes con evidencia de enfermedad hepática, renal, oncológica o tiroidea no fueron incluidos.

En este trabajo en particular, se realizó un estudio de asociación genética para relacionar un marcador genético particular, los polimorfismos del gen *LPA*, con una enfermedad específica de la población, la presencia de CVA. Para realizar este estudio se consideraron cuatro componentes mayores: (I) la enfermedad o el rasgo a ser estudiado, (II) el grupo de individuos en el cual el rasgo o enfermedad va a ser medido, (III) los marcadores genéticos (SNPs) que serían genotipificados, y (IV) el método analítico para evaluar la asociación entre el genotipo y la presencia de CVA¹²⁹.

METODOLOGÍA

Población

Se incluyeron 1600 sujetos sin antecedentes familiares o personales de EAC, de ambos géneros (mujeres: n=812; hombres: n=788) con un rango de edad de 30 a 75 años, residentes de la Ciudad de México, sin relación familiar entre sí, mestizos mexicanos en al menos en tres generaciones previas al estudio.

A los participantes se les aplicaron cuestionarios validados y estandarizados para obtener información demográfica, nivel de escolaridad, antecedentes familiares y personales de riesgo cardiovascular, actividad física (cuestionario de Baecke), dieta, consumo de alcohol, tabaquismo y uso de medicamentos (Anexo I). El cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos, fue diseñado y validado por el Instituto Nacional de Salud Pública de México¹³⁰.

Consideraciones éticas

El estudio GEA fue aprobado por el Comité de Bioética del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” y realizado de acuerdo a los lineamientos de la Declaración de Helsinki. Todos los participantes firmaron un consentimiento informado (Anexo II).

Características antropométricas

El peso se midió en kilogramos (kg) y la talla en centímetros (cm), utilizando una báscula calibrada y un estadímetro de pared SECA 222 (Hamburgo, Alemania). El índice de masa corporal (IMC) fue calculado como $\text{peso}/\text{talla}^2$ (kg /m²). La circunferencia de cintura se midió con una cinta métrica de fibra de vidrio, en el punto medio de la distancia entre la parte inferior de la última costilla y la cresta iliaca con una aproximación de 0.5 cm. La tensión arterial sistólica y diastólica se midió en tres ocasiones, en posición sedente después de por lo menos 5 minutos de reposo, utilizando un esfigmomanómetro digital Welch Allyn, series 52000 (Shaneateies Falls, N.Y. EUA). El promedio de las dos últimas mediciones consecutivas se utilizó para el análisis.

Determinaciones bioquímicas

Con ayuno de 10 h a 12 h, después de 20 min en posición sedente, se recolectaron muestras de sangre venosa en tubos con y sin anticoagulante EDTA (1.8 mg/mL). Después de centrifugar a 4° C, el plasma y el suero se dividieron en 20 alícuotas para conservarlas a -70°C para su posterior análisis. El aislamiento de DNA se realizó por medio de extracción salina¹³¹ y se almacenó a -70°C hasta su uso. En el plasma se determinaron las concentraciones de glucosa, colesterol total (CT), triglicéridos (TG), colesterol HDL (C-HDL), apolipoproteína AI (Apo-AI) y Apolipoproteína B (Apo-B) con métodos enzimático-colorimétricos estandarizados (ver Anexo IV) en un autoanalizador Hitachi 902 (Hitachi LTD, Tokio Japan)¹³². El colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) se calculó usando la fórmula de Friedewald modificada por De Long (C-LDL = CT – (TG*0.16 + C-HDL))¹³³. La reproducibilidad y precisión de las determinaciones de los lípidos y lipoproteínas se evaluaron periódicamente por el Programa de Estandarización de Lípidos del Centro de Control y Prevención de Enfermedades (LSP-CDC, Atlanta, GA. EUA). Los coeficientes de variación intra e inter-ensayo fueron menores al 3%. La concentración de Lp(a) y PCR de alta sensibilidad se determinó mediante inmunonefelometría en un autoanalizador BN Prospec con los reactivos N Lp(a) y reactivos Cardiophase hsCRP (SIEMENS, Healthcare Diagnostics Products GmbH, Marburg, Alemania) de acuerdo con los procedimientos del fabricante (ver Anexo IV). Los coeficientes de variación intra e inter-ensayo fueron menores de 6%. La concentración de insulina en suero se determinó por radioinmunoanálisis (Human insulin RIA kit; Millipore, Cat. HI-14K, St. Charles, Missouri USA) (ver Anexo IV). Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron de 2.1% y 6.8%, respectivamente. La resistencia a la insulina se estimó con el uso del modelo de homeostasis: HOMA-IR= [(Insulina (μU/mL) * glucosa (mmoL/L)) /22.5)].¹³⁴ (Anexo III)

Genotipificación

Los polimorfismos de *LPA*: rs10455872, rs7765803, rs6907156, rs1321195, rs12212807 y rs6919346 fueron analizados usando ensayos para genotipificación TaqMan en un equipo para PCR en tiempo real (Fast RT-7900). Para cada polimorfismo se identificó el alelo de riesgo de EAC o la frecuencia del alelo menor

(MAF) y los sujetos portadores del alelo de riesgo se compararon con los homocigotos portadores del alelo silvestre.

Tomografía Axial Computarizada

La TAC con multidetector es un método validado para cuantificar la calcificación valvular aórtica y arterial coronaria¹⁹. En los participantes se evaluaron la calcificación arterial coronaria y la calcificación valvular aórtica expresada en Unidades Agatston (UA). Las mediciones se realizaron utilizando un tomógrafo helicoidal de 64 detectores (Somatom Sensation, Siemens, Malvern, PA, EE.UU.) con sincronización cardíaca mediante protocolo prospectivo con los siguientes parámetros: 120kV, 120 mA y grosor de corte de 3 mm, de acuerdo al método de Agatston¹³⁵. Este método correlaciona significativamente con la masa de calcio medida directamente en las válvulas^{136,137}. Las imágenes fueron interpretadas por radiólogos expertos. La variabilidad intra-observador para CVA se analizó en 20 casos tomados al azar, el coeficiente de correlación fue de 0.99 con $p < 0.001$.

Definición de las variables

El sobrepeso se definió como índice de masa corporal (IMC) de 25 a 29.9 Kg/m² y la obesidad como IMC ≥ 30 kg/m². Se consideró la existencia de obesidad abdominal cuando los valores de circunferencia de cintura fueron ≥ 80 cm en mujeres y ≥ 90 cm en hombres¹³⁸. Las dislipidemias se definieron de la siguiente manera: hipercolesterolemia: CT > 200 mg/dL o C-LDL ≥ 130 mg/dL, hipertrigliceridemia: TG ≥ 150 mg/dL, hipoalfalipoproteinemia: C-HDL < 40 mg/dL en hombres y < 50 mg/dL en mujeres, o cuando el voluntario se encontraba en tratamiento regulador de lípidos. La hipertensión arterial se definió con cifras de tensión arterial sistólica ≥ 140 mmHg o diastólica ≥ 90 mmHg y/o uso de medicamentos antihipertensivos. La glucosa en ayuno de 100 a 125 mg/dL se consideró como glucemia de ayuno alterada, mientras que los valores ≥ 126 mg/dL o el tratamiento con hipoglucemiantes se usaron para definir la presencia de diabetes mellitus.¹³⁹ El síndrome metabólico se definió con base en los criterios del NCEP-ATP III¹⁴⁰, excepto para la obesidad central¹³⁸.

La actividad física se cuantificó utilizando el cuestionario de Baecke¹⁴¹. La actividad total se obtuvo con la suma de los índices de actividad en el trabajo, durante el ejercicio y en el tiempo libre. Este cuestionario se ha validado en poblaciones de edad media y proporciona información confiable.

Para definir los puntos de corte de otros factores de riesgo cardiometabólico en la muestra estudiada, de la base de datos del estudio GEA se seleccionó una submuestra de individuos con las siguientes características: IMC <30, sin hipertensión arterial, hipertrigliceridemia, hipoalfalipoproteinemia y/o diabetes mellitus, resultando una muestra de 185 mujeres y 131 hombres. La percentila 75 (P_{75}) para los factores de riesgo en la submuestra fueron los siguientes: insulina: $\geq 15.20 \mu\text{U/mL}$ en hombres, y $\geq 16.97 \mu\text{U/mL}$ en mujeres y para HOMA-RI elevado: ≥ 3.38 en hombres, y ≥ 3.66 en mujeres.

Análisis estadístico

Las variables continuas con distribución normal se expresaron como media \pm DE, y las variables categóricas como mediana (rango intercuartil). La frecuencia alélica y genotípica del polimorfismo se obtuvo por conteo directo. Las variables con distribución normal se compararon con la t de Student y las variables con distribución asimétrica con la U de Mann-Whitney. La comparación entre grupos se realizó utilizando la prueba de Chi cuadrada para variables categóricas, la prueba de ANOVA para variables continuas y Kruskal Wallis para variables no paramétricas. La asociación entre las variables se estimó mediante correlación de Spearman. La independencia de las asociaciones se evaluó con análisis de regresión logística multivariada (razón de prevalencias OR) e intervalo de confianza al 95% (IC 95%). Los valores de $p < 0.05$ para dos vías se consideraron estadísticamente significativos. Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico SPSS v15.0 (SPSS Chicago, II).

RESULTADOS

De los 1600 sujetos estudiados, 50.3% fueron mujeres. De estos, se obtuvieron datos de CAC en 1563 sujetos, 26.9% de ellos presentaron depósito de calcio en las arterias coronarias y en 1270 se evaluó el CVA, 19.9% presentaron calcificación valvular. La concentración de Lp(a) se midió en 634 individuos de los cuáles 9.3% presentaron concentraciones elevadas (Gráfico 1).

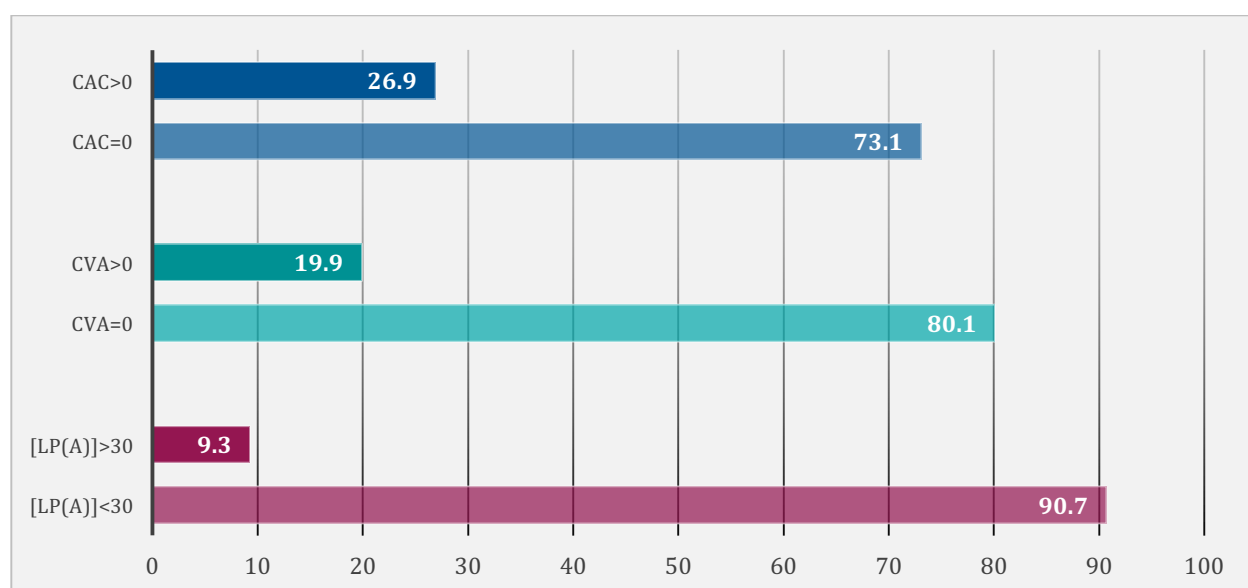


Gráfico 1. Frecuencia de aterosclerosis subclínica y concentración de Lp(a) elevada en sujetos sin EAC.

Se obtuvieron las prevalencias genotípicas para cada polimorfismo y se determinó que el alelo de menor frecuencia (MAF) sería considerado el alelo de riesgo, excepto para el polimorfismo rs7765803, ya que en la literatura está definido que el alelo de riesgo (AR) es el alelo rs7765803-G,^{142,143} es decir el alelo silvestre (AS) es el MAF (Gráfico 2). Se calculó el equilibrio de Hardy-Weinberg para cada polimorfismo y se compararon las frecuencias esperadas vs. las frecuencias observadas utilizando Chi-cuadrada (X^2). Los seis polimorfismos se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg, $p>0.05$.

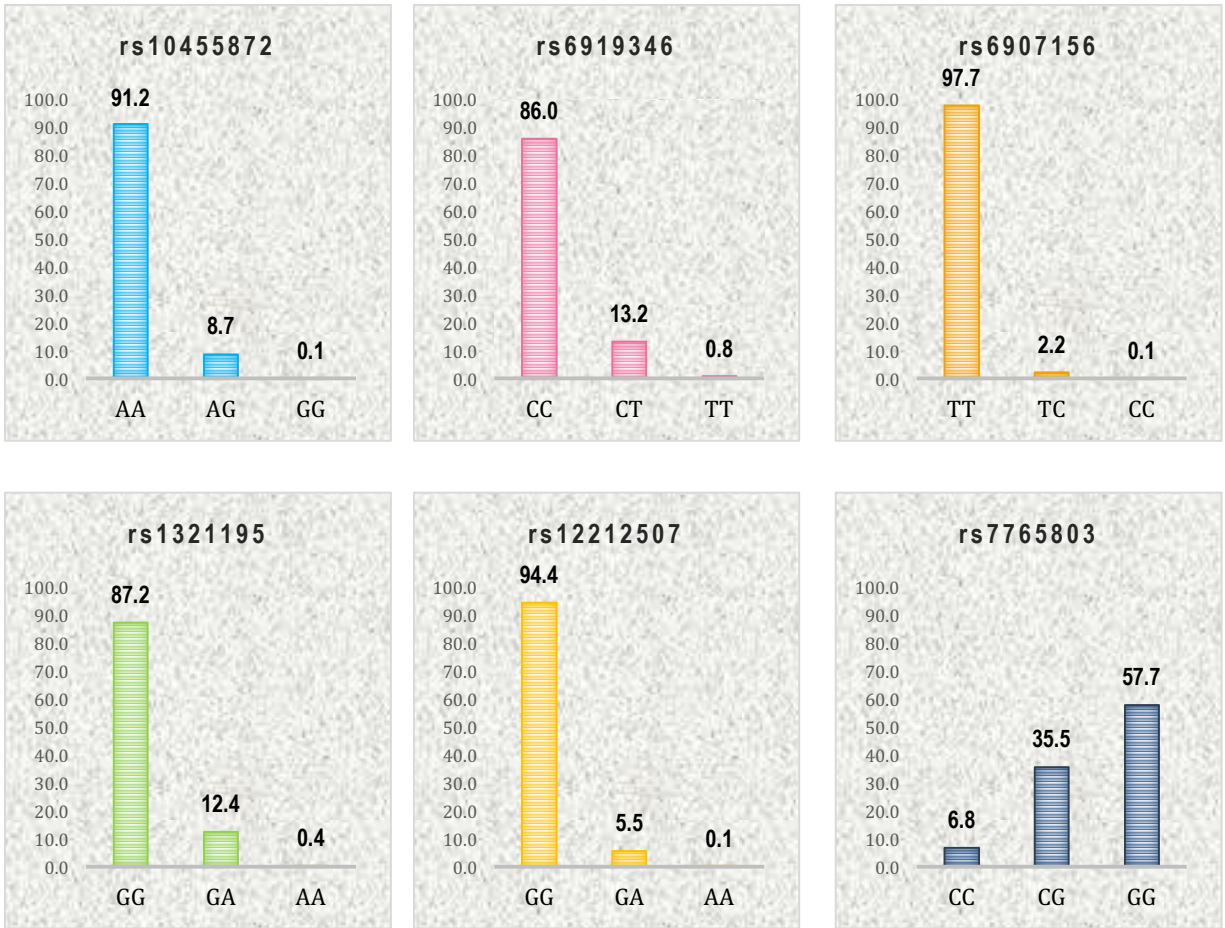


Gráfico 2. Prevalencia genotípica de los polimorfismos de LPA en sujetos sin EAC.

Debido a la baja prevalencia del homocigoto de riesgo en cinco polimorfismos: rs10455872 GG n=1, rs6919346 TT n=13, rs6907156 CC n=1, rs1321195 AA n=6 y rs12212507 AA n=1, en nuestra población de estudio, se decidió agrupar a los portadores del MAF (heterocigotos y homocigotos) y compararlos con los homocigotos del alelo silvestre, excepto para el polimorfismo rs7765803 para el cual se agruparon los portadores del AR. Las frecuencias del MAF para cada polimorfismo se muestran en el Gráfico 3.

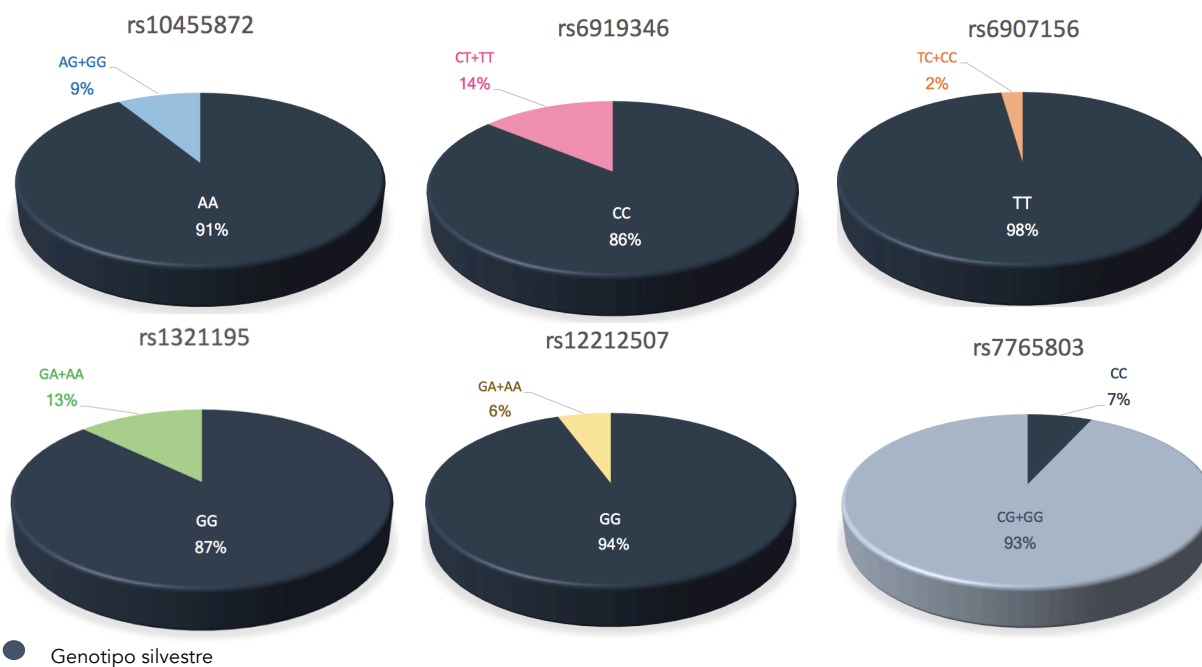


Gráfico 3. Frecuencias genotípicas agrupando portadores del MAF por polimorfismos de LPA en sujetos sin EAC.

En la Tabla 3 se muestran las características antropométricas y bioquímicas para cada polimorfismo estratificado por alelo silvestre y MAF. No se encontraron diferencias significativas en la edad, IMC, TAS, TAD, lípidos, lipoproteínas, Apos A y B, y glucosa para los polimorfismos rs6907156, rs1321195 y rs12212507.

La edad fue menor y las concentraciones de ApoA, Lp(a) y prevalencia CVA fueron significativamente mayores en los portadores del alelo rs10455872-G comparados con el alelo silvestre. El alelo rs6919346-T únicamente mostró concentraciones significativamente mayores para CT, y la variante rs7765803-C presentó diferencias significativas mayores en TAS, TAD, concentración de Lp(a) pero menores en la prevalencia de CAC.

Los sujetos con el alelo rs10455872-G tienen mayor concentración de Lp(a) que aquellos que tienen el alelo A ($p < 0.001$) y mayor prevalencia de CVA en los portadores del alelo de riesgo (19.0 vs. 29.4%, $p = 0.007$).

Los sujetos portadores del alelo rs7765803-G tienen 50% menos concentración de Lp(a) que aquellos que tienen el alelo C ($p = 0.015$).

Tabla 3. Características antropométricas y bioquímicas de los polimorfismos de LPA en sujetos sin EAC.

(n)	TODOS (1600)	rs10455872		p	rs6919346		p
		AA (1454)	AG+GG (140)		CC (1373)	CT+TT (224)	
Edad, años	53.26±9.35	53.41±9.25	51.66±10.37	0.034	53.18±9.35	53.75±9.46	0.398
IMC, kg/m ²	28.49±4.37	28.48±4.35	28.64±4.63	0.686	28.52±4.40	28.32±4.11	0.532
TAS, mmHg	117.27±17.53	117.28±17.59	116.88±16.80	0.792	117.35±17.73	117.02±16.26	0.796
TAD, mmHg	72.27±9.45	72.26±9.43	72.06±9.47	0.810	72.23±9.41	72.63±9.63	0.555
CT, mg/dL	192.95±37.53	192.67±37.66	195.09±34.86	0.466	192.18±37.52	197.61±37.21	0.045
TG, mg/dL	148.5 (112-204)	148.8(112.9-203.9)	146.5(99.7-207.8)	0.464	147.50(111.03-203.70)	157.10(112.60-205.30)	0.554
c-LDL, mg/dL	118.11±31.79	117.86±31.79	119.81±30.46	0.488	117.68±31.78	120.75±31.63	0.181
c-HDL, mg/dL	46.02±13.43	46.00±13.32	46.67±14.54	0.574	45.82±13.36	47.26±13.88	0.137
apoB, mg/dL	96.64±28.06	96.51±27.77	97.20±30.62	0.784	96.27±27.80	98.86±29.52	0.201
apoA, mg/dL	137.89±35.87	136.91±34.79	149.11±44.98	0.003	137.34±36.40	141.07±32.43	0.150
Glucosa, mg/dL	90.5 (84-99)	91.0(84.0-99.0)	88.5(82.0-98.0)	0.071	90.0(84.0-99.0)	91.0(84.0-99.0)	0.632
Lp(a), mg/dL	5.08 (2.4-11.8)	4.70(2.34-10.18)	11.8(3.36-28.50)	<0.001	5.23(2.34-11.70)	3.96(2.34-13.20)	0.455
Lp(a)≥30, (%)	9.3	8.3	22.9	<0.001	10.8	7.1	0.510
CAC>0, UA (%)	26.9	26.8	29.2	0.539	26.9	26.7	0.761
CVA>0, UA (%)	19.9	19.0	29.4	0.007	19.5	21.8	0.104

(n)	TODOS (1600)	rs6907156		p	rs1321195		p
		TT (1558)	TC+CC (36)		GG (1390)	GA+AA (204)	
Edad, años	53.26±9.35	53.28±9.34	52.25±10.45	0.513	53.16±9.31	53.95±9.73	0.262
IMC, kg/m ²	28.49±4.37	28.48±4.37	29.98±4.62	0.507	28.57±4.36	27.95±4.47	0.059
TAS, mmHg	117.27±17.53	117.20±17.52	119.33±17.44	0.477	117.33±17.53	116.69±17.42	0.625
TAD, mmHg	72.27±9.45	72.21±9.45	73.93±8.87	0.287	72.33±9.48	71.71±9.11	0.382
CT, mg/dL	192.95±37.53	192.92±37.46	191.38±36.02	0.807	192.82±37.62	193.29±36.15	0.811
TG, mg/dL	148.5 (112-204)	148.60(112.00-203.98)	139.75(107.90-204.13)	0.629	149.00(112.00-204.73)	146.30(108.23-194.93)	0.312
c-LDL, mg/dL	118.11±31.79	118.11±31.66	114.75±32.44	0.530	117.96±37.62	118.53±31.07	0.811
c-HDL, mg/dL	46.02±13.43	46.05±13.50	46.60±10.31	0.811	46.07±13.24	46.00±14.72	0.946
apoB, mg/dL	96.64±28.06	96.64±28.03	93.42±27.62	0.495	96.45±28.00	97.38±28.19	0.661
apoA, mg/dL	137.89±35.87	137.88±36.14	141.19±25.07	0.585	138.46±36.21	134.48±33.81	0.143
Glucosa, mg/dL	90.5 (84-99)	90.0(84.0-99.0)	92.0(85.0-104.5)	0.511	90.5(84.0-99.0)	90.0(85.0-99.0)	0.907
Lp(a), mg/dL	5.08 (2.4-11.8)	5.10(2.34-11.48)	19.60(2.34-27.60)	0.128	5.08(2.34-11.80)	4.87(2.34-11.83)	0.820
Lp(a)≥30, (%)	9.3	10.2	12.5	0.833	10.4	9.5	0.811
CAC>0, UA (%)	26.9	26.9	30.6	0.755	26.7	29.1	0.472
CVA>0, UA (%)	19.9	19.7	29.4	0.203	20.1	19.4	0.835

(n)	TODOS (1600)	rs12212507		p	rs7765803		p
		GG (1505)	GA+AA (89)		CC (108)	CG+GG (1486)	
Edad, años	53.26±9.35	53.32±9.35	52.30±9.50	0.302	53.31±9.44	53.26±9.36	0.957
IMC, kg/m ²	28.49±4.37	28.55±4.37	27.68±4.36	0.060	28.45±4.42	28.50±4.37	0.906
TAS, mmHg	117.27±17.53	117.35±17.55	115.72±16.89	0.378	121.64±21.96	116.93±17.11	0.007
TAD, mmHg	72.27±9.45	72.30±9.36	71.47±10.55	0.404	74.77±10.60	72.07±9.32	0.004
CT, mg/dL	192.95±37.53	193.17±37.50	188.40±36.09	0.226	192.05±36.40	192.94±37.51	0.811
TG, mg/dL*	148.5 (112-204)	149.20(112.93-203.85)	134.30(95.75-209.75)	0.113	144.60(100.55-198.78)	148.75(112.00-204.00)	0.323
c-LDL, mg/dL	118.11±31.79	118.31±31.75	113.60±30.13	0.160	118.47±31.59	118.00±31.69	0.882
c-HDL, mg/dL	46.02±13.43	45.96±13.39	47.65±14.00	0.232	46.44±13.43	46.04±13.44	0.762
apoB, mg/dL	96.64±28.06	96.88±28.09	91.79±26.60	0.086	96.58±27.94	96.57±28.03	0.995
apoA, mg/dL	137.89±35.87	138.06±36.18	136.25±31.76	0.634	136.37±33.13	138.07±36.13	0.636
Glucosa, mg/dL*	90.5 (84-99)	91.0(84.0-99.0)	90.0(82.3-97.0)	0.308	91.0(85.3-101.8)	90.0(84.0-99.0)	0.305
Lp(a), mg/dL*	5.08 (2.4-11.8)	5.09(2.34-11.88)	4.71(2.34-10.95)	0.590	8.91(3.39-23.95)	4.90(2.34-11.20)	0.015
Lp(a)≥30, (%)	9.3	9.8	15.6	0.224	9.6	20.5	0.029
CAC>0, UA (%)	26.9	27.5	19.0	0.069	36.5	26.3	0.022
CVA>0, UA (%)	19.9	20.2	17.1	0.493	22.1	19.9	0.615

Los datos expresan el promedio±DS o la mediana (rango intercuartil).

Valor de p calculado con ANOVA, *Análisis H de Kruskal-Wallis.

IMC- índice de masa corporal, TAS- tensión arterial sistólica, TAD- tensión arterial diastólica, CT- colesterol total, TG- triglicéridos, c-LDL- colesterol de baja densidad, c-HDL- colesterol de alta densidad, ApoB- apoproteína B, ApoA- apoproteína A, HOMA-IR- modelo homeostático de resistencia a la insulina, PCR- proteína C reactiva, Lp(a)- lipoproteína (a), Log Lp(a)- logaritmo de lipoproteína (a), CAC- calcio arterial coronario, Ln CAC- logaritmo natural de calcio arteria coronario, CVA- calcio valvular aórtico. UA: Unidades Agatston.

Únicamente el polimorfismo rs10455872 se asoció significativamente con CVA por lo que se realizó una regresión logística multivariada para determinar la independencia de la relación entre el alelo rs10455872-G de la *LPA* con la concentración plasmática de la Lp(a) y el CVA (Tabla 4). Un análisis similar se realizó para conocer la asociación del alelo rs7765803-G de la *LPA* con la concentración plasmática de la Lp(a) y el CAC (Tabla 5).

La asociación entre la variante rs10455872-G de la *LPA* y la concentración de Lp(a) elevada (>30mg/dL) es significativa e independiente de otros factores de riesgo coronario. Los portadores del AR tienen mayor riesgo de presentar Lp(a) elevada (Modelo 3: OR:3.68 (IC 95% 2.08-6.52), $p < 0.001$) (Tabla 4).

Los portadores de alelo rs10455872-G se asociaron significativa e independiente de otros factores de riesgo, con la Lp(a) elevada y la presencia de CVA (Modelo 3: OR:2.54 (IC 95% 1.56-4.14), $p < 0.001$). No se encontró una asociación independiente ni significativa de esta variante con el CAC (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis de regresión multivariado entre el polimorfismo rs10455872 de *LPA* con Lp(a) > 30 mg/dl, CAV >0 UA y CAC > 0 UA en población mexicana sin EAC.

rs10455872			
N= 1265	OR	IC (95%)	Valor de <i>p</i>
<u>Lp(a) > 30 mg/dL*</u>			
Modelo 1	3.89	2.24-6.76	<0.001
Modelo 2	3.61	2.06-6.34	<0.001
Modelo 3	3.68	2.08-6.52	<0.001
<u>CVA > 0 UA*</u>			
Modelo 1	1.77	1.16-2.70	0.008
Modelo 2	2.45	1.54-3.91	<0.001
Modelo 3	2.54	1.56-4.14	<0.001
<u>CAC > 0 UA</u>			
Modelo 1	1.06	0.69-1.62	0.777
Modelo 2	1.53	0.87-2.31	0.153
Modelo 3	1.44	0.87-2.38	0.154

Modelo 1: No Ajustado.

Modelo 2: Ajustado por género y edad.

Modelo 3: Ajustado por género, edad, IMC, triglicéridos, C-LDL, DM, hipertensión arterial y Tabaquismo.

*Para Lp(a) ≥ 30 mg/dL y presencia de calcio valvular aórtico también se ajustó por calcio coronario mayor de cero.

La asociación entre el alelo rs7765803-C de gen *LPA* y la concentración de Lp(a) elevada es inversa, significativa e independiente de otros factores de riesgo para la enfermedad coronaria. El riesgo de Lp(a) elevada en los portadores de este alelo

disminuye 0.6 veces si se compara con los del alelo silvestre. (Modelo 3: OR: 0.393 (IC 95% 0.167-0.925), $p=0.033$) (Tabla 5). Este polimorfismo no se asoció con la presencia de CVA, sin embargo, se encontró una asociación inversa, significativa e independiente de otros factores de riesgo con el CAC. Los individuos portadores del alelo rs7765803-C de gen *LPA* tuvieron 0.40 veces menos riesgo de presentar calcificación en las arterias coronarias (Modelo 3: OR: 0.593 (IC 95% 0.367-0.936), $p<0.035$) (Tabla 5).

Tabla 5. Análisis de regresión multivariado entre el polimorfismo rs7765803 de *LPA* con Lp(a) > 30 mg/dl, CAV >0 UA y CAC > 0 UA en población mexicana sin EAC.

rs7765803			
N= 1265	OR	IC (95%)	Valor de <i>p</i>
<u>Lp(a) > 30 mg/dL*</u>			
Modelo 1	0.411	0.180-0.936	0.034
Modelo 2	0.397	0.172-0.914	0.030
Modelo 3	0.393	0.167-0.925	0.033
<u>CVA > 0 UA*</u>			
Modelo 1	0.873	0.514-1.482	0.615
Modelo 2	0.957	0.544-1.686	0.880
Modelo 3	0.997	0.551-1.804	0.997
<u>CAC > 0 UA</u>			
Modelo 1	0.621	0.412-0.937	0.023
Modelo 2	0.619	0.387-0.990	0.045
Modelo 3	0.595	0.367-0.936	0.035

Modelo 1: No Ajustado.

Modelo 2: Ajustado por género y edad.

Modelo 3: Ajustado por género, edad, IMC, triglicéridos, C-LDL, DM, hipertensión arterial y Tabaquismo.

*Para Lp(a) ≥ 30 mg/dL y presencia de calcio valvular aórtico también se ajustó por calcio coronario mayor de cero.

DISCUSIÓN

Hasta donde sabemos, este es el primer estudio en el que se analiza simultáneamente, en población mestiza-mexicana, la relación de los polimorfismos del gen *LPA* con la concentración de Lp(a), el CAC y la CVA. Debido a que la frecuencia y asociación de los polimorfismos de este gen en esta población se desconocen, los 6 polimorfismos analizados en este estudio fueron seleccionados con base en su relación con la concentración de Lp(a) y la EAC obtenida en población mexico-americana¹²⁴. De los 6 polimorfismos estudiados, los portadores de la variante rs10455872-G se caracterizaron por tener mayor concentración de Lp(a) ($p < 0.001$) y presencia de CVA ($p < 0.001$) y los portadores de la variante rs7765803-G del gen *LPA* tuvieron menor concentración de Lp(a) ($p = 0.033$) y menor frecuencia de CAC ($p = 0.035$).

Los portadores del alelo rs10455872-G de *LPA* tuvieron 3.7 veces más riesgo de Lp(a) ≥ 30 mg/dL y 2.5 veces más riesgo de presentar CVA, independientemente de otros factores de riesgo cardiometabólico. Nuestros resultados confirman lo informado previamente en otros grupos étnicos tanto en población general como en pacientes con EAC^{144,145}, aunque en algunos estudios la asociación no siempre ha sido significativa²⁰. Sin embargo, diversos estudios prospectivos han demostrado que el alelo rs10455872-G del gen *LPA* se asocia con incidencia de estenosis aórtica y remplazo valvular¹⁴⁵, con concentraciones elevadas de Lp(a) y mayor riesgo de estenosis aórtica¹⁴⁶ y en otro estudio de casos y controles, los pacientes portadores del alelo rs10455872-G tuvieron concentraciones de Lp(a) elevadas y mayor riesgo de presentar CVA sugiriendo una posible asociación causal²⁵.

Los estudios epidemiológicos de Lp(a) realizados en población mexico-americana en diferentes áreas de los EUA son escasos y los resultados contradictorios, ya que algunos informan concentraciones bajas¹⁴⁷ y otros cifras elevadas de Lp(a)¹⁴⁸. Recientemente se informó que en población hispana no existe asociación de la Lp(a) con el CVA²³ y los autores sugieren que en latinos la relación entre el polimorfismo del gen *LPA* y el CVA no está mediado por la concentración elevada de Lp(a). Los resultados obtenidos en nuestro estudio difieren con los reportados dado que los diseños de estudio y criterios de selección son diferentes. Estos estudios son

realizados en población mexico-americana que proviene de zonas específicas de la República Mexicana, siendo una muestra no representativa. Además, el número de muestras que reportan son muy pequeñas.

En una cohorte del estudio PROCARDIS en Europa occidental, integrada por sujetos sanos y pacientes, se reportó una asociación significativa del alelo rs7765803-G del gen *LPA* con EAC y concentraciones elevadas de Lp(a), y fue considerado como alelo de riesgo aunque fue el de mayor frecuencia alélica (60%)¹⁰⁷. De igual manera, en voluntarios del estudio NHANES III (*Third National Health and Nutrition Examination Survey*) se encontró una asociación significativa del alelo rs7765803-G de *LPA* con concentraciones elevadas de Lp(a) en población mexico-americana¹²⁴. En otras poblaciones (afroamericanos: 60%, chinos y europeos: ~30%) y en mexico-americanos (70%) la frecuencia alélica de la variante rs7765803-G del gen *LPA* también es elevada, aunque ligeramente menor que la que encontramos en nuestro estudio en población mestiza-mexicana (76%).

Cabe destacar que en mestizos-mexicanos los portadores del alelo rs7765803-G del gen *LPA* tuvieron concentraciones menores de Lp(a) comparados con los homocigotos del alelo rs7765803-C, de hecho, la prevalencia de Lp(a) > 30 mg/dL es significativamente menor en los portadores de la variante rs7765803-G (20.5% vs. 9.6%, $p=0.029$). Estos datos concuerdan con un estudio realizado en una cohorte del estudio SHARE (*Study of Health Assessment and Risk in Ethnic Groups*) donde se encontró una asociación significativa de esta variante con concentraciones menores de Lp(a) en población china, surasiática y europea caucásica¹⁴⁹.

En nuestra población de estudio el alelo *LPA* rs7765803-G no se asoció con CVA, sin embargo, encontramos una asociación significativa e independiente de otros factores de riesgo con CAC. Además, la asociación muestra que en sujetos que portan esta variante tienen una menor prevalencia de CAC>0 UA (36.5% vs. 26.3%, $p=0.022$). Se requieren más estudios para confirmar si este polimorfismo se asocia con concentraciones bajas de Lp(a) y con la presencia de CAC ya que los resultados son controversiales.

Respecto a los otros polimorfismos estudiados, las variantes rs6919346-T y rs12212507-A de gen *LPA* no se asociaron significativamente con la concentración de Lp(a) ni con los depósitos de calcio coronario. Resultados similares han sido informados en población mexico-americana¹²⁴. Nuestro estudio en población mestiza mexicana corrobora los datos informados para estas variantes del gen *LPA*.

En relación a las variantes rs6907156-C y rs1321195-A del gen *LPA* y de acuerdo con lo informado previamente en otros estudios realizados en mexico-americanos, se esperaba encontrar asociación significativa e independiente con las concentraciones de Lp(a). La variante rs6907156-C se ha asociado significativamente con Lp(a) y EAC en población mexico-americana¹²⁴. Por otro lado la variante rs1321195-A se asocia con mayor concentración de Lp(a) en México-americanos, afroamericanos y caucásicos^{107,124}. Sin embargo, en ésta muestra de mestizos-mexicanos no se encontró asociación significativa de estos polimorfismos con la Lp(a) ni con el CAC. La discrepancia de los resultados obtenidos pudiera deberse al diseño de los estudios, diferencias en los criterios de selección de los sujetos, o al número de sujetos analizados, pero también pudieran explicarse por diferencias en la distribución de los polimorfismos del gen *LPA* entre los diversos estudios.

Nuestros datos muestran que el alelo rs10455872-G del gen *LPA* se asocia con cifras elevadas de Lp(a) y con CVA de manera significativa e independiente de otros factores de riesgo coronario. Además, se demuestra por primera vez que en población mexicana aparentemente sana la frecuencia del alelo *LPA* rs10455872-G es de 9%, mayor a la informado en pacientes brasileños con EAC (6.5%) y por debajo de lo informado en población blanca de los EUA (11%)¹⁰⁸ y que los portadores de esta variante alélica en nuestra población tienen hasta 3.7 y 2.5 veces más riesgo de presentar Lp(a) elevada y CVA.

En nuestra población, aparentemente sana, observamos que 25% presentan CAC y 20% CVA. Si extrapolamos este dato, quiere decir que hipotéticamente una de cada cuatro personas en la población general tiene algún depósito de calcio en las arterias coronarias y una de cada cinco tiene calcio valvular aórtico. Estos datos destacan la importancia de identificar bio-marcadores específicos, por ejemplo, el alelo

rs10455872-G de LPA que permitan al clínico intervenir de manera oportuna y precisa en el control o disminución de los factores de riesgo de EAC y evitar o retardar la morbi mortalidad de la enfermedad.

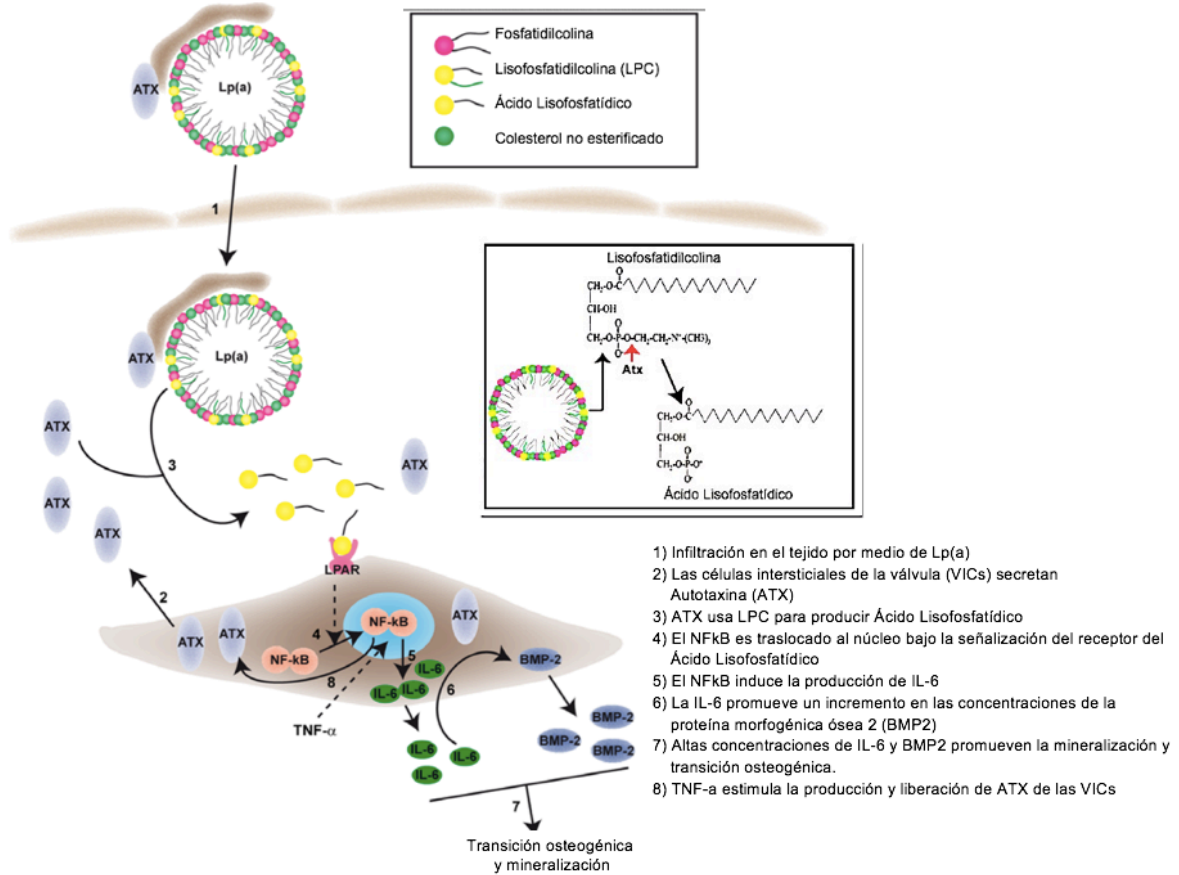
Aún no se conocen los mecanismos mediante los cuales la válvula aórtica se mineraliza. Recientemente se ha descrito que la Lp(a) pudiera participar en la calcificación valvular ya que transporta OxPL, particularmente Lp(a) con isoformas pequeñas de Apo(a) asociadas a concentraciones plasmáticas elevadas⁹⁴. La fosfolipasa A2 asociada a lipoproteínas (Lp-PLA2) hidroliza los OxPL generando ácidos grasos libres oxidados y lisofosfatidilcolina (LPC), un metabolito altamente reactivo con propiedades proinflamatorias y osteogénicas; ambos productos de la hidrólisis se han encontrado elevados en las válvulas aórticas mineralizadas¹⁵⁰.

Otro posible mecanismo de mineralización aórtica está relacionado con la autotaxina, una proteína con actividad de fosfolipasa D secretada por varias células, incluyendo las células intersticiales de la válvula aórtica y que es transportada unida a la Lp(a) en el plasma. La autotaxina utiliza como sustrato la LPC generando ácido fosfatídico el cual promueve el depósito de hidroxiapatita de calcio en la válvula aórtica¹⁵¹ (Figura 14).

Investigaciones más recientes han revelado que la infiltración lipídica, la inflamación y la osteogénesis son mecanismos patogénicos con importante participación en el proceso de calcificación valvular^{152,153}. En conjunto, los resultados de estas investigaciones apoyan el concepto de que la enfermedad valvular aórtica se desarrolla mediante un proceso similar al de la aterosclerosis coronaria¹⁸.

En este estudio sugerimos que los alelos *LPA* rs10455872-G y rs7765803-G pudieran utilizarse como bio-marcadores específicos asociados a las concentraciones de Lp(a) y modular el desarrollo de aterosclerosis subclínica evaluada por la presencia de CAC o CVA.

Sin embargo, son necesarios estudios prospectivos para demostrarla relación causa efecto y su utilidad.



Modificado de *Circulation*. 2015; 132:677-690. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.115.016757

Figura 14. Mecanismo mediante el cual la Lp(a) participa en la mineralización de la válvula aórtica.

Fortalezas y limitaciones del estudio

El presente estudio tiene la fortaleza de incluir una muestra grande de población mestiza-mexicana sin antecedentes personales ni familiares de EAC que pudiera sesgar los efectos de los polimorfismos del gen *LPA*, las prevalencias de Lp(a) elevada o la presencia de aterosclerosis subclínica.

Se ha sugerido que el uso de inmuno-métodos para la determinación de Lp(a) pudiera no ser sensible a los diferentes tamaños de Apo(a), sin embargo, la concentración de Lp(a) se determinó con anticuerpos policlonales que permiten la identificación de isoformas pequeñas y grandes de Apo(a) con la misma sensibilidad y

especificidad, por lo que con este método se reduce la imprecisión en las determinaciones debido al tamaño de la Apo(a) en la lipoproteína^{154,155}.

Es el primer estudio en analizar simultáneamente los polimorfismos de gen *LPA*, la concentración de Lp(a) y el depósito de CAC y CVA en población mestizo-mexicana

Como en todos los estudios el nuestro también tiene algunas limitaciones: es un estudio de tipo transversal por lo que no permite establecer relaciones de causalidad. La muestra de estudio está conformada por voluntarios procedentes de una zona urbana, podría no ser representativa de la población general y existir sesgo de selección. Sin embargo, la prevalencia de algunos factores de riesgo cardiovascular como obesidad, hipertensión arterial, diabetes mellitus y dislipidemias son muy similares a la informada en la ENSANUT, un estudio aleatorizado y representativo de población mexicana realizado por el Instituto Nacional de Salud Pública¹⁵⁶.

CONCLUSIONES

En este estudio se demostró que en población mestiza-mexicana la prevalencia de Lp(a) elevada (>30mg/dL) es de 9.3%, la aterosclerosis subclínica evaluada por el depósito de CAC es de 26.9% y la CVA de 19.9%. Al comparar nuestros datos con otros resultados en mexico-americanos y otros grupos étnicos, existen diferencias significativas en la frecuencia de algunas variantes del gen *LPA* y la variante alélica rs10455872-G del gen *LPA* en población mestiza-mexicana sí se asocia con la concentración elevada de Lp(a) y con el CVA independientemente de otros factores de riesgo. Además, un resultado que no se ha informado en población mexico-americana, y que es controversial en otros grupos étnicos es que la variante rs7765803-G del gen *LPA* se asocia con la concentración de Lp(a) y la presencia de CAC.

Estudios a futuro son necesarios para identificar, en nuestra población, otros polimorfismos del gen *LPA* que puedan usarse como biomarcadores específicos de la EAC y establecer estrategias de prevención primaria y secundaria basadas en esta información.

REFERENCIAS

1. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/ 22oct2016.
2. Aterosclerosis subclínica: definición, importancia pronóstica y detección imaginológica
Subclinical atherosclerosis: Definition, prognostic significance and imaginologic detection. *Av Cardiol.* 2014;34(Supl 2):S36-S43. Capítulo 3.
3. Insull W. The Pathology of Atherosclerosis: Plaque Development and Plaque Responses to Medical Treatment. *Am J Med.* 2009;122(1 SUPPL):S3-S14. doi:10.1016/j.amjmed.2008.10.013.
4. Robles JN. Problemática de la aterosclerosis en México. *Rev Mex Cardiol.* 1999;10(2):59-63.
5. Hackman DG, Anand SS. Emerging Risk Factors for Atherosclerosis Vascular Disease. A Critical Review of the Evidence. *JAMA.* 2003;290(7):932-940. doi:10.1001/jama.290.7.932.
6. Toth PP. Subclinical atherosclerosis: What it is, what it means and what we can do about it. *Int J Clin Pract.* 2008;62(8):1246-1254. doi:10.1111/j.1742-1241.2008.01804.x.
7. Shattock S. A report upon the Pathological Condition of the Aorta of King Aienephtah, traditionally regarded as the Pharaoh of the Exodus. *Pathol Sect.* 1908:122-127. doi:10.1177/003591570900201110.
8. Yu XH, Fu YC, Zhang DW, Yin K, Tang CK. Foam cells in atherosclerosis. *Clin Chim Acta.* 2013;424:245-252. doi:10.1016/j.cca.2013.06.006.
9. Rajamannan NM, Evans FJ, Aikawa E, et al. Calcific aortic valve disease: Not simply a degenerative process: A review and agenda for research from the national heart and lung and blood institute aortic stenosis working group. *Circulation.* 2011;124(16):1783-1791. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.110.006767.
10. Thanassoulis G, Massaro JM, Cury R, et al. Associations of Long-Term and Early Adult Atherosclerosis Risk Factors With Aortic and Mitral Valve Calcium. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55(22):2491-2498. doi:10.1016/j.jacc.2010.03.019.
11. Evrard S, Delanaye P, Kamel S, et al. Vascular calcification: From pathophysiology to biomarkers. *Clin Chim Acta.* 2014;438:401-414. doi:10.1016/j.cca.2014.08.034.
12. Wang AY-M, Ho SS-Y, Wang M, et al. Cardiac valvular calcification as a marker of

- atherosclerosis and arterial calcification in end-stage renal disease. *Arch Intern Med.* 2005;165(3):327-332. doi:10.1001/archinte.165.3.327.
13. J S, JM H, MS W. Calcific and degenerative heart valve disease. In: *Cellular and Molecular Pathobiology of Cardiovascular Disease.* ; 2014:161-181.
 14. Thaden JJ, Nkomo VT, Enriquez-Sarano M. The Global Burden of Aortic Stenosis. *Prog Cardiovasc Dis.* 2014;56(6):565-571. doi:10.1016/j.pcad.2014.02.006.
 15. Otto C, Kuusisto J, Reichenbach D, Gown A, O'Brien K. Characterization of the early lesion of "degenerative" valvular aortic stenosis. Histological and immunohistochemical studies. *Circulation.* 1994;90(2):844-853.
 16. Watson KE, Boström K, Ravindranath R, Lam T, Norton B, Demer LL. TGF-beta1 and 25-hydroxycholesterol stimulate osteoblast-like vascular cells to calcify. *J Clin Invest.* 1994;93(5):2106-2113. doi:10.1172/JCI117205.
 17. Nightingale AK, Horowitz JD. Aortic sclerosis: not an innocent murmur but a marker of increased cardiovascular risk. *Heart.* 2005;91(11):1389-1393. doi:10.1136/hrt.2004.057117.
 18. Miller JD, Weiss RM, Heistad DD. Calcific aortic valve stenosis: Methods, models, and mechanisms. *Circ Res.* 2011;108(11):1392-1412. doi:10.1161/CIRCRESAHA.110.234138.
 19. Laissy J-P, Messika-Zeitoun D, Cueff C, Pasi N, Serfaty J-M, Vahanian A. Aortic valve calcification using multislice CT. *Imaging Med.* 2011;3(3):313-320. <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-79959499341&partnerID=40&md5=e2095e38ebe7d0b0895b92f7641f7617>.
 20. Stewart BF, Siscovick D, Lind BK, et al. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol.* 1997;29(3):630-634. doi:10.1016/S0735-1097(96)00563-3.
 21. Kronenberg F. Human Genetics and the Causal Role of Lipoprotein(a) for Various Diseases. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2016;30(1):87-100. doi:10.1007/s10557-016-6648-3.
 22. Kronenberg F, Utermann G. Lipoprotein(a): Resurrected by genetics. *J Intern Med.* 2013;273(1):6-30. doi:10.1111/j.1365-2796.2012.02592.x.
 23. Cao J, Steffen BT, Budoff M, et al. Lipoprotein(a) levels are associated with subclinical calcific aortic valve disease in white and black individuals: The multi-ethnic study of

- atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2016;36(5):1003-1009. doi:10.1161/ATVBAHA.115.306683.
24. Maranhão RC, Carvalho PO, Strunz CC, Pileggi F. Lipoprotein (a): Structure, Pathophysiology and Clinical Implications. *Arq Bras Cardiol.* 2014;103(1):76-84. doi:10.5935/abc.20140101.
 25. Arsenault BJ, Boekholdt SM, Dubé MP, et al. Lipoprotein(a) levels, genotype, and incident aortic valve stenosis a prospective mendelian randomization study and replication in a case-control cohort. *Circ Cardiovasc Genet.* 2014;7(3):304-310. doi:10.1161/CIRCGENETICS.113.000400.
 26. Berg K. A new serum type system in man: the Lp system. *Acta Pathol Microb Scand.* 1963;59:369-382.
 27. Hsieh Wu J. Lipoprotein(a) in vascular disease, cancer and longevity. *Chang Gung Med J.* 2011;34:555-564. doi:3406/340601 [pii].
 28. Tselmin S, Muller G, Gelgaft E, Fischer S, Julius U. An elevated lipoprotein(a) plasma level as a cardiovascular risk factor. *Atheroscler Suppl.* 2015;18:257-262. doi:10.1016/j.atherosclerosissup.2015.02.038.
 29. Srivastava AMLM. Lipoprotein (a): a Unique Independent Risk Factor for Coronary Artery Disease. *J Clin Biochem.* 2015. doi:10.1007/s12291-015-0483-3.
 30. Kamstrup PR, Nordestgaard BG. Elevated lipoprotein(a) levels, LPA risk genotypes, and increased risk of heart failure in the general population. *JACC Hear Fail.* 2016;4(1):78-87. doi:10.1016/j.jchf.2015.08.006.
 31. Kamstrup PR, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Elevated lipoprotein(a) and risk of aortic valve stenosis in the general population. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63(5):470-477. doi:10.1016/j.jacc.2013.09.038.
 32. Nave AH, Lange KS, Leonards CO, et al. Lipoprotein (a) as a risk factor for ischemic stroke: A meta-analysis. *Atherosclerosis.* 2015;242(2):496-503. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.08.021.
 33. Krempler F, Kostner G, Bolzano K, Sandhofer F. Lipoprotein (a) is not a metabolic product of other lipoproteins containing apolipoprotein B. *Biochim Biophys Acta.* 1979;575(1):63-70.
 34. Hoover-Plow J, Huang M. Lipoprotein(a) Metabolism: Potential Sites for Therapeutic

- Targets. *Metabolism*. 2013;62(4):4479-4491. doi:10.1016/j.metabol.2012.07.024. Lipoprotein(a).
35. Frischmann ME, Ikewaki K, Trenkwalder E, et al. In vivo stable-isotope kinetic study suggests intracellular assembly of lipoprotein(a). *Atherosclerosis*. 2012;225(2):322-327. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2012.09.031.
 36. Gouni-berthold I, Berthold HK. Lipoprotein (a): Current Perspectives. *Curr Vasc Pharmacol*. 2011;9(6):682-692.
 37. Romero Galván E. Lipoproteína a : Lp (a) factor de riesgo vascular emergente. *Clínica Médica*.:30-36. Ref Web 1036.
 38. McLean JW, J. E. T, Kuang WJ, et al. cDNA sequence of human apolipoprotein(a) is homologous to plasminogen. *Nature*. 1987;330:132-137.
 39. Gaubatz J, Chari M, Nava M, Guyton J, Morrisett J. Isolation and characterization of the two major apoproteins in human lipoprotein (a). *J Lipid Res*. 1987;28(1):69-79.
 40. Schmidt K, Noureen A, Kronenberg F, Utermann G. Structure, Function, and Genetics of Lipoprotein (a). *J Lipid Res*. 2016;57(8):1339-1359.
 41. Demant T, Seeberg K, Bedynek A, Seidel D. The metabolism of lipoprotein (a) and other apolipoprotein B-containing lipoproteins : a kinetic study in humans. 2001;157:325-339.
 42. White A, Lanford R. Cell surface assembly of lipoprotein(a) in primary cultures of baboon hepatocytes. *J Biol Chem*. 1994;269(46):28716-28723.
 43. Bonen DK, Hausman AML, Hadjiagapiou C, Skarosi SF, Davidson NO. Expression of a recombinant apolipoprotein(a) in HepG2 cells. Evidence for intracellular assembly of lipoprotein(a). *J Biol Chem*. 1997;272(9):5659-5667. doi:10.1074/jbc.272.9.5659.
 44. Diffenderfer MR, Lamon-Fava S, Marcovina SM, et al. Distinct metabolism of apolipoproteins (a) and B-100 within plasma lipoprotein(a). *Metabolism*. 2016;65(4):381-390. doi:10.1016/j.metabol.2015.10.031.
 45. Jenner JL, Seman LJ, Millar JS, et al. The metabolism of apolipoproteins (a) and B-100 within plasma lipoprotein (a) in human beings. *Metabolism*. 2005;54(3):361-369. doi:10.1016/j.metabol.2004.10.001.
 46. I DPW, Knight BL, Harders-spengel K, Soutar AK. Detection and quantitation of apolipoprotein (a) mRNA in human liver and its relationship with plasma lipoprotein (a)

- concentration. 1991;91:63-72.
47. Mooser V, Seabra MC, Abedin M, Landschulz KT, Marcovina S, Hobbs HH. Apolipoprotein(a) Kringle 4-Containing Fragments in Human Urine Relationship to Plasma Levels of Lipoprotein(a). *J Clin Invest.* 1996;97(3):858-864.
 48. Oida K, Takai H, HajimeMaeda, et al. Apolipoprotein (a) is Present in Urine and Its Excretion is Decreased in Patients with Renal Failure. *Clin Chem.* 1992;38(11):2244-2248.
 49. Kostner K, Maurer G, Huber K, Al E. Urinary excretion of apo(a) fragments. Role in apo(a) catabolism. *Arter Thromb Vasc Biol.* 1996;16:905-911.
 50. Edelstein C, Italia JA, Scanu AM. Polymorphonuclear Cells Isolated from Human Peripheral Blood Cleave Lipoprotein (a) and Apolipoprotein (a) at Multiple Interkringle Sites via the Enzyme Elastase. 1997;272(17):11079-11087.
 51. Edelstein C, Shapiro SD, Klezovitch O, Scanu AM. Macrophage Metalloelastase , MMP-12 , Cleaves Human Apolipoprotein (a) in the Linker Region between Kringles IV-4 and IV-5. *J Biol Chem.* 1999;274(15):10019-10023.
 52. Fortunato JE, Bassiouny HS, Song RH. Apolipoprotein (a) fragments in relation to human carotid plaque instability. *J Vasc Surg.* 2000;32:555-563.
 53. Wiklund O, Angelin B, Olofsson S, Eriksson M, Fager G, Berglund L. Apolipoprotein(a) and ischaemic heart disease in familial hypercholesterolaemia. *Lancet.* 1990;335(8702):1360-1363.
 54. Reblin T, Niemeier A, Meyer N, Willnow TE, Beisiegel U. Cellular uptake of lipoprotein[a] by mouse embryonic fibroblasts via the LDL receptor and the LDL receptor-related protein. *J Lipid Res.* 1997;38(1):2103-2110.
 55. Krempler F, Kostner GM, Roscher a, Haslauer F, Bolzano K, Sandhofer F. Studies on the role of specific cell surface receptors in the removal of lipoprotein (a) in man. *J Clin Invest.* 1983;71(5):1431-1441.
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=437007&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
 56. Armstrong V, Harrach B, Robenek H, Helmhold M, Walli A, Slidel D. Heterogeneity of human lipoprotein Lp(a): cytochemical and biochemical studies on the interaction of two Lp(a) species with the LDL receptor. *J Lipid Res.* 1990;31(3):429-441.

57. Kostner GM, Gavish D, Leopold B, Bolzano K, Weintraub MS, Breslow JL. HMG CoA Reductase Inhibitors Lower LDL Cholesterol Without Reducing Lp (a) Levels. *Circulation*. 1989;80(5):1313-1319.
58. Vitro I, Niemeier A, Willnow T, et al. Identification of Megalin/gp330 as a Receptor for Lipoprotein(a) In Vitro. *Arter Thromb Vasc Biol*. 1999;19:552-561.
59. Lundgren S, Carling T, Hjälml G, et al. Tissue Distribution of Human gp330/Megalin, a Putative Ca(2+)-sensing Protein. *J Histochem Cytochem*. 1997;45(3):383-392.
60. Argraves KM, Kozarsky KF, Fallon JT, Harpel PC, Strickland DK. The Atherogenic Lipoprotein Lp(a) is Internalized and Degraded in a Process Mediated by the VLDL Receptor. *J Clin Invest*. 1997;100(9):2170-2181.
61. Ernst A, Helmhold M, Brunner C, Pethö-Schramm A, Armstrong VW, Müller H-J. Identification of Two Functionally Distinct Lysine-binding Sites in Kringle 37 and in Kringles 32-36 of Human Apolipoprotein(a). *J Biol Chem*. 1995;270(11):6227-6234.
62. Hrzenjak A, Frank S, Wo X, Zhou Y, Berkel TVAN, Kostner GM. Galactose-specific asialoglycoprotein receptor is involved in lipoprotein (a) catabolism. 2003;771:765-771.
63. Rader DJ, Cain W, Ikewaki K, et al. The Inverse Association of Plasma Lipoprotein (a) Concentrations with Apolipoprotein(a) Isoform Size Is Not Due to Differences in Lp(a) Catabolism but to Differences in Production Rate. *J Clin Invest*. 1994;93:2758-2763.
64. Riches K, Porter KE. Lipoprotein(a): Cellular effects and molecular mechanisms. *Cholesterol*. 2012;(ID923289):10. doi:10.1155/2012/923289.
65. Leibundgut G, Scipione C, Yin H, et al. Determinants of binding of oxidized phospholipids on apolipoprotein (a) and lipoprotein (a). *J Lipid Res*. 2013;54(10):2815-2830. doi:10.1194/jlr.M040733.
66. Yano Y, Shimokawa K, Okada Y, Noma a. Immunolocalization of lipoprotein(a) in wounded tissues. *J Histochem Cytochem*. 1997;45(4):559-568. doi:10.1177/002215549704500408.
67. von Zychlinski A, Kleffmann T, Williams MJA, McCormick SP. Proteomics of Lipoprotein(a) identifies a protein complement associated with response to wounding. *J Proteomics*. 2011;74(12):2881-2891.
68. Feric N, Boffa M, Johnston S, Koschinsky M. Apolipoprotein(a) inhibits the conversion of Glu-plasminogen to Lys-plasminogen: a novel mechanism for lipoprotein(a)-mediated

- inhibition of plasminogen activation. *J Thromb Haemost.* 2008;6:2113-2120.
69. Hancock M, Boffa M, Marcovina S. Inhibition of plasmin- ogen activation by lipoprotein(a). Critical domains in apolipoprotein(a) and mechanism of inhibition on fibrin and degraded fibrin surfaces. *J Biol Chem.* 2003;278:23260-23269.
 70. Hervio L, Chapman M, Thillet J, Loyau S, Angles-Cano E. Does apolipoprotein(a) heterogeneity influence lipoprotein(a) effects on fibrinolysis? *Blood.* 1993;82:392-397.
 71. Rouy D, Grailhe P, Nigon F, Chapman J, Cano EA-. Lipoprotein(a) impairs generation of plasmin by fibrin-bound tissue-type plasminogen activator: in vitro studies in a plasma milieu. *Arterioscler Thromb.* 1991;11(3):629-638.
 72. Levin EG, Miles LA, Fless GM. Lipoproteins inhibit the secretion of tissue plasminogen activator from human endothelial cells. *Artheroscler Thromb.* 1994;14(3):438-442.
 73. Ren S, Shatadal S, Shen GX. Protein kinase C- β mediates lipoprotein-induced generation of PAI-1 from vascular endothelial cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;278(4):E656-E662.
 74. Nielsen L. Atherogenicity of lipoprotein(a) and oxidized low density lipoprotein: insight from in vivo studies of arterial wall influx, degradation and efflux. *Atherosclerosis.* 1999;143:229-243.
 75. Bdeir K, Cane W, Canziani G. Defensin promotes the binding of lipoprotein(a) to vascular matrix. *Blood.* 1999;94:20072019.
 76. Lundstam U, Hurt-Camejo E, Olsson G, Sartipy P, Camejo G, Wiklund O. Proteoglycans contribution to association of Lp(a) and LDL with smooth muscle cell extracellular matrix. *Artherosclerosis, Thromb Vasc Biol.* 1999;19:1162-1167.
 77. Pan S, Kleppe L, Witt T, Mueske C, Simari R. The effect of vascular smooth muscle cell-targeted expression of tissue factor pathway inhibitor in a murine model of arterial thrombosis. *Thromb Haemost.* 2004;92:495-502.
 78. Barre DE. Apoprotein (a) antagonises the GPIIb/IIIa receptor on collagen and ADP-stimulated human platelets. *Front Biosci.* 2004;9:404-410.
 79. Tsironis LD, Mitsios J V., Milionis HJ, Elisaf M, Tselepis AD. Effect of lipoprotein (a) on platelet activation induced by platelet-activating factor: role of apolipoprotein (a) and endogenous PAF-acetylhydrolase. *Cardiovasc Res.* 2004;63(1):130-138.

80. Sotiriou SN, Orlova V V., Al-Fakhri N. Lipoprotein(a) in atherosclerotic plaques recruits inflammatory cells through interaction with Mac-1 integrin. *FASEB J.* 2006;20(3):559-561.
81. Liu L, Craig AW, Meldrum HD, Marcovina SM, Elliott BE, Koschinsky ML. Apolipoprotein(a) stimulates vascular endothelial cell growth and migration and signals through integrin $\alpha V\beta 3$. *Biochem J.* 2009;418(2):325-336.
82. Kojima S, Harpel PC, Rifkin DB. Lipoprotein (a) inhibits the generation of transforming growth factor β : an endogenous inhibitor of smooth muscle cell migration. *J Cell Biol.* 1991;113(6):1439-1445.
83. O'Neil CH, Boffa MB, Hancock MA, Pickering JG, Koschinsky ML. Stimulation of vascular smooth muscle cell proliferation and migration by apolipoprotein(a) is dependent on inhibition of transforming growth factor- β activation and on the presence of kringle IV type 9. *J Biol Chem.* 2004;279(53):55187-55195.
84. Azuma H, Yamaguchi H, Mima N. An in vitro system for identifying agents capable of changing serum lipoprotein(a) concentration by regulating the transcriptional activity of the apolipoprotein(a) gene promoter,. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996;227(2):570-575.
85. Syrovets T, Thillet J, Chapman MJ, Simmet T. Lipoprotein(a) is a potent chemoattractant for human peripheral monocytes. *Blood.* 1997;90(5):2017-2036.
86. Klezovitch O, Edelstein C, Scanu AM. Stimulation of interleukin-8 production in human THP-1 macrophages by apolipoprotein(a): evidence for a critical involvement of elements in its C-terminal domain. *J Biol Chem.* 2001;276(50):46864-46869.
87. Allen S, Khan S, Tam SP, Koschinsky M, Taylor P, Yacoub M. Expression of adhesion molecules by Lp(a): a potential novel mechanism for its atherogenicity. *FASEB J.* 1998;12(15):1765-1776.
88. Takami S, Yamashita S, Kihara S. Lipoprotein(a) enhances the expression of intercellular adhesion molecule-1 in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Circulation.* 1998;97(8):721-728.
89. Miyata M, Biro S, Kaieda H, Tanaka H. Lipoprotein(a) stimulates the proliferation of cultured human arterial smooth muscle cells through two pathways. *FEBS Lett.* 1995;377(3):493-496.
90. Grainger DJ, Kirschenlohr HL, Metcalfe JC, Weissberg PL, Wade DP, Lawn RM.

- Proliferation of human smooth muscle cells promoted by lipoprotein(a). *Science* (80-). 1993;260(5114):1655-1658.
91. Komai N, Morishita R, Yamada S. Mitogenic activity of oxidized lipoprotein (a) on human vascular smooth muscle cells. *Hypertension*. 2002;40(3):310-314.
 92. Haque NS, Zhang X, French DL. The CC chemokine I-309 is the principal monocyte chemoattractant induced by apolipoprotein(a) in human vascular endothelial cells. *Circulation*. 2000;102(7):786-792.
 93. Berliner J, Leitinger N, Tsimikas S. The role of oxidized phospho- lipids in atherosclerosis. *J Lipid Res*. 2009;50:S207-S212.
 94. Taleb A, Witztum JL, Tsimikas S. Oxidized phospholipids on apoB-100-containing lipoproteins: a biomarker predicting cardiovascular disease and cardiovascular events. *Biomark Med*. 2011;5(5):673-694. doi:10.2217/bmm.11.60.Oxidized.
 95. Boffa MB, Koschinsky ML. Screening for and management of elevated Lp(a). *Curr Cardiol Rep*. 2013;15(11). doi:10.1007/s11886-013-0417-8.
 96. Seimon TA, Nadolski MJ, Liao X. Atherogenic lipids and lipoproteins trigger CD36-TLR2-dependent apoptosis in macrophages undergoing endoplasmic reticulum stress. *Cell Metab*. 2010;12(5):467-482.
 97. Tsimikas S, Tsironis L, Tselepis A. New insights into the role of lipoprotein(a)-associated lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis and cardiovascular disease. *Artherosclerosis, Thromb Vasc Biol*. 2007;27:2094-2099.
 98. Erqou S, Thompson A, Di Angelantonio E, et al. Apolipoprotein(a) Isoforms and the Risk of Vascular Disease. Systematic Review of 40 Studies Involving 58,000 Participants. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(19):2160-2167. doi:10.1016/j.jacc.2009.10.080.
 99. Krempler F, Kostner G, Bolzano K, Sandhofer F. STUDIES ON THE METABOLISM OF THE LIPOPROTEIN Lp(a) IN MAN. *Atherosclerosis*. 1978;30:57-65.
 100. Enkhmaa B, Anuurad E, Berglund L, Berglund L. LIPOPROTEIN (a) – IMPACT BY ETHNICITY , ENVIRONMENTAL AND. *J Lipid Res*. 2016;(916).
 101. Langsted A, Kamstrup PR, Nordestgaard BG. Lipoprotein(a): Fasting and nonfasting levels, inflammation, and cardiovascular risk. *Atherosclerosis*. 2014;234(1):95-101. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2014.01.049.

102. Utermann G. The Mysteries of Lipoprotein (a). *Science* (80-). 1989;246(4932):904-910.
103. Kraft HG, Sandholzer C, Menzel H, Utermann G. Apolipoprotein(a) alleles determine lipoprotein(a) particle density and concentration in plasma. *Arter Thromb*. 1992;12:302-306.
104. Brazier L, Tiret L, Arveiler D. Sequence polymorphisms in the apolipoprotein (a) gene and their association with lipoprotein (a) levels and myocardial infarction . The ECTIM Study. *Atherosclerosis*. 1999;144(2):323-333.
105. Noureen A, Fresser F, Utermann G, Schmidt K. Sequence variation within the KIV-2 copy number polymorphism of the human LPA gene in African, Asian, and European populations. *PLoS One*. 2015;10(3):1-23. doi:10.1371/journal.pone.0121582.
106. Chretien J-P, Coresh J, Berthier-Schaad Y, et al. Three single-nucleotide polymorphisms in LPA account for most of the increase in lipoprotein(a) level elevation in African Americans compared with European Americans. *J Med Genet*. 2006;43(12):917-923. doi:10.1136/jmg.2006.042119.
107. Clarke R, Peden JF, Hopewell JC, et al. Genetic Variants Associated with Lp(a) Lipoprotein Level and Coronary Disease. *N Engl J Med*. 2009;361(26):2518-2528. doi:10.1056/NEJMoa0902604.
108. Santos PC, Bueno CT, Lemos PA, Krieger JE, Pereira AC. LPA rs10455872 polymorphism is associated with coronary lesions in Brazilian patients submitted to coronary angiography. *Lipids Health Dis*. 2014;13(1):74. doi:10.1186/1476-511X-13-74.
109. Boerwinkle E, Leffert CC, Lin J, Lackner C, Chiesa G, Hobbs HH. Apolipoprotein(a) gene accounts for greater than 90% of the variation in plasma lipoprotein(a) concentrations. *J Clin Invest*. 1992;90(1):52-60. doi:10.1172/JCI115855.
110. Crawford DC, Peng Z, Cheng JF, et al. LPA and PLG sequence variation and kringle IV-2 copy number in two populations. *Hum Hered*. 2008;66(4):199-209. doi:10.1159/000143403.
111. Kraft HG, Lingenhel A, Pang RWC, et al. Frequency distributions of apolipoprotein(a) kringle IV repeat alleles and their effects on lipoprotein(a) levels in Caucasian, Asian, and African populations: the distribution of null alleles is not random. *Eur J Hum Genet*. 1996;4:74-87.
112. Schmidt K, Kraft HG, Parson W, Utermann G. Genetics of the Lp(a)/apo(a) system in an

- autochthonous Black African population from the Gabon. *Eur J Hum Genet.* 2006;14(2):190-201. doi:10.1038/sj.ejhg.5201512.
113. Lee S-R, Prasad A, Choi Y-S, et al. The LPA Gene, Ethnicity, and Cardiovascular Events. *Circulation.* 2016.
 114. Cobbaert C, Kesteloot H. Serum lipoprotein(a) levels in racially different populations. *Am J Epidemiol.* 1992;136(4):441-449.
 115. Guan W, Cao J, Steffen BT, et al. Race is a key variable in assigning lipoprotein(a) cutoff values for coronary heart disease risk assessment: The multi-ethnic study of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015;35(4):996-1001. doi:10.1161/ATVBAHA.114.304785.
 116. Nordestgaard BG, Chapman M, Ray K, et al. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. *Eur Hear J.* 2010;31:2844-2853.
 117. Erqou S, Kaptoge S, Perry P. Lipoprotein(a) concentration and the risk of coronary heart disease, stroke, and nonvascular mortality. *JAMA.* 2009;302:412-423.
 118. Kamstrup PR, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Extreme lipoprotein(a) levels and improved cardiovascular risk prediction. *J Am Coll Cardiol.* 2013;61(11):1146-1156. doi:10.1016/j.jacc.2012.12.023.
 119. Kassner U, Schlabs T, Rosada A, Steinhagen-Thiessen E. Lipoprotein(a) - An independent causal risk factor for cardiovascular disease and current therapeutic options. *Atheroscler Suppl.* 2015;18:263-267. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.02.039.
 120. Ramharack R, Barkalow D, Spahr M. Dominant negative effect of TGF-beta1 and TNF-alpha on basal and IL-6 induced lipoprotein(a) and apolipoprotein(a) mRNA expression in primary monkey hepatocyte cultures. *Arter Thromb Vasc Biol.* 1998;18(6):984-990.
 121. Berthold HK, Laudes M, Krone W, Gouni-Berthold I. Association between the interleukin-6 promoter polymorphism-174G/C and serum lipoprotein(a) concentrations in humans. *PLoS One.* 2011;6(9):e24719.
 122. Glader C, Birgander L, Söderberg S, Ildgruben H, Saikku P, Waldenström A. Lipoprotein (a), Chlamydia pneumoniae, leptin and tissue plasminogen activator as risk markers for valvular aortic stenosis. *Eur Hear J.* 2003;24:198-208.
 123. Thanassoulis G, Campbell C, Owens D, Smith J, Smith A, Peloso G. CHARGE Extracoronary Calcium Working Group. Genetic associations with valvular calcification

- and aortic stenosis. *N Engl J Med*. 2013;368:503-512.
124. Dumitrescu L, Glenn K, Brown-Gentry K, et al. Variation in LPA is associated with Lp(a) levels in three populations from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *PLoS One*. 2011;6(1). doi:10.1371/journal.pone.0016604.
 125. Cardoso-Saldaña G, Ize-Lema I, Kimura LY, Zamora González J, Posadas Romero C. Lipoprotein(a) and cardiovascular risk in adult Mexicans. *Rev Invest Clin*. 49(2):85-92.
 126. Cardoso-Saldaña G, De La Peña-Díaz a, Zamora-González J, et al. Ethnicity and lipoprotein(a) polymorphism in Native Mexican populations. *Ann Hum Biol*. 2006;33(2):202-212. doi:10.1080/03014460500520006.
 127. Baños-González M a, Peña-Duque M a, Anglés-Cano E, et al. Apo(a) phenotyping and long-term prognosis for coronary artery disease. *Clin Biochem*. 2010;43(7-8):640-644. doi:10.1016/j.clinbiochem.2010.01.013.
 128. Acuña-Valerio J, Rodas-Díaz MA, Macías-Garrido E, et al. Prevalencia y asociación de la calcificación valvular aórtica con factores de riesgo y aterosclerosis coronaria en población mexicana. *Arch Cardiol Mex*. 2016. doi:10.1016/j.acmx.2016.05.013.
 129. Sevilla SD. Metodología de los estudios de asociación genética. 2007;2:111-114.
 130. Hernández-Ávila M, Romieu I, Parra S, Hernández-Ávila J, Madrigal H, Willet W. Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire to assess dietary intake of women living in Mexico City. *Salud Publica Mex*. 1998;40:133-140.
 131. Lahiri D, Numberger J. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HWM DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acid Res*. 1991;19(19):5444.
 132. Sugiuchi H, Okabe H, Irie T, Uekama K, Kayahara N, Miyauchi K. Direct measurement of high-density lipoprotein cholesterol in serum with polyethylene glycol-modified enzymes and sulfated alpha-cyclodextrin. *Clin Chem*. 1995;41(5):717-723.
 133. De Long D, De Long E, Wood P, Lippel K, Rifkind B. A comparison for methods for the estimation of plasma low- and very low-density lipoprotein cholesterol. The lipid Research Clinics Prevalence Study. *JAMA*. 1986;256:2372-2377.
 134. Matthews D, Hosker J, Rudenski A, Naylor B, Treacher D, Turner R. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28:412-419.

135. Mautner G, Mautner S, Froehlich J, et al. Coronary artery calcification: Assessment with electrom beam CT and histomorphometric correlation. *Radiology*. 1994;192:619-623.
136. Budoff M, Mao S, Takasu J, Shavelle D, Zhao X, O' Brien K. Reproducibility of electrom-beam CT measures of aortic valve calcification. *Acad Radiol*. 2002;9:1122-1127.
137. Messika-Zeitoun D, Aubry M, Detaint D, et al. Evaluation and clinical implications of aortic valve calcification measured by electrom-beam computed tomography. *Circulation*. 2004;110:356-362.
138. Sánchez-Castillo CP, Velázquez-Monroy O, Berber A, Lara-Esqueda A, Tapia-Conyer R, James WPT. Anthropometric Cutoff Points for Predicting Chronic Diseases in the Mexican National Health Survey 2000. *Obes Res*. 2003;11(3):442-451. doi:10.1038/oby.2003.60.
139. (American Diabetes Association). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2009;32(Supplementary 1):S62-S67.
140. Alberti K, Eckel R, Grundy S, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International A. *Circulation*. 2009;120:1640-1645.
141. Baecke J, Burema J, Frijters J. A short questionnaire for the measurement of habitual physical activity in epidemiological studies. *Am J Clin Nutr*. 1982;36(5):936-942.
142. www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?type=rs&rs=7765803.
143. www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/?q=rs7765803.
144. Kamstrup PR. Lipoprotein(a) and ischemic heart disease-A causal association? A review. *Atherosclerosis*. 2010;211(1):15-23. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2009.12.036.
145. Thanassoulis G, Campbell C, Owens D, Smith G, et al. Genetic Associations with Valvular Calcification and Aortic Stenosis. *N Engl J Med*. 2013;368(6):503-512. doi:10.1056/NEJMoa1109034.
146. Vongpromek R, Bos S, Ten Kate G, et al. Lipoprotein(a) levels are associated with aortic valve calcification in asymptomatic patients with familial hypercholesterolaemia. *J Intern Med*. 2015;278:166-173.
147. Haffner S, Gruber K, Morales P, Hazuda H, Valdez R, et al. Lipoprotein(a) concentrations

- in Mexican Americans and non-Hispanic whites: the San Antonio Heart Study. *Am J Epidemiol.* 1992;136:1060-1068.
148. Kamboh M, Rewers M, Aston C, Hamman R. Plasma apolipoprotein A-I, apolipoprotein B, and lipoprotein(a) concentrations in normoglycemic Hispanics and non-Hispanic whites from the San Luis Valley, Colorado. *Am J Epidemiol.* 1997;146:1011-1018.
 149. Lanktree MB, Anand SS, He RA. Comprehensive analysis of genomic variation in the LPA locus and its relationship to plasma Lipoprotein (a) in South Asians , Chinese and European Caucasians. *Circ Cardiovasc Genet.* 2009:894626.
 150. Mahmut A, Boulanger MC, El Hussein D, et al. Elevated expression of lipoprotein-associated phospholipase A2 in calcific aortic valve disease: implications for valve mineralization. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63:460-469.
 151. Bouchareb R, Mahmut A, Nsaibia MJ, et al. Autotaxin derived from lipoprotein(a) and valve interstitial cells promotes inflammation and mineralization of the aortic valve. *Circulation.* 2015;132(8):677-690. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.115.016757.
 152. Coté N, Mahmut A, Bossé Y, et al. Inflammation is associated with the remodeling of calcific aortic valve disease. *Inflammation.* 2013;36(3):573-581. doi:10.1007/s10753-012-9579-6.
 153. El Hussein D, Boulanger MC, Fournier D, Mahmit A, Bossé Y, Pibarot P. High expression of the Pi-transporter SLC20A1/Pit1 in calcific aortic valve disease promotes mineralization through regulation of akt-1. *PLoS One.* 2013;8(1):e53393. doi:10.1371/journal.pone.0053393.
 154. Marcovina SM, Albers JJ, Scanu AM, et al. Use of a Reference Material Proposed by the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine to Evaluate Analytical Methods for the Determination of Plasma Lipoprotein (a). *Clin Chem.* 2000;1967(12):1956-1967.
 155. Chaen H, Kinchiku S, Miyata M, Kajiya S, Uenomachi H. Validity of a Novel Method for Estimation of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in Diabetic Patients. *J Atheroscler Thromb.* 2016;23(12):1355-1364. doi:10.5551/jat.35972.
 156. The 2012 National Health and Nutrition Survey (ENSANUT 2012). http://ensanut.insp.mx/analisis_publicados.php#WHQWs32uaG8.

ANEXOS

ANEXO I CUESTIONARIO DE RIESGO CARDIOMETABÓLICO



Departamento de Endocrinología del Instituto
Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"

Genética de la Enfermedad Aterosclerosa (Estudio GEA)

No llenar esta área

Fecha de entrevista: _____
(día / mes / año)

Núm. registro INCICH _____

Núm. muestra _____

I. FICHA DE IDENTIFICACIÓN

1. Procedencia del paciente:

- a) Hemodinamia b) Banco de Sangre (donador)
c) Fenofibrato d) Consulta e) Externo

2. Nombre: _____
(apellido paterno) (apellido materno) (nombre (s))

3. Fecha de nacimiento: ____/____/____/____/____/____
(dd/ mm / aaaa)

4. Edad: ____ (años)

5. Sexo: ____1) Masculino ____2) Femenino

6. Estado Civil: __1) Soltero(a) __2) Casado(a) __3) Divorciado(a) __4) Unión libre __5) Viudo(a)

7. Residente del D.F. o área metropolitana: __1) Sí __2) No

8. Domicilio: _____
Calle y número (interior o exterior) Colonia

Delegación o municipio

C.P.

9. Teléfono

1) Casa

2) Trabajo

3) Celular

4) Para recibir recados

04455

II. CARACTERÍSTICAS FAMILIARES

1. ¿Cuántas personas viven en la misma casa? ____ personas

2. ¿Cuántas habitaciones ocupan para dormir? _____

3. ¿Con qué servicios cuentan?

- 1) Agua intradomiciliaria Sí ____ No ____
2) Luz Sí ____ No ____
3) Drenaje Sí ____ No ____

4. La casa en la que vive es:

- ____1) Propia ____2) Rentada ____3) Prestada ____4) Pagándola

5. ¿Qué religión tiene?

- ____1) Católica ____2) Protestante ____3) Otra (especifique): _____

1

No llenar esta área

III. ESCOLARIDAD

1. Indique el grado de escolaridad máximo obtenido

- | | |
|--------------------------|--|
| 1) Analfabeta | 7) Carrera técnica |
| 2) Lee y escribe | 8) Preparatoria o equivalente incompleta |
| 3) Primaria incompleta | 9) Preparatoria completa |
| 4) Primaria completa | 10) Licenciatura |
| 5) Secundaria incompleta | 11) Maestría |
| 6) Secundaria completa | 12) Doctorado |

IV. OCUPACION

1. Ocupación: (especifique) _____
2. ¿Cuántas horas al día trabaja?
3. ¿Cuántos días a la semana trabaja?
4. Turno al que pertenece:
- __1) Matutino __2) Vespertino __3) Nocturno __4) Mixto __5) Variable
5. Su salario mensual es:
- __1) No percibe salario __2) Un salario mínimo o menos __3) 2 a 3 salarios mínimos
- __4) 4 a 7 salarios mínimos __5) 8 o más salarios mínimos
6. ¿Cuántas personas dependen económicamente de usted?
7. ¿Cuántas personas contribuyen al ingreso familiar?
8. ¿A cuánto asciende el ingreso familiar mensual?
- __1) Un salario mínimo o menos __3) 4 a 7 salarios mínimos
- __2) 2 a 3 salarios mínimos __4) 8 o más salarios mínimos

V. ANTECEDENTES FAMILIARES

1. ¿Dónde nacieron sus padres? Padre _____ Madre _____
2. ¿Dónde nacieron sus abuelos paternos? Abuelo _____ Abuela _____
3. ¿Dónde nacieron sus abuelos maternos? Abuelo _____ Abuela _____
4. ¿Dónde nació usted? _____
5. ¿Tuvo o tiene familiares con las siguientes enfermedades?
- [NOTA para el encuestador: 1 = Sí 2 = No 3 = No sabe (Padre=1, Madre=2, tíosmat=3, tíospat=4, abomat=5, abopat=6, abamat=7, abapat=8, hermanos=9, otros=10)]

Enfermedad	Sí/No/No sabe	Quiénes (Padre, madre, abuelos, tíos, hermanos, hijos)	
1. HTA sistémica	_____	____/____/____/____/____	<input type="checkbox"/>
2. E A C prematura *	_____	____/____/____/____/____	<input type="checkbox"/>
3. E V C	_____	____/____/____/____/____	<input type="checkbox"/>
4. E V P	_____	____/____/____/____/____	<input type="checkbox"/>
5. Dislipidemia	_____	____/____/____/____/____	<input type="checkbox"/>
6. Diabetes	_____	____/____/____/____/____	<input type="checkbox"/>
7. Obesidad	_____	____/____/____/____/____	<input type="checkbox"/>
8. Gota	_____	____/____/____/____/____	<input type="checkbox"/>

* < 55 años en hombres; < 65 años en mujeres

No llenar esta área

6. ¿Las enfermedades fueron diagnosticadas por un médico? Si _____ No _____

VI. ANTECEDENTES GINECO-OBSTÉTRICOS: (Participantes del sexo masculino, pasar a la sección VII)

1. ¿A qué edad tuvo su primera menstruación? _____ años
2. ¿Cuántos embarazos ha tenido? _____
3. Número de partos _____
4. Número de cesáreas _____
5. Número de abortos _____
6. ¿Actualmente toma anticonceptivos orales? Sí _____ No _____ (pasar a la pregunta número 8)
7. ¿Cuánto tiempo los ha tomado? _____ meses _____ años
8. ¿Alguna vez en su vida tomó anticonceptivos orales? Sí _____ No _____ (pasar a la pregunta número 10)
9. ¿Cuánto tiempo los tomó? _____ meses _____ años
10. ¿A qué edad presentó la menopausia? _____ años ___ No sabe ___ No aplica
¿Por qué? _____
11. ¿Después de la menopausia ha tomado hormonas? Sí _____ ¿Cuál(es)? _____
Dosis _____
No _____ (pasar a la sección VII número)
12. ¿Cuánto tiempo las tomó? _____ meses _____ años
13. Actualmente ¿toma hormonas para la menopausia? Sí _____ ¿Cuál(es)? _____
Dosis _____
No _____

VII. ANTECEDENTES PERSONALES DE FACTORES DE RIESGO CORONARIO

VII.1 Actividad física

1. ¿La mayor parte de su tiempo libre lo dedica a leer, ver tv o descansar? Sí _____ No _____
2. Actualmente ¿practica ejercicio físico? Sí _____ No _____ (pasar a la pregunta VII.2)
3. ¿Desde hace cuanto tiempo lo practica?
1) menos de 1 año 2) 1 a 2 años 3) 2 a 3 años 4) 5 años o más
4. ¿Qué ejercicio físico practica?
1) Caminar 2) Bicicleta 3) Nadar 4) De cancha 5) De gimnasio 6) Otro (especifique) _____
5. ¿Cuántos minutos dura su sesión de ejercicio?
____ 1) 15 min. ____ 4) 40 min.
____ 2) 20 min. ____ 5) 60 min.
____ 3) 30 min. ____ 6) > 60 min.
6. ¿Con qué frecuencia lo practica?
1) Todos los días 2) Una vez/semana 3) 2 veces/semana 4) 3-5 veces/semana
5) Una vez por mes 6) Dos veces al mes

VII.2 Tabaquismo

1. ¿Fuma actualmente? Sí ____ No ____ (pasar a la pregunta número 4)
2. ¿Cuántos cigarrillos fuma en un día?
 ____ 1) sólo ocasionalmente ____ 4) 11 a 15
 ____ 2) 1 a 5 ____ 5) 15 a 20
 ____ 3) 6 a 10 ____ 6) más de 20 ¿Cuántos? _____ cigarrillos
3. ¿Cuánto tiempo ha fumado?
 ____ 1) menos de un año ____ 3) de 6 a 10 años
 ____ 2) de 1 a 5 años ____ 4) más de 10 años ¿Cuántos? _____ años
4. ¿Alguna vez ha fumado? Sí ____ No ____ (pasar a la sección número VII.3)
5. ¿Cuánto tiempo fumó?
 ____ 1) menos de un año ____ 3) de 6 a 10 años
 ____ 2) de 1 a 5 años ____ 4) más de 10 años ¿Cuántos? _____ años
6. ¿Cuántos cigarrillos fumaba en un día?
 ____ 1) Sólo ocasionalmente ____ 4) 11 a 15
 ____ 2) 1 a 5 ____ 5) 15 a 20
 ____ 3) 6 a 10 ____ 6) más de 20 ¿Cuántos? _____ cigarrillos
7. ¿Hace cuánto dejó de fumar?
 ____ 1) menos de 1 mes ____ 4) de 6 a 10 años
 ____ 2) menos de 1 año ____ 5) más de 10 años ¿Cuántos? _____ años
 ____ 3) de 1 a 5 años

VII.3 Consumo de Alcohol

1. En los últimos 6 meses ¿ha consumido alguna bebida que contenga alcohol? Si ____ No ____ (pasar a la pregunta número 6)
2. ¿Qué tipo de bebida ingiere con mayor frecuencia?
 1) Tequila 4) Cerveza
 2) Brandy o Cogniac 5) Pulque
 3) Ron 6) Otro (Especifique): _____
3. ¿Con qué frecuencia consume bebidas alcohólicas?
 1) Esporádicamente 4) Una vez a la semana
 2) Una vez al mes 5) 2 a 5 veces por semana
 3) 2 a 3 veces al mes 6) Diario
4. Cuando ingiere bebidas alcohólicas, ¿cuántos vasos o copas consume en promedio?
 ____ 1-3 ____ 4-6 ____ 6 ó más ¿Cuántos? _____ vasos
5. ¿Ha llegado alguna vez a la embriaguez?
 1) Nunca 4) Una vez al mes
 2) En una ocasión 5) Una vez a la semana
 3) Esporádicamente 6) Diario
6. Hace más de 6 meses ¿consumía bebidas alcohólicas? Si ____ ¿Qué tipo de bebida?(ver opciones pregunta 2) ____
 No ____ (pasar a la sección VII.4)
7. ¿Hace cuanto tiempo dejó de hacerlo? ____ años ____ meses
8. ¿Cuánto tiempo tomó?
 1) Menos de un año 3) 2 a 3 años
 2) 1 a 2 años 4) 5 años o más

- No llenar esta área**
9. ¿En qué cantidad? _____ Vasos o copas al (a la)
 ___ 1) Mes ___ 2) Semana ___ 3) Día ___ 4) al Año
10. ¿Con qué frecuencia llegaba a la embriaguez?
 1) Diario___ 2) Una vez/semana___ 3) Una vez/mes___ 4) Esporádicamente___ 5) Nunca___

VII.4 Uso de multivitamínicos

1. ¿Actualmente toma vitaminas o polivitamínicos? Sí _____ No _____
2. ¿Cuánto tiempo lleva tomándolo?
 1) Menos de 6 meses 2) De 6 meses a 1 año 3) 1 a 3 años
 4) De 3 a 5 años 5) Más de 5 años
3. Mencione cual(es): _____

VII.5 Sobre peso y obesidad

1. ¿El paciente tiene exceso de peso? Sí _____ No _____ (pasar a la sección VII.6)
2. Tiempo de evolución de exceso de peso:
 _____ 1) <1 año _____ 4) de 11 a 15 años
 _____ 2) de 1 a 5 años _____ 5) de 16 o > años
 _____ 3) de 6 a 10 años
3. ¿Le han indicado dieta para bajar de peso? Sí _____ No _____
4. Usted sigue la dieta indicada:
 _____ 1) Muy bien _____ 2) Bien _____ 3) Regular _____ 4) Mal
5. ¿Le han indicado realizar ejercicio físico? Sí _____ No _____
6. ¿Le han indicado algún medicamento para bajar de peso? Sí _____ No _____
7. ¿Qué medicamento (s)? _____

VII.6 Diabetes

1. El paciente tiene diabetes:
 Sí ___ No ___ (pasar a la pregunta VII.7) No sabe ___ (pasar a la pregunta VII.7)
2. Tiempo conocido de evolución de la diabetes:
 _____ 1) <1 año _____ 4) de 11 a 15 años
 _____ 2) de 1 a 5 años _____ 5) de 16 o más años
 _____ 3) de 6 a 10 años
3. ¿Le han indicado dieta para el cuidado de su diabetes? Sí _____ No _____
4. Usted sigue la dieta indicada
 _____ 1) Muy bien _____ 2) Bien _____ 3) Regular _____ 4) Mal

No llenar esta área

5. ¿Le han indicado medicamento(s) para controlar su diabetes? Sí ____ No ____
6. ¿Qué medicamento(s) toma?
- ____ 1) Sulfonilureas ____ 4) Insulina
____ 2) Biguanidas ____ 5) Insulina + hipoglucemiantes orales
____ 3) Tiazolidinedionas ____ 6) Otros
7. ¿Con qué frecuencia toma/inyecta el medicamento?
- ____ 1) Todos los días ____ 3) 5 días/ semana ____ 5) Ocasionalmente
____ 2) 6 días/semana ____ 4) 4 días/semana ____ 6) Nunca lo toma

VII.7 Dislipidemia

1. El paciente tiene dislipidemia. Sí ____ No ____ (pasar a la sección VII.8) No sabe ____ (pasar a la sección VII.8)
2. Tiempo conocido de evolución de la dislipidemia:
- ____ 1) <1 año ____ 4) de 11 a 15 años
____ 2) de 1 a 5 años ____ 5) de 16 o más años
____ 3) de 6 a 10 años
3. ¿Le han indicado dieta como parte de su tratamiento? Sí ____ No ____
4. Usted sigue la dieta indicada
- ____ 1) Muy bien ____ 2) Bien ____ 3) Regular ____ 4) Mal
5. ¿Le han indicado medicamento(s) para controlar sus lípidos? Sí ____ No ____
6. ¿Qué medicamento(s) toma?
- ____ 1) Estatina ____ 2) Fibratos ____ 3) Estatina + Fibratos ____ 4) Estatina + Ezetimiba
7. ¿Con qué frecuencia toma el medicamento?
- ____ 1) Todos los días ____ 3) 5 días/ semana ____ 5) Ocasionalmente
____ 2) 6 días/semana ____ 4) 4 días/semana ____ 6) Nunca lo toma

VII.8 Hipertensión

1. El paciente tiene hipertensión arterial. Sí ____ No ____ (pasar a la sección VIII) No sabe ____ (pasar a la sección VIII)
2. Tiempo conocido de evolución de HTA:
- ____ 1) <1 año ____ 4) de 11 a 15 años
____ 2) de 1 a 5 años ____ 5) de 16 o más años
____ 3) de 6 a 10 años
3. ¿Ha disminuido el consumo de sal? Sí ____ No ____
4. ¿Le han indicado medicamentos para controlar la presión? Sí ____ No ____
5. ¿Qué medicamentos toma?
- ____ 1) BB ____ 4) AAT₁
- ____ 2) IECA ____ 5) Diurético
- ____ 3) ACC ____ 6) Otro(s) _____

No llenar esta área

6. ¿Cuántos medicamentos toma para controlar la HTA? _____

7. ¿Con qué frecuencia toma el medicamento? _____

- _____ 1) Todos los días _____ 3) 5 días/ semana _____ 5) Ocasionalmente
_____ 2) 6 días/semana _____ 4) 4 días/semana _____ 6) Nunca lo toma

VII.9 Infección

1. ¿Tiene usted alguna infección crónica? 1. caries _____ 2. Tuberculosis _____
2. ¿En las últimas semanas ha tenido alguna infección? 1. Diarrea _____ 2. Gripe _____ 3. Faringitis _____ 4. de vías urinarias _____ 5. Otras _____
3. ¿Ha tenido usted hepatitis viral? 1. Sí _____ 2. No _____ 3. No sabe _____
¿Qué tipo de hepatitis? 1. A _____ 2. B _____ 3. C _____ 4. E _____ 5. No sabe _____

VIII. HISTORIA PERSONAL DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

¿Ha tenido usted alguna de las siguientes enfermedades?

	Sí	No	Fecha (día / mes / año)	Fecha (día / mes / año)	Fecha (día / mes / año)	Fecha
1. Infarto al miocardio	_____	_____	_____	_____	_____	_____
2. Angina inestable	_____	_____	_____	_____	_____	_____
3. Angina estable	_____	_____	_____	_____	_____	_____
4. Intervención coronaria percutánea	_____	_____	_____	_____	_____	_____
5. Cirugía de revasc. coronaria	_____	_____	_____	_____	_____	_____
6. Evento vascular cerebral	_____	_____	_____	_____	_____	_____
7. Isquemia cerebral transitoria	_____	_____	_____	_____	_____	_____
8. Enfermedad vascular periférica	_____	_____	_____	_____	_____	_____
9. Colocación de Stent	_____	_____	_____	_____	_____	_____

IX. INDICACIÓN DEL PROCEDIMIENTO ACTUAL:

1. PACIENTES DE CONSULTA EXTERNA

- _____ 1) Angina estable CF 0-1 con estudios inductores de isquemia (+)
_____ 2) Angina estable CF II-III de la CCS*
_____ 3) Deterioro de la CF según la CCS*
_____ 4) Angina inestable**

*Independientemente de que tenga o no estudios inductores de isquemia.

**Nota para el monitor clínico: En caso de que la nota del cardiólogo de la CE mencione como motivo del estudio "angina inestable", preguntar al paciente si ha tenido angina (o sus equivalentes) en las últimas 48 horas, especialmente en reposo y/o si el patrón es en crescendo. Si la respuesta es afirmativa favor de consultar con el cardiólogo de la CE que participa en el estudio para evaluar si el paciente debe ser hospitalizado.

X. DATOS DE EXPLORACIÓN FÍSICA

Peso (kg): ____ . ____ Talla (m): ____ . ____ Circunferencia de cintura (cm) ____ . ____ Circunferencia de cuello (cm) _____

		1ª	2ª	3ª	Promedio
Tensión arterial:	Sistólica:	_____	_____	_____	_____
	Diastólica:	_____	_____	_____	_____
Frecuencia Cardíaca (lpm):		_____	_____	_____	_____

XI. RESULTADOS DE LABORATORIO Y FRACCIÓN DE EYECCIÓN

- 1. Colesterol total _____ mg/dl
- 2. C-HDL _____ mg/dl
- 3. C-LDL _____ mg/dl
- 4. C no HDL _____ mg/dl
- 5. Triglicéridos _____ mg/dl
- 6. Glucosa _____ mg/dl
- 7. Ácido úrico _____ mg/dl
- 8. Urea _____ mg/dl
- 9. Creatinina _____ mg/dl
- 10. PCR _____ g/dl
- 11. Troponina _____ mg/dl
- 12. CPK-MB _____ U/l/ml
- 13. CPK _____ U/l/ml
- 14. Leucocitos totales _____
- 15. Hemoglobina _____ g/L

***Nota para el encuestador:** Los resultados de laboratorio de perfil de lípidos y glucosa "NO" deben tomarse de los existentes en el expediente. Estos resultados deberán obtenerse de forma diferida dado que al final de este cuestionario basal se deberá tomar una muestra sanguínea que será procesada en el laboratorio del Dr. Carlos Posadas. El ácido úrico, creatinina, PCR, troponina, CPK-MB, CPK, leucocitos totales, hemoglobina "SI" se capturarán del expediente en el momento de la entrevista para este efecto se deberán tomar los resultados más recientes.

16. ¿Cuál es el valor de la fracción de expulsión del ventrículo (FEVI) más reciente?
 _____ Anotar el valor (%). Fecha: _____

17. ¿Cuál fue el método empleado para evaluar la FEVI?
 _____ 1) ECO _____ 2) M. Nuclear

XII. DIAGNOSTICOS ACTUALES:

Anotar cuales de los siguientes diagnósticos presenta el paciente al momento de su evaluación inicial en el estudio:

- Cardiopatía isquémica Sí _____ No _____
- Angina inestable Sí _____ No _____
- Angina estable Sí _____ No _____
- HTA sistémica Sí _____ No _____
- Dislipidemia Sí _____ No _____
- Diabetes Sí _____ No _____
- Hiperuricemia Sí _____ No _____
- Tabaquismo Sí _____ No _____
- Sobrepeso Sí _____ No _____
- Obesidad Sí _____ No _____
- Sedentarismo Sí _____ No _____

XIII. TRATAMIENTO E INDICACIONES

1. ¿Cuáles de los siguientes medicamentos recibe el paciente al momento de realizar la entrevista inicial?

Grupo de medicamento	Si=1/No=2	Nombre genérico	Dosis TOTAL diaria (mg)
Estatinas			
Fibratos			
Inhibidores de la absorción			
Niacina			
Beta bloqueadores			
IECAS			
A.R.A. (SARTANES)			
Diuréticos			
Antagonistas de Ca			
Nitratos			
Hipoglucemiantes orales			
Sulfonilureas			
Biguanidas			
Tiazolidinedionas			
Inhibidores de DPP-4			
Tratamiento con insulina			
Aspirina			
Clopidogrel			
Anticoagulantes orales			

XIV. AUTOPERCEPCIÓN DE ESTRÉS (Pregunta Goteborg, Am J Cardiol 1991: 68:1171-1175)

1. ¿Se ha sentido tenso, irritable, ansioso o ha tenido dificultades para dormir como consecuencia de algún problema en su trabajo o en su hogar?

- 1.- Nunca me he sentido así.
- 2.- 1 ó más veces.
- 3.- He tenido algunos periodos de estrés en los últimos 5 años.
- 4.- He tenido múltiples periodos de estrés en los últimos 5 años.
- 5.- He tenido estrés de forma permanente en el último año.
- 6.- He tenido estrés de forma permanente en los últimos 5 años.

Aplicado y revisado por: _____
(iniciales, firma y fecha)

Ultima modificación 13 octubre 2010, Rosalinda Posadas Sánchez

ANEXO II CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO



Departamentos de Endocrinología y Genética del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PARTICIPANTE SANO (Investigación Bioquímica y Tomografía)

TITULO: "Genética de la Enfermedad Aterosclerosa" (Proyecto GEA)

Investigadores principales: Dr. Gilberto Vargas Alarcón, Dra. María Teresa Villarreal Molina, Dr. Carlos Posadas Romero y Dr. Erick Kimura Hayama.

Estimado Señor(a):

Se le está invitando a participar en este estudio de investigación debido a que usted se encuentra clínicamente sano y no está bajo ningún tratamiento. Antes de que decida participar, es importante que sepa por qué se está haciendo esta investigación y lo que implica. Por favor tómese todo el tiempo necesario para leer la siguiente información, coméntela, si así lo desea, con su médico, familiares o con sus amigos. Pregunte cualquier cosa que no le haya quedado del todo clara o si desea más información.

PROPÓSITO

El propósito de este estudio es investigar la función de las partículas de colesterol bueno, en pacientes con enfermedad arterial coronaria y compararlos con personas sanas como usted.

PROCEDIMIENTOS.

Usted acudirá 1 vez al Departamento de Endocrinología, donde le atenderá un médico endocrinólogo. Si usted reúne las condiciones para el estudio y acepta participar, se le harán las siguientes pruebas y procedimientos:

1. Se le pedirá que conteste un cuestionario para conocer sus antecedentes familiares y personales.
2. El médico le hará un examen físico y medirá su estatura, peso, circunferencia de cintura, presión arterial y frecuencia cardiaca.
3. Se le tomará una muestra de sangre, equivalente a 3 cucharadas.
4. Será necesario que se presente en ayuno de 12 horas, sin haber ingerido exceso de bebidas alcohólicas.
5. Su muestra de sangre servirá para realizar estudios de colesterol y triglicéridos. También se realizarán estudios especiales del funcionamiento de las partículas de HDL (colesterol bueno).
6. Para conocer si las arterias de su corazón tienen placas de grasa calcificadas, se le practicará el estudio radiológico conocido como Tomografía Computada para evaluación del Índice de Calcio. Es un estudio no invasivo que no requiere de administración de medio de contraste por vía oral o intravenosa. La duración del estudio es de aproximadamente 10 minutos. Sin embargo, como el procedimiento requiere que la frecuencia cardiaca (número de latidos cardiacos por minuto) se encuentre por debajo de 80, en algunas personas es necesario administrar 50-100 mg de atenolol (medicamento que controla la frecuencia cardiaca) por vía oral antes de efectuar la tomografía, lo que puede aumentar el tiempo de estancia a 30-60 minutos en el departamento de Radiología. Para estudiar las arterias que llevan sangre al cerebro, se medirá el grosor de la pared de estas arterias con ultrasonido. Este procedimiento no produce molestias, no tiene riesgos y se realiza en 5 minutos.
7. Se le practicará el estudio radiológico conocido como Tomografía Computada de un solo corte, para conocer la cantidad de grasa dentro de su abdomen (grasa visceral).

RIESGOS E INCONVENIENTES

Durante el procedimiento para obtener la muestra de sangre de una vena del brazo, puede sentir alguna molestia o dolor ligero. En algunas personas se puede presentar un hematoma (moretón) que desaparece en varios días.

Iniciales del participante _____
Número del participante _____

En caso de que usted padezca de asma, enfisema pulmonar, bronquitis crónica, baja presión o alergia conocida al atenolol, favor de comentarlo directamente con el personal que le aplicó el cuestionario o con los médicos del área de Radiología, quienes valorarán si usted puede o no recibir el atenolol. Después del estudio usted puede realizar normalmente sus actividades.

BENEFICIOS

La visita al médico, los exámenes de laboratorio y el estudio radiológico son sin costo para usted. Es importante que usted sepa que no percibirá pago alguno por participar de manera voluntaria en el estudio.

Con el estudio de Tomografía podremos estimar la cantidad de placas de grasa calcificadas en las arterias de su corazón, lo cual permitirá, junto con los resultados de lípidos en sangre, glucosa y sus cifras de tensión arterial, sugerir modificaciones en su estilo de vida y tratamiento médico como medidas preventivas de futuros eventos cardíacos.

Sus resultados de glucosa, grasas en la sangre, así como los de la Tomografía pueden ser recogidos en 2 semanas.

PARTICIPACION VOLUNTARIA Y DERECHO DE LAS PERSONAS A TERMINAR SU PARTICIPACIÓN.

Su participación en este estudio es voluntaria. Si decide participar, se le pedirá que firme esta forma de consentimiento. Puede rehusarse a participar en el estudio.

CONFIDENCIALIDAD Y PRIVACIDAD DE LA INFORMACIÓN

La información personal, la obtenida por el cuestionario y los resultados de laboratorio se codificarán (su nombre no aparecerá en ninguna publicación o informe que se genere del estudio).

Toda la información que se obtenga, se almacenará en un lugar seguro y nos ajustaremos a los procedimientos internos y regulaciones gubernamentales para proteger la información personal y de laboratorio. Sin embargo, la información que se obtenga por el cuestionario y la generada por el laboratorio se consultará para comprobar que es correcta y corresponde a los exámenes que le fueron practicados. Esto lo hará el personal que participa en la realización del estudio y que mantendrá la confidencialidad de su información.

Confirmando haber leído las declaraciones de la forma de consentimiento informado para la realización del estudio "Genética de la Enfermedad Aterosclerosa" (Proyecto GEA).

Confirmando también que el Dr. _____ me ha explicado toda la información y los procedimientos del estudio, el día _____ durante el proceso de consentimiento para este estudio.

Confirmando que se me ha dado la oportunidad de hacer las preguntas sobre el estudio y haber quedado satisfecho con las respuestas y explicaciones que se me proporcionaron.

Se me ha dado el tiempo suficiente para leer con cuidado la información, comentarla con otras personas y decidir si participo, o no, en este estudio.

Estoy de acuerdo con participar en este estudio.

Firma del participante _____ Fecha _____

Nombre completo del participante _____

Firma del testigo _____ Fecha _____

Nombre completo del testigo. _____

Firma del testigo _____ Fecha _____

Nombre completo del testigo. _____

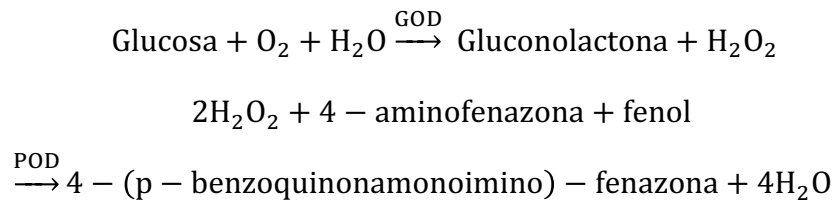
Firma de la persona que aplicó la carta de consentimiento. _____ Fecha _____

Nombre completo. _____

ANEXO III DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS

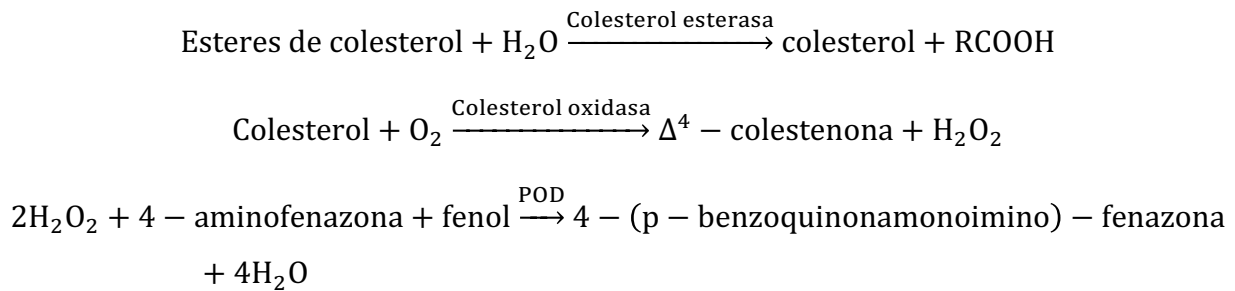
Determinación de glucosa: Método enzimático-colorimétrico (GOD-PAP)

Por medio del oxígeno del aire, la glucosa se oxida a gluconolactona bajo la acción de la glucosa oxidasa (GOD). También se forma peróxido de hidrógeno que, en presencia de la peroxidasa (POD), oxida a 4-aminofenazona y fenol a 4-(p-benzoquinonamonoimino)-fenazona. La intensidad cromática del colorante rojo es directamente proporcional a la concentración de glucosa y se mide espectrofotométricamente.



Determinación de colesterol total: Método enzimático-colorimétrico (CHOD-PAP)

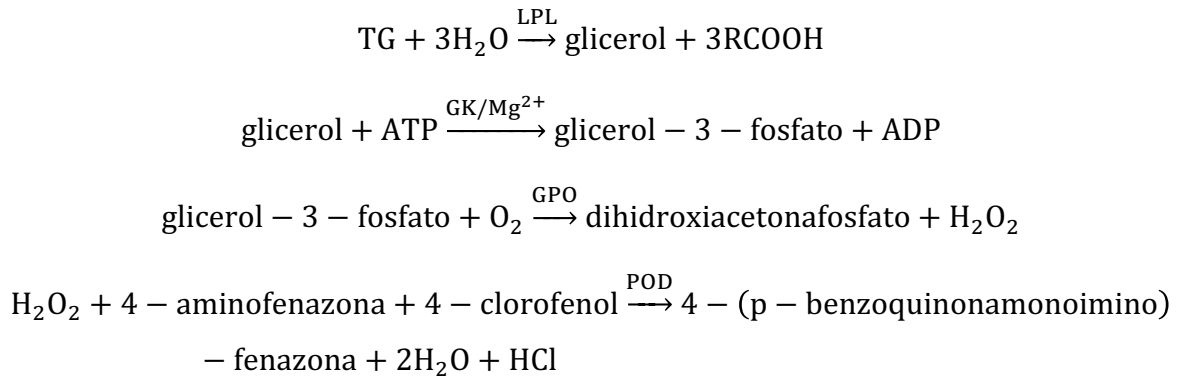
Los ésteres de colesterol son hidrolizados por la enzima colesterol esterasa produciendo colesterol y ácidos grasos. Posteriormente, el colesterol es oxidado por la colesterol oxidasa dando como productos Δ^4 -colesteno y peróxido de hidrógeno, éste último es medido a través de una reacción de Trinder. El peróxido de hidrógeno en presencia de la POD, reacciona con 4-aminofenazona y fenol para formar 4-(p-benzoquinonamonoimino)-fenazona que es un compuesto rojo. La intensidad cromática del colorante rojo formado es directamente proporcional a la concentración de colesterol y se mide espectrofotométricamente.



Determinación de triglicéridos: Método enzimático-colorimétrico (GPO-PAP)

Este método emplea una lipasa lipoproteica (LPL) de microorganismos, para la hidrólisis completa y rápida de TG a glicerol. El glicerol es fosforilado por medio de la enzima glicerol cinasa (GK), dando como producto glicerol-3-fosfato. Éste último es oxidado mediante la glicerol-fosfato oxidasa (GPO) generando dihidroxiacetonafosfato y peróxido de hidrógeno.

El peróxido de hidrógeno formado reacciona bajo la acción catalítica de la POD con 4-aminofenazona y 4-clorofenol para formar un colorante rojo en una reacción de Trinder. La intensidad cromática del colorante rojo es directamente proporcional a la concentración de TG y puede medirse espectrofotométricamente.



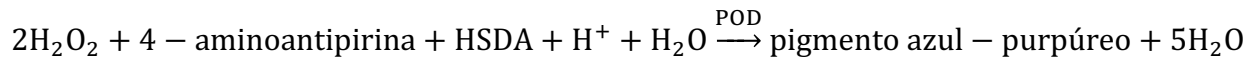
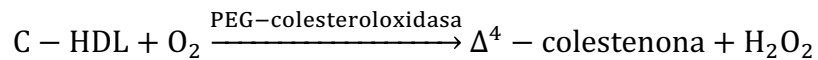
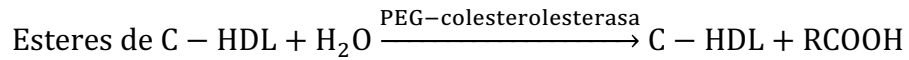
Determinación de C-HDL: Método enzimático-colorimétrico homogéneo

Es un método que permite determinar la concentración de C-HDL sin necesidad de separarlo del resto de las lipoproteínas. En presencia de sulfato de magnesio, el sulfato de dextrano forma complejos solubles en agua, selectivamente con LDL, VLDL y quilomicrones resistentes contra las enzimas modificadas por el polietilenglicol (PEG).

La concentración de C-HDL se determina enzimáticamente por la colesterol esterasa y colesterol oxidasa acopladas con PEG a los grupos amínicos (aprox. 40%).

La colesterol esterasa provoca el desdoblamiento de los ésteres de colesterol a colesterol libre y ácidos grasos. En presencia de oxígeno, el colesterol es oxidado por la colesterol oxidasa a Δ^4 -colestenona y peróxido de hidrógeno. Bajo la acción catalítica de la POD, el peróxido de hidrógeno formado reacciona con 4-aminoantipirina y HSDA

(N-(2-hidroxi-3-sulfopropilo)-3,5-dimetoxianilina sódica) para formar un colorante purpúreo azul. La intensidad del colorante es directamente proporcional a la concentración de colesterol que se mide espectrofotométricamente.



Determinación de insulina: Radioinmunoanálisis

El ensayo de insulina de Millipore emplea insulina humana marcada con ^{125}I y un antisuero de insulina humana para determinar la concentración de insulina en suero, plasma o medios de cultivo de tejidos por la técnica de doble anticuerpo/PEG.

Determinación de proteína C reactiva de alta sensibilidad: Inmunonefelometría

Las partículas de poliestireno recubiertas con un anticuerpo monoclonal específico contra la PCR humana, al mezclarse con muestras que contienen PCR forman agregados, los cuales van a dispersar el rayo de luz incidente. La intensidad de luz dispersada depende de la concentración de la correspondiente proteína en la muestra. La valoración se hace por comparación con un estándar de concentración conocida.

Determinación de Lp(a): Inmunonefelometría

Las partículas de poliestireno recubiertas por una fracción de γ -globulina de conejo contra la Lp(a) humana se agregan al mezclarse con muestras que contienen Lp(a). Estos complejos dispersan un haz de luz proyectada a través de la muestra. La intensidad de luz dispersada es proporcional a la concentración de la proteína correspondiente en la muestra. El resultado se evalúa en comparación de un estándar de concentración conocida.