



## **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MEDICAS, ODONTOLOGICAS Y DE LA SALUD**

**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICION SALVADOR ZUBIRAN**

**CIENCIAS MÉDICAS**

**“ANALISIS GENETICO DEL POLIMORFISMO DE ANTIGENOS LEUCOCITARIOS HUMANOS (HLA) Y DE LA REGION PROMOTORA DE LA QUIMIOCINA MCP-1 EN LA POBLACION MEXICANA MESTIZA CON ANEURISMAS DE LA AORTA ABDOMINAL”**

**T E S I S**

**Para optar por el grado de:**

**Maestría en Ciencias Médicas**

**Presenta:**

**Dr. JAVIER EDUARDO ANAYA AYALA**

**COMITÉ TUTOR**

**Dr. CARLOS ARTURO HINOJOSA BECERRIL**

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

**Dr. JULIO GRANADOS ARRIOLA**

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

**Dr. SERGIO MORENO JIMENEZ**

Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”

**Ciudad Universitaria, Ciudad de México, Enero de 2019**



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.

## CONTENIDO

1. Índice	2
2. Lista de Abreviaturas	3
3. Resumen	4
4. Introducción	6
5. Epidemiología	7
6. Manifestaciones clínicas	8
7. Fisiopatología	10
8. Asociación con el HLA-DRB1	12
9. Contexto de la Patología Aórtica en México	15
10. Posibles factores de protección en el mexicano mestizo	16
11. Planteamiento del Problema	17
12. Justificación	17
13. Hipótesis	18
14. Objetivos	19
15. Metodología, diseño general	21
16. Criterios de Selección	24
17. Determinación de tamaño de muestra y análisis estadístico	26
18. Manejo de Muestras	27
19. Análisis Estadístico	28
20. Resultados	30
21. Discusión	34
22. Conclusión	38
23. Anexos	39
24. Referencias Bibliograficas	41

## **Lista de Abreviaturas**

AAA: Aneurisma de aorta abdominal

HLA: Antígenos leucocitarios humanos

MCP-1: Proteína quimiotáctica de monocitos

TAC: Tomografía axial computarizada

ADN: Acido desoxirribonucleico

PCR: Reacción en cadena de polimerasa

EVAR: Reparación endovascular de aneurisma aórtico

fg: Frecuencia génica

INCMNSZ: Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

# “ANÁLISIS GENÉTICO DEL POLIMORFISMO DE ANTÍGENOS LEUCOCITARIOS HUMANOS (HLA) Y DE LA REGIÓN PROMOTORA DE LA QUIMIOCINA MCP-1 EN LA POBLACION MEXICANA MESTIZA CON ANEURISMAS DE LA AORTA ABDOMINAL”

## RESUMEN

**Introducción:** La patogénesis de los aneurismas de la aorta abdominal (AAA) es multifactorial; sin embargo estudios previos han sugerido un posible papel autoinmune, predisposición genética y susceptibilidad étnica. El objetivo de este estudio consiste en investigar posibles asociaciones de los antígenos leucocitarios humanos (HLA) para el locus HLA-DRB1, y realizar un estudio piloto del polimorfismo de la región promotora de la proteína quimiotáctica de monocitos *MCP-1* en pacientes mexicanos mestizos con AAA.

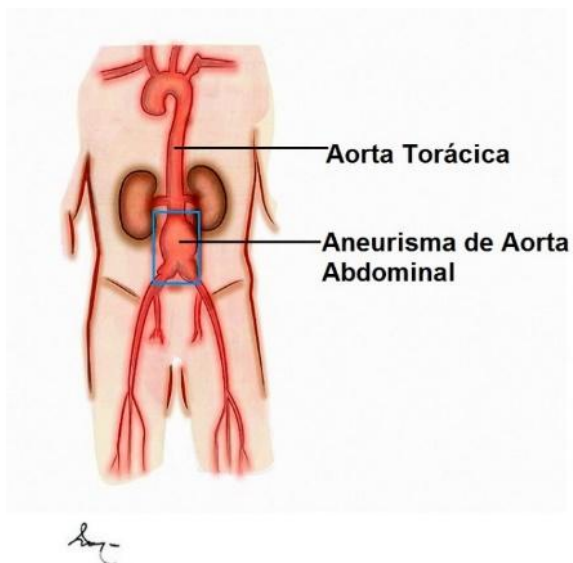
**Material y Métodos:** Estudio de casos y controles; la tipificación molecular de HLA para el locus DRB1 se llevó a cabo mediante la técnica de Oligonucleótido de Secuencia Específica en 39 pacientes (72% pertenecientes al sexo masculino, con una edad media de 72 años y una desviación estándar de 9) con diagnóstico de AAA, y comparados con 99 pacientes [Grupo Control (GC)] pertenecientes al mismo grupo étnico de un control histórico institucional. Las frecuencias génicas (fg) fueron obtenidas y las asociaciones se analizaron mediante prueba de Chi cuadrada y prueba exacta de Fisher con un nivel de significación menor al 0.05, la razón de momios se calculó usando el programa estadístico STATA versión 14. Por otro lado, para la genotipificación de los polimorfismos de un solo nucleótido en el gen *MCP-1* se realizó por PCR en tiempo real; se completó el estudio piloto en 27 pacientes con AAA, de los cuales 18 (67%) pacientes pertenecían al sexo masculino y 9 (33%) al sexo femenino, la media de edad de este grupo fue de 74 años con una desviación estándar de 12.

**Resultados:** Se examinaron un total de 78 alelos de HLADRB1 en pacientes con AAA y 198 en el GC. Cuando se realizaron comparaciones de las fg, observamos que la fg de HLA-DRB1\*01 fue de 0.128 en el grupo AAA comparado con el 0.05 del GC  $p=0.03$ , OR 2.6, 95% [intervalos de confianza (IC) 1.04-6.5], la fg de HLA-DRB1\*16 fue de 0.115 en el grupo AAA y de 0.025 en el GC  $p=0.002$ , OR 5, 95% IC 1.6-16-9. La fg del HLA-DRB1\*08 fue de 0.064 en el grupo AAA comparado con el 0.165 del GC demostrando un posible efecto protector ( $p=0.02$ ). En lo que respecta el análisis de polimorfismos de la región promotora de la quimiocina *MCP-1*, la fg de Adenina (A) fue 0.47 (25 alelos) mientras que la fg Guanina (G) fue 0.53 (29 alelos). En cuanto las frecuencias genóticas estas fueron de 0.51 para el genotipo AA, 0.30 el AG y de 0.19 en el GG. Al comparar los pacientes con el genotipo inflamatorio GG, se observó que la media de edad de estos pacientes es 5 y 6 años menor a los genotipos AA y AG respectivamente; con predominio en el sexo femenino. De los 5 pacientes con genotipo GG, solo uno tenía un factor de riesgo cardiovascular tradicional como antecedente.

**Conclusiones:** El análisis de polimorfismos de HLA, confirma frecuencias elevadas de los alelos HLA-DRB1\*01 y HLA-DRB1\*16 en asociación con el desarrollo de AAA en pacientes mexicanos mestizos, mientras que el HLA-DRB1\*08 parece ser protector. El polimorfismo de la región promotora de la quimiocina *MCP-1* permite identificar los genotipos que podrían representar marcadores de riesgo genético asociados a la patogénesis de Aneurismas Aórticos Abdominales. El entendimiento de estos mecanismos y la utilidad de pruebas genéticas podrían asistir en la identificación de un perfil inmunogenético en individuos en riesgo y aquellos pacientes que se beneficiarían de un tamizaje ultrasonográfico temprano de AAA, y de un seguimiento estrecho.

## A) Introducción

Un aneurisma aórtico se define como una dilatación focal o localizada igual o mayor al 50% del diámetro normal de esta arteria, y es el resultado de un proceso degenerativo que tiene como consecuencia el debilitamiento progresivo de la pared de la aorta y la subsecuente dilatación del segmento afectado. <sup>1</sup> Puede ocurrir a lo largo de su trayectoria en el tórax o el abdomen pudiendo tener una forma sacular o fusiforme. Sin embargo, su localización más frecuente es en el segmento abdominal, siendo la porción infrarrenal afectada con mayor frecuencia, comprendiendo aproximadamente el 90% de todos los casos de los aneurismas aórticos abdominales (AAA). <sup>1-3</sup> De acuerdo con esta definición, si conocemos que el diámetro normal a dicho nivel oscila entre 18 y 21 milímetros (mm), el diagnóstico se establece cuando el diámetro aórtico es mayor a 30 mm determinado por tomografía axial computarizada (TAC). <sup>4</sup> (Figuras 1 y 2).



**Figura 1.** Diagrama esquemático de un aneurisma aórtico abdominal fusiforme de localización infrarrenal con extensión bilateral de la patología aneurismática a las arterias ilíacas comunes.



**Figura 2.** Angiotomografía computarizada. Proyección axial demuestra la dilatación aneurismática de 8.9 por 7 centímetros (A); las flechas negra y blanca en la proyección coronal (B) y la reconstrucción en tercera dimensión (C), indican la compleja morfología del aneurisma aórtico infrarrenal en un paciente masculino de 70 años.

Entre los factores etiológicos de los aneurismas aórticos se incluyen enfermedades inflamatorias de los vasos conocidas como vasculitis tales como la arteritis de Takayasu y de células gigantes, colagenopatías como los Síndromes de Marfan, Ehlers Danlos y Loeys Dietz, otras causas incluyen la necrosis quística de la túnica media, agentes infecciosos y causas traumáticas. Sin embargo, aquellos que se asocian a la presencia de aterosclerosis comprenden el 90% de los casos; a este tipo de aneurisma aórtico se le conoce como aterosclerótico o degenerativo.<sup>1, 4</sup>

### **A) Epidemiología**

Los AAA degenerativos afectan principalmente individuos de edad avanzada, con una prevalencia estimada que oscila entre 3 hasta el 8% en adultos mayores de 65 años de acuerdo a diversas fuentes.<sup>5, 6</sup> Los principales factores de riesgo que se han asociado a la patogénesis de aneurismas aórticos incluyen el género masculino, la historia de tabaquismo activo o pasivo,<sup>5</sup> la presencia de enfermedades crónicas como hipertensión arterial sistémica, alteraciones del metabolismo de los lípidos o

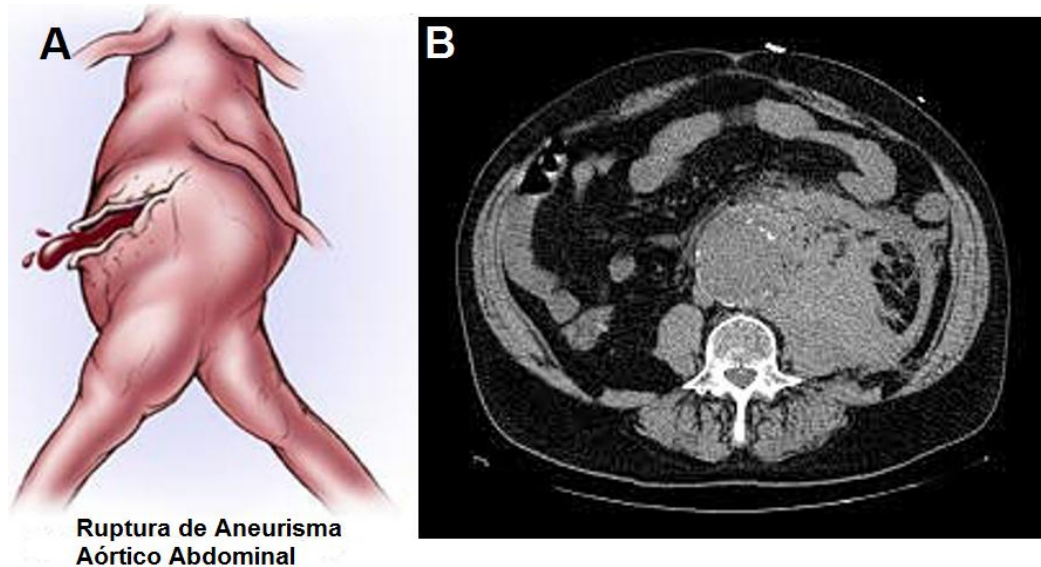


dislipidemias y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).<sup>7-9</sup> De particular importancia se encuentra los antecedentes heredo-familiares;<sup>9, 10</sup> un estudio llevado a cabo por el Departamento de Cirugía Cardiovascular de la Universidad de Lieja en Bélgica encontró una prevalencia del 13% entre familiares de primer grado y del 25% entre hermanos.<sup>11</sup> En Estados Unidos de América (E.U.A.) representa la décimo tercera causa de mortalidad y aproximadamente se reportan 4,500 muertes al año secundaria a la ruptura, además de las 1,400 muertes resultado de los 45,000 procedimientos que se llevan a cabo para tratarlos de forma electiva. Esta patología tiene una tasa de mortalidad estandarizada de 5.6 por cada 100,000 individuos mayores de 45 años.<sup>12</sup>

### **C) Manifestaciones Clínicas**

Los aneurismas aórticos abdominales son generalmente asintomáticos y se diagnostican en la mayoría de los casos de manera incidental mediante estudios de Imagenología como Ultrasonido abdominal, Tomografía Axial Computarizada (TAC) o la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) los cuales fueron indicados inicialmente con otra sospecha clínica. De manifestarse clínicamente, el síntoma principal es el dolor abdominal o lumbar; en otros casos el diagnóstico es a partir de complicaciones tales como embolia distal, trombosis *in situ*, o secundario a la compresión de estructuras adyacentes. Aquellos aneurismas que se presentan con ruptura representan una de las emergencias más importantes en la Cirugía Cardiovascular, debido a que un retraso en el diagnóstico se asocia con mortalidad elevada (superior al 80%) aún con la instalación de un manejo médico-quirúrgico oportuno en centros de excelencia.<sup>11-14.</sup>

(Figura 3)



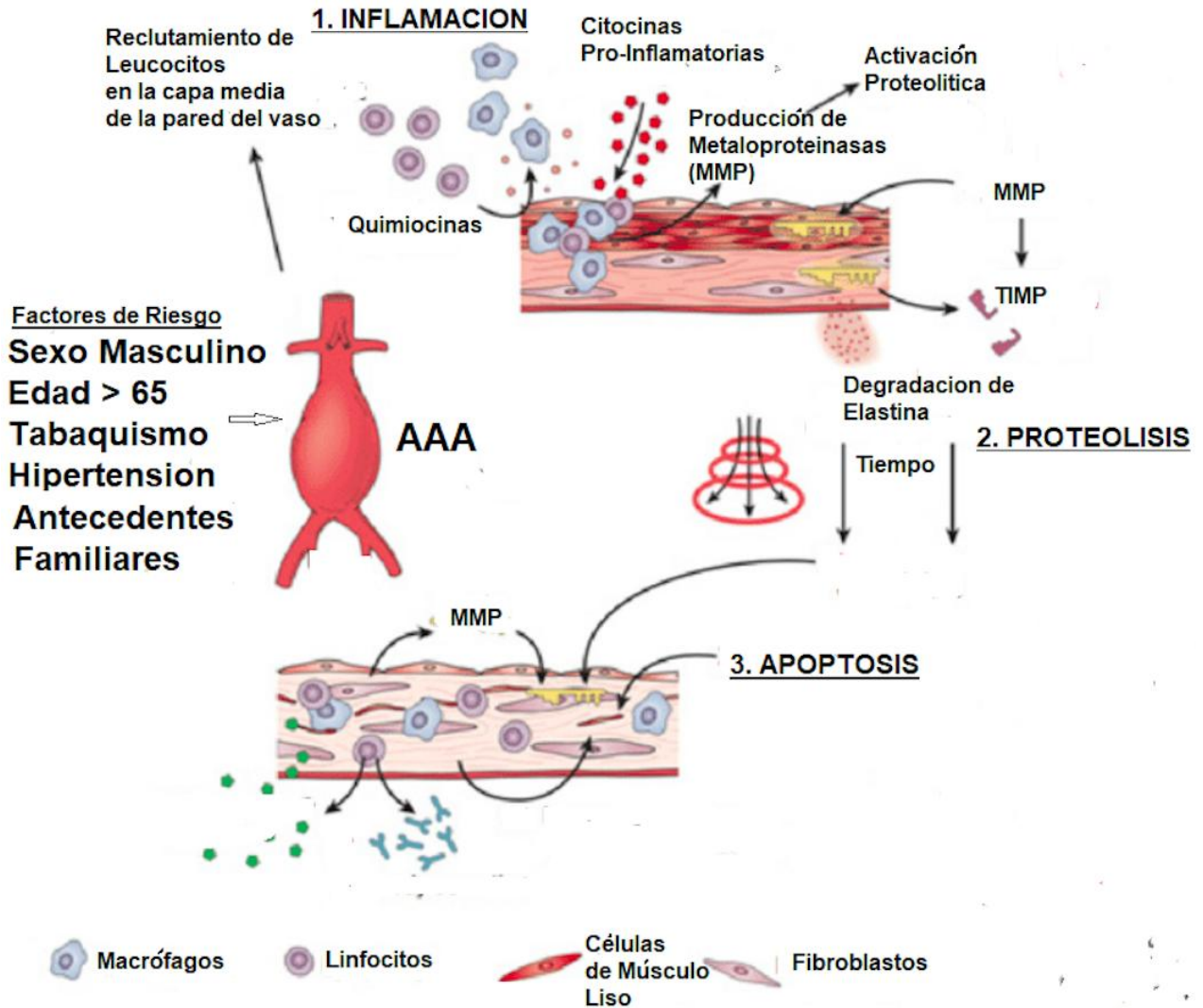
**Figura 3.** Diagrama de la ruptura de un aneurisma aórtico abdominal. (A). Tomografía Axial computarizada de abdomen demostrando una hemorragia retroperitoneal derecha. (B). *Figura modificada de <http://www.rad-inc.com/handler.cfm?event=practice,template&cpid=323>.*

Con el objetivo de reducir las muertes asociadas a esta enfermedad, las campañas de tamizaje ultrasonográfico han demostrado ser un método costo-efectivo para prevenir la ruptura de AAA y la mortalidad asociada.<sup>15</sup> La Sociedad de Cirugía Vascul ar (SVS) en E.U.A, en sus guías de práctica clínica actualizadas en 2018 y los servicios de medicina preventiva [The United States Preventive Services Task Force (USPSTF)] en dicho país recomiendan un estudio de ultrasonografía anual en pacientes con edad igual o superior a 65 años, particularmente aquellos con antecedente de tabaquismo o con historia familiar de AAA con un nivel de evidencia IA.<sup>15</sup> Existen reportes de que los casos de AAA familiar tienen una probabilidad superior a manifestarse con ruptura que los casos esporádicos de aneurismas aórticos,<sup>11</sup> de esto se deriva el interés de comprender los mecanismos genéticos y hereditarios involucrados en la patogénesis de esta patología.

El principio terapéutico desde siglos atrás consiste en aislar de la circulación al aneurisma eliminando así el riesgo de ruptura y muerte. Para ello, en la práctica contemporánea en la especialidad existen dos tipos de abordajes la reparación quirúrgica abierta y remplazo del segmento afectado por un injerto protésico; y la reparación endovascular, mínimamente invasiva que consiste en la introducción y despliegue de un dispositivo en la aorta a través de arterias periféricas (EVAR). Ambas técnicas han demostrado su seguridad y eficacia particularmente cuando la reparación se lleva a cabo de manera electiva, con una mortalidad menor al 3%. De esto la importancia del diagnóstico temprano. <sup>11-15</sup>

#### **D) Fisiopatología**

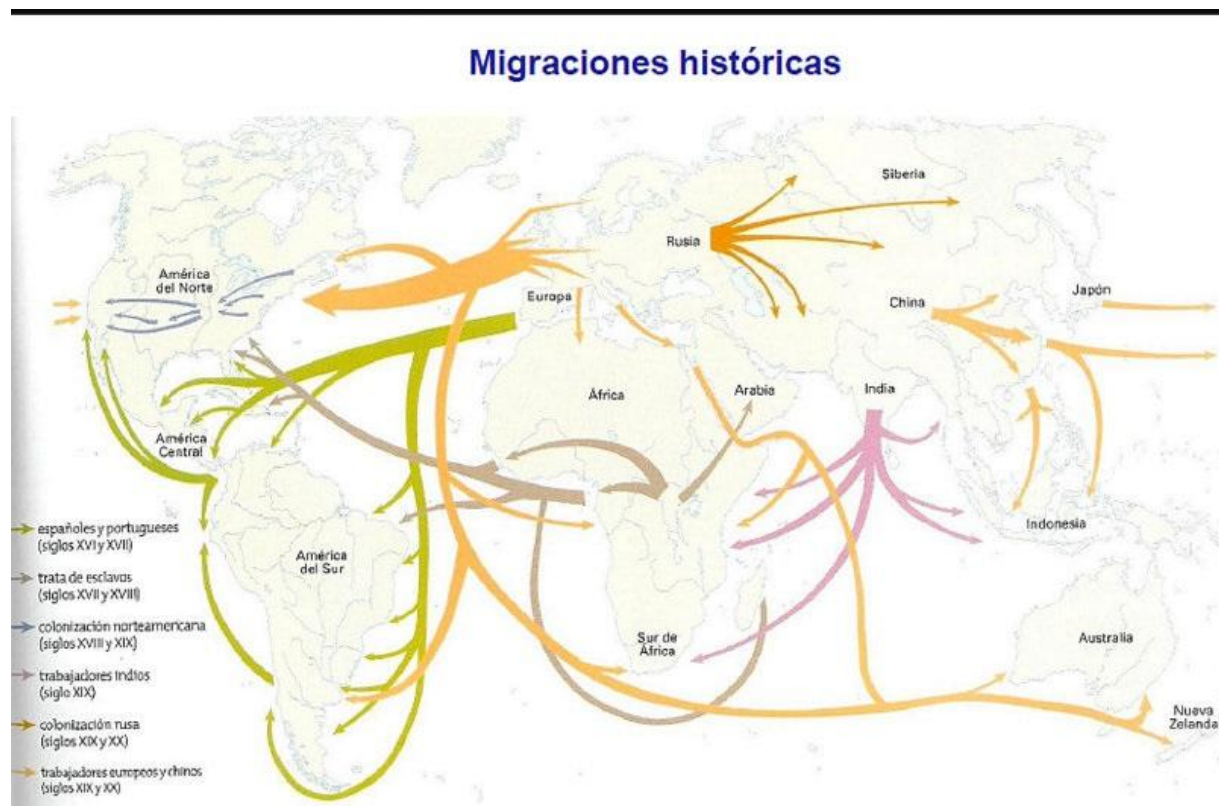
La fisiopatología consiste en tres aspectos esenciales que ocurren en la pared del vaso: Inflamación, Proteólisis y Apoptosis (Figura 4). <sup>16</sup> La inflamación de la pared del vaso es un proceso que tienen en común las enfermedades que afectan el sistema vascular de etiología autoinmune, y donde actualmente, intervenciones terapéuticas en fase experimental se encuentran dirigidas en estos objetivos. <sup>16-17</sup> Durante la proteólisis de la matriz extracelular participan las Metaloproteinasas 2 y 9 (MMP-2 y MMP-9) y elastasas, por último, ocurre la apoptosis de las células del músculo liso de la pared aórtica, produciendo el debilitamiento de la pared aórtica y la expansión progresiva del saco aneurismático hasta su ruptura.



**Figura 4.** Fisiopatología de los aneurismas aórticos abdominales: 1. Inflamación, 2. Proteólisis y 3. Apoptosis de las células del músculo liso produciendo el debilitamiento de la pared del vaso y la expansión progresiva del aneurisma. *Diagrama modificado de Braz J Cardiovasc Surg. 2017; 32(3):215-224.*

## E) Posibles factores autoinmunes y asociación con Antígenos Leucocitarios Humanos

Se han descrito marcadores genéticos relacionados con la susceptibilidad al desarrollo y al pronóstico de diversas enfermedades de etiología autoinmune <sup>17</sup>; entre los que está el complejo principal de histocompatibilidad (MHC por sus siglas en inglés) el cual se ubica en el brazo corto del cromosoma 6 (6p21), y cuenta con más de 300 genes muy polimórficos y que ocupan aproximadamente un total de 4 millones de pares de bases, por lo que se identifica como la región de mayor densidad en el genoma humano, esto como consecuencia de la exposición a diversos patógenos debido al incremento de movimientos poblacionales a lo largo de la historia del hombre (Ver la Figura 5).



**Figura 5.** Migraciones humanas históricas que han incrementado el polimorfismo genético del complejo principal de histocompatibilidad (MHC). *Diagrama cortesía del Dr. Julio Granados.*

Utilizando marcadores genéticos además es posible caracterizar el origen ancestral de un grupo étnico, esencialmente estos métodos involucran la caracterización de frecuencias génicas en las poblaciones de estudio por una variedad amplia de proteínas. Si las frecuencias de las proteínas polimórficas son conocidas, es posible determinar el porcentaje de genes en la población que proporcionan su ancestría.<sup>18</sup>

A mediados de la década de los noventa,<sup>19</sup> especialistas de la Universidad de Boston reportaron por primera vez en la literatura diferencias en el número de casos quirúrgicos de aneurismas aórticos que se intervenían en dicha institución entre los diferentes grupos étnicos de pacientes, los investigadores observaron que la enfermedad aterosclerótica oclusiva era más frecuente en pacientes afro-americanos que en caucásicos a pesar de que los AAA fueron más prevalentes en estos últimos; los autores concluyeron que los afro-americanos tienen al parecer un menor riesgo de desarrollar aneurismas aórticos. Los estudios genéticos de HLA en caucásicos mostraron que los alelos HLA-DRB1\*01 y HLA-DRB1\*15 se asocian con la patogénesis de aneurismas de la aorta abdominal en tanto que HLA-DQ3 parece ser protector.<sup>20-23</sup> Rasmussen también demostró además que el alelo B1\*02 el cual incluye B1\*15 y B1\*16, además de B1\*04 tienen una asociación significativa con el desarrollo de aneurismas.<sup>23</sup> Otros estudios llevados a cabo en Asia confirmaron que HLA-DRB1\*15 se asoció a riesgo genético en japoneses;<sup>24</sup> además, se encontró asociación del HLA-B52 y el HLA-DRB1\*15 con aneurismas aórticos concomitantes con enfermedad oclusiva aorto-iliaca en dicho grupo étnico,<sup>25</sup> Aunque también existe un reporte en Irlanda del Norte donde no se encontró asociación.<sup>26</sup> La evidencia científica

actualmente sugiere que la enfermedad aterosclerótica es más frecuente en padecimientos autoinmunes.<sup>27</sup>

Los AAA son una patología de etiología multifactorial, donde parece existir un fondo genético, en éste participan quimiocinas como la proteína quimiotáctica de monocitos (MCP-1) y cuyo polimorfismo en la región promotora determina sus niveles y la inflamación sistémica potencialmente deletérea, a ello se suman alteraciones genéticas de las metaloproteinasas (MMPs), proceso que apoya el posible fondo autoinmune.<sup>28</sup>

En el caso de aneurismas intracraneales se ha determinado que la expresión sostenida de MCP-1 en las células endoteliales presumiblemente juega un papel importante que promueve la infiltración de macrófagos, exacerbando la inflamación en la pared del vaso que conduce al debilitamiento del aneurisma, su expansión y su ruptura.<sup>29</sup>

Estudios *in vitro* en modelos murinos de aneurismas aórticos y carotídeos han demostrado el papel fundamental en el reclutamiento de monocitos en el sitio de inducción aneurismática.<sup>30, 31</sup> El polimorfismo de la región promotora de *MCP-1*, un gen bialélico en el brazo largo del cromosoma 17, hasta la fecha no se ha estudiado en individuos humanos con aneurismas aórticos.

## **F) Contexto de la Patología Aórtica Aneurismática en México**

En México, la literatura con respecto a la epidemiología de aneurismas aórticos y el impacto en salud pública es escasa. En el año 2007 la Secretaría de Salud reportó en los certificados de defunción, la ruptura de aneurismas aórticos como causa de muerte en un total de 4,021 individuos durante el periodo de tiempo comprendido del año 1984 al 2007; <sup>32</sup> lo cual posiblemente representa una cifra por debajo de la realidad debido a que esta enfermedad se manifiesta con muerte súbita y la mayoría de los pacientes no llegan a recibir atención en una institución con los recursos humanos, científicos y tecnológicos para determinar el diagnóstico. La Guía de Práctica Clínica (GPC) mexicana sobre Aneurismas Aórticos del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) publicada en 2015 reportó que en el 48% de los casos los aneurismas se descubren mediante una exploración física, el 37% incidentalmente mediante estudios de imagen solicitados por otra causa y 15% durante una intervención quirúrgica abdominal de urgencia. <sup>33</sup>

En el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubiran” (INCMNSZ) se implementó en el mes de octubre del 2015 un programa de escrutinio imagenológico en pacientes mayores de 65 años con factores de riesgo cardiovascular; los resultados han mostrado una tendencia similar a las prevalencias reportadas en estudios multicéntrico internacionales. <sup>34-37</sup> Hasta mayo de 2018 se ha detectado una prevalencia del 3.26% entre 1,042 individuos. <sup>34</sup> Además, estudios transversales llevados a cabo en el INCMNSZ mediante la búsqueda intencionada en estudios de tomografía axial computarizada de tórax y abdomen en 4,809 pacientes, reportaron una



prevalencia global del 5.63% de aneurismas aórticos, del total, el 2.8% se encontraron en la aorta torácica y 2.7% en la aorta abdominal. <sup>38, 39.</sup>

### **G) Posibles factores de protección en el mexicano mestizo.**

Resulta de interés recordar que los primeros grupos poblacionales en el continente americano provienen de una primera migración desde Asia hace aproximadamente 20,000 años la cual dio origen a la mayor parte de las poblaciones nativas de América. El polimorfismo genético del MHC se incrementó con la llegada de otros grupos étnicos (europeos y africanos) desde el descubrimiento de América y durante toda la colonización de la Nueva España lo que resultó en que el mexicano mestizo cuente con una proporción del 56% de genes de origen amerindio, 40% de genes caucásicos y 4% de genes africanos. <sup>40, 41</sup> Se ha planteado que los alelos amerindios podrían constituir un factor de protección para el desarrollo de aneurismas aórticos.

## **H) Planteamiento del Problema**

Los aneurismas aórticos abdominales representan una importante causa de mortalidad en adultos mayores de 65 años. La patogénesis de los aneurismas aórticos abdominales del tipo degenerativa continúa siendo poco clara, se conoce que es una enfermedad multifactorial. Sin embargo, estudios previos de frecuencias génicas de HLA del locus DRB1 se han asociado significativamente a la presencia de esta patología en europeos, japoneses y africanos, sugiriendo un posible mecanismo autoinmune, predisposición genética y susceptibilidad étnica. Sin embargo, en México este tipo de estudio en patología aórtica no tiene antecedente, lo cual no permite definir con certeza los alelos previamente descritos como de susceptibilidad, existiendo sin duda diferencias étnicas y diversidad genética como resultado del mestizaje.

## **I) Justificación**

En nuestro contexto, poco conocemos y escasa la literatura sobre la epidemiología de aneurismas abdominales aórticos en la población mestiza en México. Un estudio de prevalencia realizado en el INCMNSZ determinó en una muestra de 4,809 pacientes que la presencia de patología aórtica aneurismática fue de 5.63%.<sup>38</sup> Especialistas en el área de Angiología y Cirugía Vascul ar en México han planteado la hipótesis de que el polimorfismo genético en el mexicano secundario al mestizaje podría constituir un factor protector para el desarrollo de ciertas enfermedades incluyendo los aneurismas aórticos. De tal manera que el estudio de HLA en pacientes con enfermedad aneurismática edad avanzada representaría un marcador perfecto y determinante para identificar pacientes con susceptibilidad genética.

## **J) Hipótesis**

### ***Nula:***

La frecuencia génica de la expresión de los polimorfismos de HLA-DRB1\*01, HLA-DRB1\*04 y HLA-DRB1\*15 y HLA-DRB1\*16 en pacientes mexicanos mestizos con aneurismas aórticos abdominales es equivalente a la del grupo control.

### ***Alternativa:***

La frecuencia génica de la expresión de los polimorfismos de HLA-DRB1\*01, HLA-DRB1\*04 y HLA-DRB1\*15 y HLA-DRB1\*16 en mexicanos mestizos pacientes con aneurismas aórticos abdominales es diferente a la del grupo control.

## **K) Objetivos**

### ***Objetivo principal:***

- Determinar las frecuencias génicas (fg) del locus HLA-DRB1 en pacientes mexicanos mestizos con aneurismas de aorta abdominal y comparar estas con las fg de un grupo control en quienes se ha descartado esta enfermedad mediante tomografía axial computarizada del abdomen.
- Investigar posibles asociaciones de susceptibilidad y protección de las variables génicas obtenidas al desarrollo y progresión de la enfermedad en la población mexicana estudiada.

### **Objetivos secundarios.**

- Determinar las variables génicas y genotípicas, de la expresión de polimorfismos de la región promotora de la proteína quimiotáctica de monocitos (*MCP-1*) (rs1024611) en pacientes con AAA mediante un estudio piloto con el objetivo de generar una hipótesis.
- Definir las variables demográficas y comorbilidades de las poblaciones estudiadas.
- Establecer mediciones de las dimensiones de los aneurismas aórticos en su diámetro anteroposterior y su extensión longitudinal.
- Investigar la variable génica de los locus estudiados que se asocien a la presencia de la enfermedad en una edad más temprana, predominancia por sexo o con características morfológicas del aneurisma (forma sacular o fusiforme y dimensiones).

- Estudiar la morbi-mortalidad perioperatoria y la supervivencia a largo plazo de los pacientes que han sido intervenidos ya sea por cirugía Abierta o Endovascular (EVAR) en el servicio de Angiología y Cirugía Vascular de los pacientes del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) con las fg asociadas al desarrollo de Aneurismas Aórticos Abdominales.

## **L) Metodología: Diseño General**

Estudio Observacional de Casos y Controles en la población mexicana mestiza con diagnóstico de AAA (Casos) perteneciente a la consulta del servicio de Angiología y Cirugía Vascular del INCMNSZ quienes ya han sido intervenidos con el objetivo de eliminar el riesgo de ruptura o que se encuentran en periodo de seguimiento con el objetivo de monitorizar la tasa de crecimiento de los AAA. El grupo control son pacientes del INCMNSZ, pertenecientes al mismo grupo étnico que constituye un control histórico institucional. Se determinarán las frecuencias génicas (fg) del locus de HLA-DRB1 fg y frecuencias genotípicas de la región promotora de *MCP-1* y se establecerán comparaciones de los grupos de estudio de las mediante pruebas de estadística no paramétrica, que incluyen la prueba de Chi Cuadrada y la prueba exacta de Fisher. Se calculará la razón de momios (OR) mediante el programa estadístico STATA versión 14.1.

## **M) Obtención de las muestras**

Previa obtención de consentimiento informado, se tomaron muestras de sangre periférica en los sujetos de estudio, posteriormente se extrajo el Acido Desoxirribonucleico genómico (gADN), mediante columnas de afinidad negativa con el kit comercial (Qiagen), se determinó su integridad y pureza mediante nanodrop y electroforesis en un Gel de Agarosa al 1%. Se llevó a cabo reacción en cadena de polimerasa (PCR) de punto-final del locus HLADRB1 con primer genérico. Se verificó la amplificación de fragmentos por medio de electroforesis en Gel de Agarosa al 1%. Se desnaturalizó el producto de PCR y se realizó la hibridación con perlas de poliestireno

que contienen sondas específicas para los grupos de alelos. La hibridación se realizó en un horno a 60 grados centígrados, completando un total de 30 ciclos y posteriormente se hicieron los lavados con etanol al 70%. Una vez completado el proceso de lavado, se llevó a cabo la conjugación con estraptavidina y finalmente se completó la lectura con el sistema Luminex® 200™.

Por otro lado, la genotipificación de los polimorfismos de un solo nucleótido en el gen *MCP-1* se realizó por PCR en tiempo real, utilizando sondas TaqMan (pre-designed SNP Genotyping Assays, Life Technologies, Applied Biosystems, CA, USA). La amplificación se completó con el equipo StepOnePlus Real-Time PCR Systems (Life Technologies, Applied Biosystems, CA, USA).

## **Definición de Variables y Desenlaces**

Aneurisma Aórtico Abdominal: Dilatación focal e irreversible localizada en la aorta superior al 50% del diámetro normal del vaso y localizado por debajo de la cúpula diagramática, con o sin extensión a las arterias iliacas.

Aneurisma Fusiforme: Aquella dilatación que ocupa la pared del vaso en toda su circunferencia.

Aneurisma Sacular: Dilatación que afecta o involucra solo un segmento de la pared.

Mexicano Mestizo: Individuo nacido en la República Mexicana con al menos dos generaciones (padre, madre y abuelos biológicos) con la nacionalidad mexicana por nacimiento. Se analizaron además las variables como edad, sexo, antecedentes personales no patológicos y patológicos, las dimensiones de los aneurismas aórticos. Así como variables clínicas (síntomas, signos, comorbilidades), trans-operatorias (técnicas), complicaciones, reintervenciones y supervivencia.

Alelo: Cada una de las formas alternativas que puede tener un mismo gen que se diferencian en su secuencia las cuales puede manifestar en modificaciones concretas de la función.

Polimorfismo: Se refiere a la presencia de más de un alelo de un gen en la población.

Frecuencia génica: Proporción que se observa de un alelo específico respecto al conjunto de los que ocupa un locus determinado en la población estudiada.

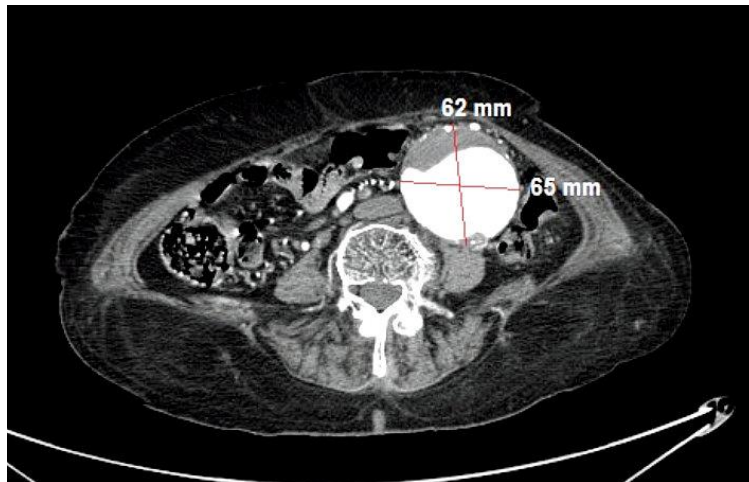
Frecuencia genotípica Es la proporción de genotipos en una población estudiada.



## N) Criterios de Selección

### Definición de Grupo de Casos:

Población mexicana mestiza de edad igual o mayor a 65 años, perteneciente a cualquier sexo con diagnóstico confirmado de aneurisma aórtico abdominal (AAA) mediante una TAC de etiología degenerativa. (Figura 6).



**Figura 6.** Tomografía Axial computarizada con contraste la cual demuestra la presencia de un aneurisma aórtico abdominal con un diámetro anteroposterior (AP) de 62 milímetros (mm). *Permiso para su reproducción de parte Permanyer Hinojosa CA, Bermudez-Serrato K, Anaya-Ayala JE, et al. Relevance of ultrasonographic screening programs in the detection of aortic aneurysms Cir Cir. Artículo en prensa.*

### Definición de Grupo Control:

Población mexicana mestiza, perteneciente a cualquier sexo, a quien se le ha descartado la presencia de un aneurisma aórtico.

### **Criterio de Exclusión**

Paciente con diagnóstico de AAA en quien se ha confirmado que la patología aneurismática es secundaria a cualquiera de las siguientes causas: Traumáticas, infecciosas, vasculitis (arteritis de Takayasu o arteritis de células gigantes), enfermedades de tejido conectivo o colagenopatías (Síndrome de Marfan, Ehlers Danlos, Loeys Dietz).

Paciente que no se encuentre en la facultad de firmar el consentimiento informado.

### **Criterios de eliminación**

Muestra hemolizada o insuficiente. Paciente que no acepta la toma de una segunda muestra, esto en caso que la primera muestra sea subóptima para su estudio.

## O) Determinación del tamaño de muestra

Las frecuencias génicas (fg) en la población mexicana mestiza (fg) del locus HLDRB1 ya han sido estudiadas y publicadas por miembros del equipo de investigación en el INCMNSZ, <sup>40, 41</sup> además existe conocimiento previo de los alelos que se han estudiado e identificados en asociación genética con AAA en otros grupos étnicos. Información que nos permite estimar el tamaño de muestra utilizando la fórmula para diferencia de dos proporciones con un nivel de confianza de 95% y potencia de 80%.

$$n = \left[ \frac{Z_{\alpha} \sqrt{2\pi_1(1-\pi_1)} - Z_{\beta} \sqrt{\pi_1(1-\pi_1) + \pi_2(1-\pi_2)}}{\pi_1 - \pi_2} \right]^2$$

Donde:

n: tamaño de la muestra estimado

$Z_{\alpha}$  = ( $\alpha=0-05$ ) 1.96

$Z_{\beta}$  = ( $\beta=0.10-0-20$ ) = -1.645, 084

$\pi_1$ : proporción del grupo 1 (0.25)

$\pi_2$ : proporción del grupo 2 (0.05)

$\pi_1 - \pi_2$  = diferencia entre proporción de los grupo 1 y 2 significativa (proporción estimada 0.20)

Conociendo que las fg en la población mexicana de HLDRB1DR\*01 es de 0.05, HLDRB1DR\*15 es 0.025. <sup>38</sup> Para poder estimar si la proporción del grupo 1 (25%) es distinta de la proporción del grupo 2 (5%) necesitaremos tomar 48 individuos de cada

grupo. Se estimaron además un 10% de posibles pérdidas durante el proceso de tipificación molecular sumando con un total de 52 por grupo. Para el estudio de las variables génicas y genotípicas de *MCP-1* se llevó a cabo un estudio piloto con 27 pacientes pertenecientes al grupo de casos de la muestra estimada con el objetivo de generar una hipótesis relacionada con esta patología.

### **P) Manejo de Muestras**

Las muestras de sangre recolectadas fueron enviadas al laboratorio en un tubo de ensayo Vacutainer™ con anticoagulante reversible por paciente, estos han sido etiquetados para su identificación con el nombre del paciente, edad y número de registro y almacenados a 2 grados centígrados. El ADN extraído se mantiene en congelación en el Departamento de Cirugía Experimental del INCMNSZ bajo llave.

### **Q) Análisis Estadístico**

Las frecuencias génicas y genotípicas fueron calculadas y expresadas en proporciones en los grupos de estudio, casos y controles. Estas se analizaron y se compararon mediante pruebas estadísticas no paramétricas como la prueba exacta de Fisher y Chi Cuadrada con el objetivo de determinar si existen diferencias significativas entre los grupos. Todos los valores de p fueron calculados a dos colas, se calculó la razón de momios (OR) para estimar el tamaño del efecto y los valores serán considerados significativos cuando  $p < 0.05$ . Se llevó a cabo estadística descriptiva, las variables clínicas continuas se expresaron como medias y desviación estándar, las variables categóricas con número o porcentaje. Se utilizó la prueba de “t” de Student para comparar medias, regresión logística para determinar otros factores asociados al desarrollo de la enfermedad. Todas las pruebas estadísticas fueron realizadas con programa estadístico software STATA versión 14.0.

### **R) Financiamiento**

Organismo patrocinador: Fundación para la Salud y la Educación “Dr. Salvador Zubirán” AC

El protocolo de investigación en extenso se sometió y se aprobó por el comité de Investigación y el Comité de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán con el número 1913. (Figura 7)

**DR. CARLOS A. HINOJOSA BECERRIL**  
**INVESTIGADOR PRINCIPAL**  
**DIRECCIÓN DE CIRUGÍA**  
**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN**  
**AV. VASCO DE QUIROGA No. 15**  
**COL. BELISARIO DOMÍNGUEZ SECCIÓN XVI**  
**CIUDAD DE MÉXICO, C.P. 14080**  
**P R E S E N T E**

*Por este medio, nos permitimos informarle que el **Comité de Investigación**, así como el **Comité de Ética en Investigación** del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, han revisado y aprobado el Protocolo de Investigación Clínica, titulado:*

**"ANÁLISIS GENÉTICO DEL POLIMORFISMO DE ANTÍGENOS LEUCOCITARIOS HUMANOS (HLA) Y DE LA REGIÓN PROMOTORA DE QUIMIOCINA MCP-1 EN LA POBLACIÓN MEXICANA MESTIZA CON ANEURISMAS DE LA AORTA ABDOMINAL"**

**Figura 7.** Imagen del fragmento de la carta de aprobación del protocolo de investigación en el INCMNSZ.

## S) Resultados

Se llevó a cabo un estudio de Casos y Controles, la tipificación molecular de HLA se completó para el locus DRB1 por la técnica de Oligonucleótido de secuencia Específica, PCR punto final. Se analizaron muestras en 39 pacientes, de los cuales 28 (72%) pertenecen al sexo masculino y 11 (28%) al sexo femenino, la media de edad del grupo de casos fue de 72 años con una desviación estándar de 9 (Tabla 1).

Variable	Número de Pacientes Total 39 (%)
Sexo Masculino	28 (72%)
Sexo Femenino	11 (28%)
Antecedente de Tabaquismo	30 (77%)
<b>Comorbilidades</b>	
Hipertensión arterial sistémica	29 (74%)
Dislipidemias	20 (51%)
Diabetes Mellitus tipo 2	11 (28%)
Cardiopatía Isquémica	9 (23%)
Enfermedad Arterial Periférica	5 (13%)
Enfermedad Cerebrovascular	2 (5%)

**Tabla 1** Variables demográficas y comorbilidades de los pacientes mexicanos mestizos con Aneurismas de Aorta Abdominal (AAA).

Los alelos fueron comparados con 99 pacientes del grupo control histórico institucional pertenecientes al mismo grupo étnico. De los 78 alelos pertenecientes al grupo de casos y los 198 del grupo control analizados, al llevarse a cabo comparaciones se observó que la fg del tipo HLA-DRB1\*01 fue del 0.128 en el grupo de casos comparado con el 0.05 del grupo control [ $p=0.03$ , OR 2.6, con intervalos de confianza (IC) al 95% de 1.04-6.5], la fg HLA-DRB1\*16 fue de 0.115 en el grupo control y de 0.025 en el de casos ( $p=0.002$ , OR 5, IC al 95% de 1.6-16.9). Por otra parte, se encontró que el tipo HLADRB1\*08, el cual es el alelo que se reporta con mayor frecuencia en el mexicano

mestizo, tuvo una fg de 0.064 en el grupo de casos, comparado con el 0.165 del grupo de controles, sugiriendo un efecto protector significativo ( $p=0.02$ , IC al 95% de 0.13-0.91). La tabla 2 resume el análisis comparativo de las frecuencias génicas obtenidas de los grupos de estudio.

HLA	Casos (AAA)		Controles		Valor de P	Razón de momios (OR)	Intervalos de Confianza (IC) 95%
	Número de Alelos	Frecuencia Génica	Número de Alelos	Frecuencia Génica			
DRB1*04	17	0.218	47	0.237	0.85	0.89	0.47-1.68
DRB1*01	10	0.128	10	0.050	0.03*	2.6	1.04-6.5
DRB1*16	9	0.115	5	0.025	0.002*	5	1.6-16.9
DRB1*07	8	0.103	22	0.111	1.00	0.91	0.39-2.15
DRB1*11	7	0.090	20	0.100	0.95	0.88	0.35-2.17
DRB1*15	7	0.090	13	0.065	0.66	1.4	0.45-3.96
DRB1*14	6	0.077	21	0.105	0.61	0.70	0.27-1.81
DRB1*08	5	0.064	33	0.165	0.004*	0.34	0.13-0.91
DRB1*13	3	0.038	10	0.050	0.91	0.75	0.20-2.81
DRB1*03	3	0.038	11	0.055	0.78	0.68	0.18-2.50
DRB1*10	1	0.013	1	0.005	1.00	2.55	0.16-41.42
DRB1*09	1	0.013	3	0.015	1.00	0.84	0.08-8.24
DRB1*12	1	0.013	2	0.010	1.00	1.27	0.11-14.24
TOTAL:	78		198				

**Tabla 2.** Frecuencia génica del locus HLA-DRB1 en pacientes mexicanos mestizos con aneurismas de la aorta abdominal (AAA).

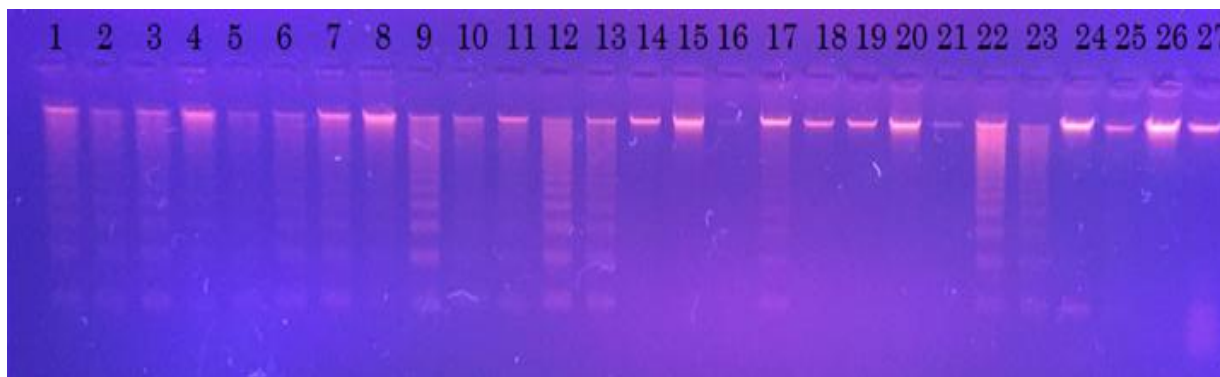
La investigación de las variables génicas asociadas a riesgo genético para el desarrollo de aneurismas aórticos en el grupo de casos, no demostró asociación significativa al desarrollo de la enfermedad a una edad menor de 65 años, predominancia por sexo o a las dimensiones, características morfológicas del saco aneurismático o a una progresión más acelerada del aneurisma o la supervivencia a corto o mediano plazo de los pacientes.

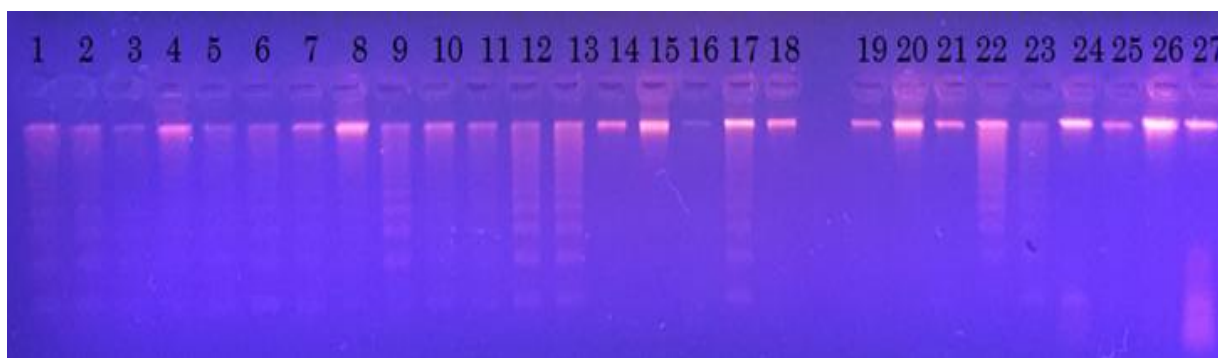


En lo que respecta el análisis de polimorfismos de la región promotora de la quimiocina *MCP-1*, se completó el estudio piloto en 27 pacientes con AAA (figura 4), los cuales 18 (67%) pacientes pertenecían al sexo masculino y 9 (33%) al sexo femenino, la media de edad del grupo de casos fue de 74 años con una desviación estándar de 12. En la tabla 3 se resumen las variables demográficas y comorbilidades de los pacientes estudiados.

Variable	Número de Pacientes (%)
Sexo Masculino	18 (67%)
Sexo Femenino	9 (33%)
Antecedente de Tabaquismo	20 (74%)
<b>Comorbilidades</b>	
Hipertensión arterial sistémica	20 (74%)
Dislipidemias	14 (52%)
Cardiopatía Isquémica	10 (45%)
Diabetes Mellitus tipo 2	7 (25%)
Insuficiencia Renal Crónica	2 (7%)

**Tabla 3.** Variables demográficas y comorbilidades de los pacientes mexicanos mestizos con Aneurismas de Aorta Abdominal (AAA).





**Figura 8.** Electroforesis de las muestras de los 27 pacientes con aneurismas incluidos en el análisis genético de la región promotora de *MCP-1*.

La fg de A fue 0.47 (25 alelos) mientras que la fg de G fue 0.53 (29 alelos). En cuanto las frecuencias genotípicas estas fueron de 0.51 para el genotipo AA, 0.30 el AG y de 0.19 en el GG, ver tabla 4.

Genotipo	Total 27 (100%)	Sexo	Media de Edad	Dislipidemia
AA	14 (51)	71% Sexo Masculino	72 años	71%
AG	8 (30%)	75% Femenino	73 años	63%
GG	5 (19%)	80% Femenino	67 años	20%

**Tabla 4.** Frecuencias genotípicas de la región promotora de quimiocina MCP-1, proporción con respecto al sexo, la media de edad y la presencia de dislipidemias como antecedente personal patológico.

Al comparar los pacientes con el genotipo inflamatorio GG, se observó que la media de edad de estos pacientes es 5 y 6 años menor a los genotipos AA y AG respectivamente y con predominio en el sexo femenino. De los 5 pacientes con dicho genotipo, solo uno tenía un factor de riesgo cardiovascular como antecedente (trastorno del metabolismo de los lípidos), sin embargo, el análisis estadístico de las variables no demostró significancia estadística.

## T) Discusión

La patogénesis de los aneurismas aórticos abdominales parece ser el resultado de la interacción de factores ambientales y genéticos.<sup>15-17</sup> La fisiopatología consiste en la degradación de la matriz extracelular de la pared de los vasos sanguíneos en respuesta a la presencia de células inflamatorias como macrófagos y linfocitos, además de la activación de enzimas proteolíticas principalmente las metaloproteinasas (MMPs) 2 y 9. La inflamación resultante genera destrucción de tejido y necrosis de las células del músculo liso, perpetuando los ciclos de inflamación.

La elevación de citosinas, la activación de proteólisis y la elevación de los títulos de inmunoglobulinas se ha reportado en el tejido aórtico humano afectado, por lo que la hipótesis de un posible mecanismo de autoinmunidad se ha planteado por investigadores en el área, similar a lo que ocurre en las vasculitis que afectan los vasos de gran calibre.<sup>20</sup>

Los antígenos leucocitarios humanos son un componente de la respuesta inmune en los que estudios iniciales en la década de los noventa y principio del siglo 21 se concentraron, diferentes alelos de HLA-DRB1 demostraron una asociación significativa en la presencia de aneurismas aórticos abdominales en la población estudiada (Ver tabla 5).<sup>20-25</sup>

	Autor	Año de Publicación	HLA Isotipo y Subtipo	Casos/Controles	Valor p	Razón de Momios (OR)	Intervalos de Confianza al 95% (IC)
1	Hiroshe	1995	HLA-DR B1*2 (15)	46/50	p< 0.005	NR	NR
2	Tilson MD	1996	HLA-DR B1*02 HLA-DR B1*12*	5/NR	p=0.037 p=0.023	NR	NR
3	Rasmussen	1997	HLA-DR B1*15 HLA-DR B1*0404	37/90	p < 0.05	NR	NR
4	Rasmussen	2001	HLA-DR B1*02, HLA-DR B1*04 HLA-DR B1*02, HLA-DR B1*04	102/118 Degenerativo 40/118 Inflamatorio	p =.03 p =.01	2.2 2.0 3.7 2.5	1.2-4.0; 1.1-3.7, 1.8-8.6; 1.1-6.1
5	Rasmussen	2002	HLA-DR B1*02, HLA-DR B1*04	96/NR	NR	2.5 2.1	1.4 a 4.3 1.2 a 3.7
6	Monux	2003	HLA-DR B1*04	72/380	p=0.02	2.59	1.4 a 4.3
7	Sugimoto	2003	HLA-DR B1*1502.	46/40	p < 0.005	NR	NR
8	Badger	2007	HLA-DRB1*03, *04, *07, and *15	241/NR	NS	NR	NR
9	Anaya-Ayala	2019	HLA-DRB1*01. HLA-DRB1*16	39/99	p=0.03 p=0.002	2.6 5	1.04-6.5 1.6-16.9

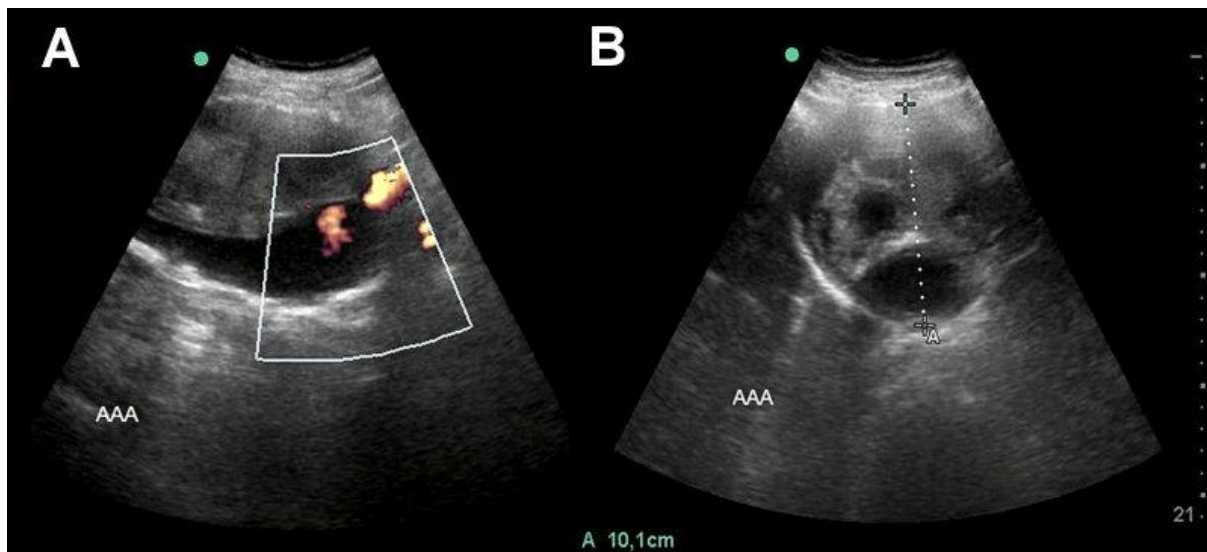
NR=No reportado

**Tabla 5.** Publicaciones acerca de la posible asociación de subtipos de HLA-DRB y la presencia de Aneurismas Aórticos Abdominales y comparación con nuestro estudio.

Se conoce que los genes de HLA son altamente polimórficos y la distribución varía entre los diferentes grupos étnicos y que estos polimorfismos se asocian a enfermedades vasculares de posible etiología autoinmune.<sup>15</sup> Los antígenos de clase II en las diferentes poblaciones son de importancia para determinar asociación de enfermedades, en el área de la medicina de trasplantes y en estudios antropológicos.<sup>18</sup> La frecuencia de posibles bloques entre los grupos étnicos de diferente ancestría y dichas variaciones podrían resultar de utilidad para medir la diversidad genética del complejo principal de histocompatibilidad y de los pacientes con aneurismas aórticos, pero estas asociaciones no parecen universales en todas las poblaciones investigadas.<sup>15-20</sup> Estamos de acuerdo que el mecanismo mediante el cual ciertos alelos de HLA pueden proporcionar susceptibilidad es multifactorial, sin embargo estos factores genéticos parecen constituir un factor importante posiblemente contribuyendo con otros

genes y factores ambientales en el desarrollo de enfermedades en cierto grupo de pacientes.

Los aneurismas aórticos son típicamente asintomáticos hasta que ocurre la ruptura, por lo que la detección temprana y tratamiento electivo elimina este riesgo. La Sociedad de Cirugía Vascul ar en Estados Unidos de América recomienda que pacientes con factores de riesgo cardiovascular se sometan a un programa de seguimiento ultrasonográfico con el objetivo de evitar una ruptura fatal.<sup>15</sup> La vigilancia actualmente depende de mediciones seriales del diámetro aneurismático el cual hasta el momento es el único predictor clínico de expansión y ruptura del AAA.



**Figura 9.** Evaluación Ultrasonográfica abdominal donde se revela la presencia de un aneurisma aórtico abdominal en un paciente masculino de 68 años (A), la medición anteroposterior mediante este método determinó la presencia de una lesión de 10.1 cm. *Permiso para su reproducción de parte Permanyer Hinojosa CA, Bermudez-Serrato K, Anaya-Ayala JE, et al. Relevance of ultrasonographic screening programs in the detection of aortic aneurysms Cir Cir. Artículo en prensa.*<sup>42</sup>

Los programas de tamizaje actuales se basan primariamente en características demográficas y factores de riesgo tradicionales. Consideramos que un estudio más profundo en la genómica sin duda asistirá en las decisiones clínicas sobre que pacientes deben ser estudiados de manera prematura y decidir el momento del tratamiento quirúrgico electivo. Nuestros resultados han demostrado asociaciones del HLA-DRB1\*01 y DRB1\*16 en la población mexicana a desarrollar esta enfermedad, al igual que ha sido previamente reportado en otros grupos poblacionales, trascendiendo la etnicidad; sin embargo debido al limitado tamaño de muestra, con pacientes pertenecientes al valle de México, consideramos que la confirmación en un grupo mayor o genéticamente distinto en nuestro país es importante. De confirmarse, podría resultar de utilidad la obtención y estudio de un perfil inmunogenético con los escrutinios ultrasonográficos con el objetivo de determinar la susceptibilidad a desarrollar Aneurismas Aórticos Abdominales. El impacto clínico de estas técnicas no se ha estudiado previamente a nivel internacional y requerirá un estudio a mayor escala. El alelo más frecuente en la población mexicana es el HLA-DRB1\*08 el cual es de origen amerindio no solo del centro de México, también se ha encontrado en la población amerindia en Norte y Sudamérica, este alelo como lo observamos en nuestros resultados posiblemente constituye un factor protector en el desarrollo de aneurismas aórticos abdominales en la población mexicana mestiza.<sup>43-45</sup>

Por otro lado, nos interesó investigar mediante un estudio piloto, las variables genóticas de la región promotora de la quimiocina MCP-1 por su posible papel en el fenómeno inflamatorio del mecanismo de lesión de la pared aórtica; el genotipo inflamatorio GG produce altas concentraciones séricas de MCP-1 incrementando el

estado inflamatorio sistémico y con ello el riesgo a desarrollar tuberculosis diseminada. Se ha identificado frecuencias elevadas de genes IS6110 y HupB en el tejido aórtico de pacientes con arteritis de takayasu, sugiriendo un posible vínculo entre infección por *Mycobacterium tuberculosis* previo al daño arterial, <sup>46</sup> mecanismo que podría estar presente en el desarrollo de aneurismas aórticos del tipo degenerativo.

## **Conclusiones**

El análisis genético confirma frecuencias incrementadas de HLA-DRB1\*01 y de HLA-DRB1\*16 en asociación con aneurismas de la aorta abdominal, mientras que el HLA-DRB1\*08 parece ser protector. En adición, el polimorfismo de la región promotora de la quimiocina *MCP-1* permite identificar los genotipos que podrían representar marcadores de riesgo genético de inflamación sistémica asociados a la patogénesis de Aneurismas Aórticos Abdominales.

Un entendimiento más profundo de los mecanismos inmunogenéticos en la patogénesis de esta enfermedad podría asistir en la identificación de un perfil inmunogenético en individuos en riesgo en los diferentes grupos étnicos y quienes podrían beneficiarse de tamizaje ultrasonográfico temprano, además de vigilancia clínica estrecha

**Anexos.** Declaración de Investigadores y forma de conflicto de interés utilizada en el protocolo.



Lunes 23 de mayo de 2016

## DECLARACIÓN DE LOS INVESTIGADORES

**TÍTULO DEL PROYECTO:** "Análisis genético del polimorfismo de antígenos leucocitarios humanos (HLA) y de la región promotora de quimiocina MCP-1 en la población mexicana mestiza con aneurismas de la aorta abdominal"

**Número de Registro CIIBH:**

Los investigadores que participamos en el proyecto arriba mencionado sometemos voluntariamente a evaluación dicho proyecto ante el Comité Institucional de Investigación Biomédica en Humanos y libremente declaramos:

- Que conocemos todos los aspectos del estudio y contamos con la capacidad de llevarlo a buen término.
- Que la revisión minuciosa de los antecedentes científicos del proyecto justifican su realización y nos comprometemos a mantener un estándar científico elevado que permita obtener información útil para la sociedad.
- Que conocemos los riesgos potenciales a los que exponemos a los pacientes invitados a participar los cuales hemos discutido ampliamente con ellos.
- Que pondremos el bienestar y la seguridad de los pacientes sujetos de investigación por encima de cualquier otro objetivo.
- Que nos conduciremos de acuerdo con los estándares de comportamiento ético y científico aceptados nacional e internacionalmente según lo establecido por la Ley General de Salud y el Reglamento en Materia de Investigación para la Salud de México, las Pautas Éticas Internacionales para la Investigación y Experimentación Biomédica en Seres Humanos de la Organización Mundial de la Salud así como la Declaración de Helsinki.

Nombre del investigador	Firma
Dr. Carlos Arturo Hinojosa Becerril	
Dr. Julio Granados Arriola	
Dr. Javier Eduardo Anaya Ayala	





## CONFLICTO DE INTERESES

**TITULO DEL PROYECTO: “ANALISIS GENETICO DEL POLIMORFISMO DE ANTIGENOS LEUCOCITARIOS HUMANOS (HLA) Y DE LA REGION PROMOTORA DE LA QUIMIOCINA MCP-1 EN LA POBLACION MEXICANA MESTIZA CON ANEURISMAS DE LA AORTA ABDOMINAL”**

**Número de Registro C.E.I.:**

**¿El investigador incurre en algún de los siguientes Conflictos de Interés?**

**En caso de que exista o no el conflicto explicar el por qué.**

<b>CONFLICTO DE INTERESES</b>	<b>SI</b>	<b>NO</b>
<b>El interés es un valor superior a 10.000 dólares EE.UU. cuando se suman a la familia inmediata.</b>		
<b>El interés no se cotiza en la bolsa de valores.</b>		
<b>El valor de los intereses aumentara o disminuirá dependiendo de los resultados de la investigación.</b>		
<b>Es dueño del 5% o más de la compañía que patrocina el estudio ó del producto generado (o 1% si participan otros familiares)</b>		
<b>El interés está relacionado con una patente, marga registrada, derecho de autor, o acuerdo de licencia.</b>		

**Fecha:**

**Investigador Nombre y Firma:**

**Recibido:**

## Referencias Bibliográficas

1. Zankl AR, Schumacher H, Krumsdorf U, Katus HA, Jahn L, Tiefenbacher CP. Pathology, natural history and treatment of abdominal aortic aneurysm. *Clin Res Cardiol* 2007;96:140-51
2. Johnston KW, Rutherford RD, Tilson MD. Suggested standards for reporting on aortic aneurysms. *J Vasc Surg* 1991; 13:452.
3. Cosford Pa, Leng GC. Screening for abdominal aortic aneurysm. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;(2):CD002945.
4. Aboyans V, Bataille V, Bliscaux P, Ederhy S, Filliol D, Honton B, Kurtz B, Messas E, Mohty D, Brochet E, Kownator S. Effectiveness of Screening for Abdominal Aortic Aneurysm During Echocardiography. *Am J Cardiol*. 2014,1;114(7):1100-4. doi: 10.1016/j.amjcard.2014.07.024. Epub 2014.
5. Lederle FA. Ultrasonographic screening for abdominal aortic aneurysms. *Ann Intern Med*. 2003; 131:741-7.
6. Singh K, Bønaa KH, Jacobsen BK, Bjørk L, Solberg S. Prevalence of and risk factors for abdominal aortic aneurysm in a population based study: the Tromso study. *Am J Epidemiol* 2001; 154 (3) 236-244.
7. Blanchard JF, Armenina HK, Friensen PP. Risk factors for abdominal aortic aneurysm: Results of a case-control study. *Am J Epidemiol*. 2000; 151:575-83.
8. Brady AR, Thompson SG, Fowkes FG, Greenhalgh RM, Powel JT. Abdominal aortic aneurysm expansion: Risk factors and time intervals for surveillance. *Circulation* 2004; 110:16-21.
9. Linbald B, Borner G, Gottsaer A. Factors associated with development of large abdominal aortic aneurys in middle aged men. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2005; 30(4):346-352.
10. Wanhainen A, Bergqvist D, Boman K, Nilsson TK, Rutegard J, Bjork M. Risk factors associated with abdominal aortic aneurysm: a population based study with historical and current data. *J Vasc Surg* 2005; 41(3); 390-96.
11. Sakalihasan N, Defraigne JO, Kerstenne MA, Cheramy-Bien JP, Smelser DT, Tromp G, Kuivaniemi H. Family Members of Patients with Abdominal Aortic

- Aneurysms are at Increased Risk for Aneurysms: Analysis of 618 Proband and their Families from the Liège AAA Family Study. *Ann Vasc Surg*. 2014; 28(4):787-97.
12. Wang LJ, Prabhakar AM, Kwolek CJ. Current status of the treatment of infrarenal abdominal aortic aneurysms. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2018; 8(Suppl 1):S191-S199.
  13. Ernst CB. Abdominal aortic aneurysm. *N Engl J Med* 1993; 328:1167.
  14. Johansen K, Kohler TR, Nicholls SC. Ruptured abdominal aortic aneurysm: The Harbor experience. *J Vasc Surg* 1991; 13 240.
  15. Chaikof EL, Dalman RL, Eskandari MK, Jackson BM, Lee WA, Mansour MA, Mastracci TM, Mell M, Murad MH, Nguyen LL, Oderich GS, Patel MS, Schermerhorn ML, Starnes BW. The Society for Vascular Surgery practice guidelines on the care of patients with an abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg*. 2018;67(1):2-77.e2. doi: 10.1016/j.jvs.2017.10.044.
  16. Ramirez J, Pozo ME. Aneurisma de la aorta abdominal: controversias y tendencias en su diagnóstico y manejo. *Rev Colomb Cir* 2010; 25:323-31.
  17. Sandford RM, Brown MJ, London NJ. The Genetic Basis of Abdominal Aortic Aneurysm: A Review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 33, 381-390 (2007)
  18. Granados Arriola J, Lara Mejia A, Moreno Peniche B et al. El genoma del mexicano y sus enfermedades. *Mensaje Bioquímico*, Vol. XXXV (2011)
  19. LaMorte WW, Scott TE, Menzoian JO. Racial differences in the incidence of femoral bypass and abdominal aortic aneurysmectomy in Massachusetts: relationship to cardiovascular risk factors. *J Vasc Surg* 1995; 21:422-431.
  20. Tilson MD, Ozsvath KJ, Hirose H, Xia S. A genetic basis for autoimmune manifestations in the abdominal aortic aneurysm resides in the MHC class 2 locus DR B-1. *New York Academy of Sciences* 1996; 800: 208±217.
  21. Tilson MD 3rd, Ro CY. The candidate gene approach to susceptibility for abdominal aortic aneurysm: TIMP1, HLA-DR-15, ferritin light chain, and collagen XI-Alpha-1. *Ann N Y Acad Sci*. 2006 Nov; 1085:282-90. Review

22. Rasmussen TE, Hallett JW Jr, Metzger RL, Richardson DM, Harmsen WS, Goronzy JJ, Weyand CM. Genetic risk factors in inflammatory abdominal aortic aneurysms: polymorphic residue 70 in the HLA-DR B1 gene as a key genetic element. *J Vasc Surg.* 1997;25(2):356-64.
23. Rasmussen TE, Hallett JW, Schulte S, et al. Genetic similarity in inflammatory and degenerative abdominal aortic aneurysm: A study of human leukocyte antigen class II disease risk genes. *J Vasc Surg.* 2001; 34(1):84-9.
24. Hirose H, Takagi M, Miyagawa N, Hashiyada H, Noguchi M, Tada S, et al. Genetic risk factor for abdominal aortic aneurysm: HLA-DR2 (15), a Japanese study. *J Vasc Surg.* 1998; 27(3):500-3.
25. Sugimoto T, Sada M, Miyamoto T, Yao H. Genetic analysis on HLA loci in Japanese patients with abdominal aortic aneurysm. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2003; 26(2):215-8.
26. Badger SA, Soong CV, O'Donnell ME, Middleton D. The role of human leukocyte antigen genes in the formation of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg.* 2007; 45(3):475-80.
27. Angeles-Martínez J, Posadas-Sánchez R, Álvarez-León E, Villarreal-Molina T, Cardoso-Saldaña G, Fragoso JM, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 gene (MCP-1) polymorphisms are associated with risk of premature coronary artery disease in Mexican patients from the Genetics of Atherosclerotic Disease (GEA) study. *Immunol Lett.* 2015; 167(2):125-30.
28. Flores-Villanueva PO, Ruiz-Morales JA, Song CH, Flores LM, Jo EK, Montano M, Barnes PF, Selman M, Granados J. A functional promoter polymorphism in monocyte chemoattractant protein-1 is associated with increased susceptibility to pulmonary tuberculosis. *J Exp Med.* 2005 Dec 19; 202(12):1649-58. Epub 2005 Dec 13.
29. Aoki T, Yamamoto K, Fukuda M, Shimogonya Y, Fukuda S, Narumiya S. Sustained expression of MCP-1 by low wall shear stress loading concomitant with turbulent flow on endothelial cells of intracranial aneurysm. *Acta Neuropathol Commun.* 2016; 4(1):48. doi: 10.1186/s40478-016-0318-3.

30. Lai CH, Wang KC, Lee FT, Tsai HW, Ma CY, Cheng TL, et al. Toll-Like Receptor 4 Is Essential in the Development of Abdominal Aortic Aneurysm. *PLoS One*. 2016; 11(1):e0146565.
31. Hoh BL, Hosaka K, Downes DP, Nowicki KW, Fernandez CE, Batich CD, Scott EW. Monocyte chemotactic protein-1 promotes inflammatory vascular repair of murine carotid aneurysms via a macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$  and macrophage inflammatory protein-2-dependent pathway. *Circulation*. 2011; 124(20):2243-52.
32. <http://www.dgepi.salud.gob.mx/infoepi/index.htm>
33. Guía de Práctica Clínica: Aneurismas aórticos abdominales. Catálogo maestro de guías de práctica clínica: IMSS-412-10
34. Hinojosa CA, Anaya-Ayala JE, Granados J. Regarding "Controversies and evidence for cardiovascular disease in the diverse Hispanic population". *J Vasc Surg*. 2018 May; 67(5):1638-1639.
35. Scott RA, Wilson NM, Ashton HA, Kay DN. Influence of screening on the incidence of ruptured aortic aneurysm: 5-year results of a randomized controlled study. *Br J Surg*. 1995; 82(8):1066-70.
36. International AAA Screening Group, Björck M, Bown MJ, Choke E, Earnshaw J, Flørenes T, Glover M, Kay M, Laukontaus S, Lees T, Lindholt J, Powell JT, van Rij A,
37. Svensjö S, Wanhainen A. International Update on Screening for Abdominal Aortic Aneurysms: Issues and opportunities. *Journal of Vascular Surgery. Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2015; 49(2):113-5. doi: 10.1016/j.ejvs.2014.08.015. Epub 2014.
38. Hinojosa CA, Anaya-Ayala JE, Bermúdez-Serrato K, Leal-Anaya P, Laparra-Escareno H, Torres-Machorro A. Predictive value of computed tomographic screening of aortic aneurysms in the Mexican population older than 55 years. *Gac Med Mex*. 2017; 153(Supl. 2):S27-S33. doi: 10.24875/GMM.17000004. Spanish.
39. Hinojosa CA, Anaya-Ayala JE, et al. Factores que impactan la función renal durante la reconstrucción abierta y endovascular de aneurismas aórticos. *Cir Cir*, article in press.

40. Vargas-Alarcón G, Granados J, Rodríguez-Pérez JM, Parga C, Pérez-Hernández N, Rey D, Zuñiga J, Arnaiz-Villena A.  
Distribution of HLA class II alleles and haplotypes in Mexican Mestizo population: comparison with other populations. *Immunol Invest*. 2010; 39(3):268-83.
41. Zúñiga J, Yu N, Barquera R, Alosco S, Ohashi M, Lebedeva T, Acuña-Alonzo V, Yunis M, Granados-Montiel J, Cruz-Lagunas A, Vargas-Alarcón G, Rodríguez-Reyna TS, Fernandez-Viña M, Granados J, Yunis EJ. HLA class I and class II conserved extended haplotypes and their fragments or blocks in Mexicans: implications for the study of genetic diversity in admixed populations. *PLoS One*. 2013; 8(9):e74442.
42. Hinojosa CA, Bermudez-Serrato K, Anaya-Ayala JE, et al. Relevance of ultrasonographic screening programs in the detection of aortic aneurysms *Cir Cir*. Artículo en prensa.
43. Fernandez-Vina M, Moraes JR, Moraes ME, Miller S, Stastny P. HLA class II haplotypes in Amerindians and in black North and South Americans. *Tissue Antigens*. 1991; 38(5):235-7. No abstract available.
44. Layrisse Z, Matos M, Montagnani S, Herrera F. The novel HLA-DRB1\*0807 allele is present in a Carib Amerindian population: the Yucpa. *Tissue Antigens*. 1997; 49(4):427-8.
45. Rey D, Parga-Lozano C, Moscoso J, Areces C, Enriquez-de-Salamanca M, Fernández-Honrado M, et al. HLA genetic profile of Mapuche (Araucanian) Amerindians from Chile. *Mol Biol Rep*. 2013; 40(7):4257-67.
46. Soto ME, Del Carmen Ávila-Casado M, Huesca-Gómez C, Alarcon GV, Castrejon V, et al. Detection of IS6110 and HupB gene sequences of *Mycobacterium tuberculosis* and *bovis* in the aortic tissue of patients with Takayasu's arteritis. *BMC Infect Dis*. 2012; 12:194. doi: 10.1186/1471-2334-12-194.