

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA**

**RELACIÓN DE CUATRO POLIMORFISMOS DE LA INTERLEUCINA-1 E
INTERLUECINA-6 CON LA CARDIOPATÍA ISQUÉMICA Y LA
EXTENSIÓN DE LAS LESIONES VASCULARES EN PACIENTES QUE
ACUDAN AL SERVICIO DE HEMODINÁMICA DEL HOSPITAL CARLOS
ANDRADE MARÍN EN EL PERIODO JUNIO – SEPTIEMBRE 2015**

**DISERTACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO
CIRUJANO**

Autores:

**CÁRDENAS ARGUELLO LUIS ALEJANDRO
CRUZ MURILLO FABIÁN SANTIAGO**

Director de Tesis:

Msc. Rosa Inés Colina Cifuentes

Asesor Metodológico:

Dr. Rommel Espinoza de los Monteros

QUITO, 2015

Agradecimientos

A mis padres y hermana porque un logro así nunca hubiera sido posible sin su apoyo incondicional.

A Alejandro, hermano, por los años de estudio y por compartir este trabajo final juntos.

A Rosita por guiarnos durante este proceso y facilitarnos todo lo necesario para realizar esta investigación.

F.C.

A mi madre, Jacqueline, por todo su amor. Gracias por tu apoyo incondicional y por los sacrificios hechos para conseguir este objetivo.

A Fabián, mi gran amigo, por todo este tiempo de amistad y por acompañarme en este desafío.

A Rosita por la confianza depositada en mí y por el cariño brindado en estos años.

A.C.

Al Dr. Rommel Espinoza de los Monteros por su colaboración para realizar esta investigación.

F.C. y A.C.

Dedicatoria

A mi abuelo Fausto, luego de haber conseguido el objetivo que él tanto anhelaba, ahora sé que me cuida como mi ángel.

F.C.

A mi mamá Teresita y papá Miltito, su guía y cariño incondicional impulsaron mi espíritu y jamás me dejaron desfallecer. Lo conseguido es para ustedes y por ustedes.

A.C.

INDICE GENERAL

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS	VI
ABREVIATURAS	VIII
RESUMEN	X
ABSTRACT	XII
1. CAPITULO I	1
1.1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. CAPITULO II	4
2.1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1.1. Cardiopatía isquémica.....	4
2.1.1.1. Epidemiología.....	5
2.1.1.2. Clasificación.....	7
2.1.1.3. Factores de Riesgo.....	8
2.1.1.4. Patogénesis de los Síndromes Coronarios Agudos.....	16
2.1.1.5. Diagnóstico.....	18
2.1.2. Aterosclerosis.....	22
2.1.3. Interleucinas.....	25
2.1.3.1. Familia de interleucinas IL-1.....	26
2.1.3.2. Familia de interleucinas IL-6.....	29
2.2. JUSTIFICACIÓN.....	31
3. CAPITULO III.....	33
3.1. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
3.1.1. Planteamiento del problema.....	33
3.1.2. Objetivos	33
3.1.2.1. Objetivo general:	33
3.1.2.2. Objetivos específicos:.....	33
3.1.3. Hipótesis	34
3.1.4. Metodología.....	34
3.1.4.1. Operacionalización de variables de estudioTabla 4: Operacionalización de variables.....	34
3.1.4.2. Tipo de estudio	37
3.1.4.3. Universo y muestra	37
3.1.4.3. Criterios de inclusión y exclusión.....	38

3.1.5. Estrategia general	39
3.1.6. Procesamiento y recolección de datos.	40
3.1.6.1. Extracción de ADN.....	41
3.1.6.2. Determinación del genotipo.....	42
3.1.6.2.1. Polimorfismo IL-1 β C-511T	42
3.1.6.2.2. Polimorfismo IL-1 β C+3953T	46
3.1.6.2.3. Polimorfismo IL-6 G-174C.....	49
3.1.6.2.4. Polimorfismo IL-6 G-572C.....	52
3.1.7. Aspectos bioéticos	55
3.1.8. Aspectos Administrativos	56
4. CAPÍTULO IV	57
4.1. RESULTADOS.....	57
4.1.1. Características generales de los casos y controles.....	57
4.1.2. Relación de los polimorfismos con el riesgo de presentar cardiopatía Isquémica.	58
4.1.2.1. Polimorfismo IL-1 β C-511T.....	58
4.1.2.2. Polimorfismo IL-1 β C+3953T	60
4.1.2.3. Polimorfismo IL-6 G-174C	62
4.1.2.4. Polimorfismo IL-6 G-572C.....	63
4.1.3. Relación de los polimorfismos con el riesgo de presentar lesión coronaria multivaso.....	65
5. CAPITULO V.....	68
5.1. DISCUSIÓN.....	68
6. CAPÍTULO VI	80
6.1. CONCLUSIONES.....	80
6.2. RECOMENDACIONES.....	82
7. BIBLIOGRAFÍA.....	83
ANEXOS.....	97
ANEXO 1: Ficha Clínica	97
ANEXO 2: Protocolo De Extracción Y Transporte De Muestras.	98
ANEXO 3: Protocolo Para Obtención De Plasma.....	101
ANEXO 4: Protocolo Para Extracción De ADN	102
ANEXO 5: Consentimiento informado.....	103

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Lista de Tablas

Tabla 1: Factores de riesgo cardiovascular y su prevalencia por ciudad.....	6
Tabla 2: Factores de Riesgo Cardiovascular.....	9
Tabla 3: Familia de la interleucina IL-1.....	27
Tabla 4: Operacionalización de variables.....	35
Tabla 5: Polimorfismos IL-1 e IL-6.....	42
Tabla 6: Características generales de casos y controles.	57
Tabla 7: Frecuencias de lesión coronaria.....	58
Tabla 8: Equilibrio Hardy-Weinberg del polimorfismo IL-1 β C-511T.....	59
Tabla 10: Frecuencias genotípicas y asociación de riesgo del polimorfismo IL-1 β C-511T.	60
Tabla 11: Equilibrio de Hardy-Weinberg del polimorfismo IL-1 β C+3953T.....	61
Tabla 12: Frecuencias genotípicas y asociación de riesgo del polimorfismo IL-1 β C+3953T.....	61
Tabla 13: Equilibrio de Hardy-Weinberg del polimorfismo IL-6 G-174C.....	62
Tabla 14: Frecuencias genotípicas y asociación de riesgo del polimorfismo IL-6 G-174C.63	
Tabla 15: Equilibrio de Hardy-Weinberg del polimorfismo IL-6 G-572C.....	64
Tabla 16: Frecuencias genotípicas y asociación de riesgo del polimorfismo IL-6 G-572C.65	
Tabla 17: Frecuencias de los polimorfismos en relación con la lesión coronaria.	67

Lista de Figuras

Ilustración 1: Clasificación de los Síndromes coronarios agudos.	7
Ilustración 2: Estrategía general.	40
Ilustración 3: Producto de PCR del polimorfismo IL-1 β C-511T.	43
Ilustración 4: Patrón de restricción del polimorfismo IL-1 β C-511T.	45
Ilustración 5: Producto de PCR del polimorfismo IL-1 β C+3953T.	46
Ilustración 6: Patrón de restricción del polimorfismo IL-1 β C+3953T.	48
Ilustración 7: Producto de PCR del polimorfismo IL-6 G-174C.	49
Ilustración 8: Patrón de restricción del polimorfismo IL-6 G-174C.	51
Ilustración 9: Producto de PCR del polimorfismo IL-6 G-572C.	52
Ilustración 10: Patrón de restricción del polimorfismo IL-6 G-572C.	55

ABREVIATURAS

C Citosina	LDL Lipoproteínas de baja Densidad
Células NK Linfocitos citolíticos naturales	LDLox Lipoproteínas de baja densidad oxidada
CRP Proteína C reactiva	LPS Lipopolisacárido
EMV Enfermedad multi-vaso	M-CSF Factor estimulador de colonias de macrófagos
EUUV Enfermedad de único vaso	MMPs Metaloproteasa de matriz
FT Factor tisular	NF-κB Factor nuclear- κB
G Guanina	OMS Organización Mundial de la Salud
IAM Infarto agudo del miocardio	OR Odds Ratio (razón de momios)
IC Intervalo de confianza	pb Pares de bases
IFN-γ Interferón- gama	PCR Reacción en cadena de la polimerasa
Ig Inmunoglobulinas	PCR -RT CRP en tiempo real
IL-1 Interleucina 1	RFLP's Fragmentos de restricción polimórfica
IL-1α Interleucina-1 alfa	ScRs Receptores “basureros” scavenger
IL1B Gen que codifica para la proteína IL-1 beta	SCA Síndromes coronarios agudos
IL-1ra Antagonista del receptor de interleucina 1	
IL-1β Interleucina-1 beta	

SNP Polimorfismo de nucleótido simple

T Timina

TGF- β Factor transformante de crecimiento beta

TLRs Receptores tipo "Toll"

TNF- α Factor de necrosis tumor alalfa

VCAM-1 Molécula de adhesión al endotelio vascular 1

VEGF Factor de crecimiento del endotelio vascular

VLDL Lipoproteínas de muy baja densidad

RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares, un grupo de patologías tanto del corazón como de los vasos sanguíneos, son el principal problema de salud a nivel mundial. En nuestro país cardiopatía isquémica está dentro de las cinco primeras causas de mortalidad. Como resultado de los esfuerzos para comprender y luchar contra esta enfermedad desde la década de los noventa se hizo énfasis en el reconocimiento del proceso inflamatorio como parte fundamental de la fisiopatología en el desarrollo de la aterosclerosis, principal etiología de la cardiopatía isquémica.

En el proceso inflamatorio participan varias moléculas, dentro de estas se encuentran las interleucinas, las cuales aparentemente muestran relación directa con el riesgo de presentar un evento isquémico cardíaco. Se han realizado diversos estudios tratando de dilucidar la importancia de las alteraciones genéticas de estas moléculas en la patogenia de la enfermedad.

Objetivos: Relacionar 4 de los polimorfismos encontrados de IL-6 e IL-1 con el riesgo de presentar cardiopatía isquémica, así como con la extensión de la lesión vascular coronaria en una muestra de la población ecuatoriana.

Métodos: Se investigó la asociación de los polimorfismos genéticos de las citoquinas inflamatorias a través de la técnica de PCR RFLP. En el estudio se incluyeron al menos 76 casos de individuos ecuatorianos con diagnóstico de infarto agudo de miocardio (IAM) ingresados al servicio de Hemodinámica del HCAM, y al menos 76 individuos ecuatorianos libres de síntomas y sin antecedentes de enfermedad cardiovascular como controles.

Resultados: En el análisis del polimorfismo IL-6 G-174C, el alelo G se presentó de forma dominante en los pacientes con síndrome coronario agudo (SCA) y se relaciona directamente con la posibilidad de presentar cardiopatía isquémica

(OR=5,21; IC 3,05 – 8,89) ($p < 0.05$). El genotipo GG confiere un riesgo 4 veces superior para el desarrollo de cardiopatía isquémica.

Se determinó una posible asociación entre el genotipo CC del polimorfismo IL-1 β C-511T y el riesgo de desarrollar IAM (OR=1,53; IC 95% 0,61–3,84). El alelo C confiere un riesgo 1,81 veces mayor para presentar cardiopatía isquémica.

No se encontró asociación entre los polimorfismos IL-1 β C-511T, IL-1 β C+3953T, IL-6 G-174C e IL-6 G-572C y la extensión de la lesión vascular.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases, a group of illnesses affecting the hearth and vessels, are the main health problem globally. In our country ischemic heart disease is among the five leading causes of mortality. As a result of the effort to learn and fight against this diseases, since the 90's grew the emphasis on the recognition of the inflammatory process as an essential part of the pathophysiology in the development of atherosclerosis, the main etiology of ischemic heart disease.

The inflammatory process involve several molecules, within these are the interleukins, which apparently show a direct relationship with the risk of cardiac ischemic events, there have been several studies trying to elucidate the relationship of genetic variations in these molecules and the pathogenesis of the disease.

Objectives: Relate 4 of the polymorphisms found in IL-6 and IL-1 with the risk of ischemic heart disease, as well as the extent of coronary vascular lesion in a sample of the Ecuadorian population.

Sample: This study included at least 76 cases of Ecuadorian individuals diagnosed with acute myocardial infarction (AMI) admitted to Hemodynamics service of HCAM, and at least 76 individuals free of symptoms and no history of cardiovascular disease as controls.

Methods: The object of the study was to investigate genetic polymorphisms of inflammatory cytokines through PCR RFLP.

Results: In the analysis of polymorphism IL-6 G-174C, the G allele was presented dominantly in patients with acute coronary syndrome (ACS) and is directly related to the possibility of develop ischemic heart disease (OR=5,21; CI 3,05-8,89) ($p < 0,05$). GG genotype confers a 4-fold increased risk for developing ischemic heart disease. A possible association between the CC genotype in the polymorphism IL-1 β C-511T and the risk of AMI was described (OR=1,53; CI 0,61-

3,84). The C allele confers a 1.81 times higher risk for presenting ischemic heart disease.

No associations between polymorphisms IL-1 β C-511T, IL-1 β C+3953T, IL-6 G-174C, IL-6 G-572C and extent of vascular injury were described.

1. CAPITULO I

1.1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son un grupo de patologías tanto del corazón como de los vasos sanguíneos, entre las que se incluyen: la cardiopatía coronaria, las enfermedades cerebrovasculares, el compromiso de arterias periféricas, la cardiopatía reumática y congénita y fenómenos trombóticos. En este listado de enfermedades resalta la cardiopatía coronaria por su gran incidencia y complicaciones.

Se sabe que las enfermedades cardiovasculares son la mayor causa de morbilidad y mortalidad del mundo occidental, y están relacionadas con enfermedades como la diabetes mellitus, la dislipidemia, la hipertensión, y con hábitos tóxicos como el tabaquismo y el consumo de alcohol, entre otros.¹ Estas entidades representan los denominados factores de riesgo clásicos. El tratamiento de dichos factores de riesgo ha contribuido al descenso de la mortalidad, relacionada con la enfermedad, que se ha observado en los países occidentales.¹ Sin embargo, en los últimos años se han ido investigando nuevos factores de riesgo que no se relacionan con el estilo de vida de los pacientes, por lo tanto no son modificables ni controlables, tal es el caso de la hiperhomocisteinemia, las concentraciones elevadas de lipoproteína a (Lp[a]), la alteración del balance entre radicales oxidantes y antioxidantes, la hipercoagulabilidad, el polimorfismo del gen de la enzima conversiva de la angiotensina, la expresión del antígeno leucocitario humano (HLA)-DR, las infecciones crónicas, las alteraciones del óxido nítrico y algunas otras mutaciones genéticas.² Estos hallazgos despiertan el interés en el estudio de las variaciones genéticas de la población, que predisponen a presentar eventos cardiovasculares.

La cardiopatía coronaria, conocida comúnmente como “ataque cardíaco”, es un fenómeno agudo que se debe principalmente a un proceso obstructivo, que impide

el flujo sanguíneo hacia el músculo cardiaco. La causa primaria es la formación de depósitos de placa en las paredes de los vasos sanguíneos, específicamente en las arterias, a esto se conoce como aterosclerosis. La placa está compuesta por grasas, colesterol, calcio y fibrina⁸¹. Con el tiempo la placa crece, se endurece y estrecha las arterias.

Estudios recientes muestran que la inflamación es un mecanismo clave en la formación de la placa aterosclerótica y en la progresión rápida de la enfermedad arterial coronaria². La inflamación es una respuesta del huésped a una gran variedad de lesiones tisulares, caracterizada por el movimiento de células y fluidos, desde la sangre hacia los tejidos extravasculares en el lugar en el que se ha iniciado el estímulo nocivo, bajo la influencia de factores quimiotácticos producidos localmente.² Los tipos celulares implicados dependerán del tipo de lesión, lo que sugiere que existe una selectividad en la producción de varios factores quimiotácticos.

La inflamación aguda se caracteriza por la acumulación de neutrófilos. Si la respuesta inflamatoria queda confinada localmente se producirá una lesión menor, pero si el estímulo inflamatorio es más importante generará una reacción sistémica generalizada denominada "respuesta de fase aguda", que posteriormente disminuye y retorna a la normalidad. Cuando el estímulo inflamatorio es persistente se producirá una inflamación crónica, que puede llegar a destruir el tejido y/o producir la pérdida de la funcionalidad del órgano afectado. El infiltrado de células inmunes típico de la inflamación crónica está compuesto por macrófagos, linfocitos y células plasmáticas. La liberación crónica de mediadores de la inflamación producirá lesión tisular, cicatrización y la posible pérdida de la función del tejido lesionado.²

Se conoce que la inflamación en el sistema vascular puede estar desencadenada, mantenida e incrementada por múltiples factores, como la presencia de LDL oxidadas, incremento de la concentración de radicales superóxido, macrófagos activados, linfocitos activados, y volúmenes séricos elevados de las interleucinas IL-1, IL-6.²

Las interleucinas IL-1 e IL-6 son péptidos señalizadores, mediadores químicos, que se producen en respuesta a la agresión a un tejido, y son causantes de la respuesta inflamatoria responsable del daño tisular. En el caso de la cardiopatía isquémica, las interleucinas antes citadas constituyen factores primordiales dentro de la fisiopatología de la enfermedad.³

La síntesis de interleucinas se encuentra bajo control genético, por lo cual las mutaciones en los genes modifican su producción. Estas alteraciones en el genoma se denominan polimorfismos de nucleótido simple (SNPs), se ha demostrado que afectan los procesos de síntesis proteica, por ende están relacionados con mayor o menor producción de interleucinas en el individuo, lo que implicaría que en determinadas personas el proceso inflamatorio se vea incrementado. Varios estudios han demostrado que existen SNPs de las interleucinas IL-1 e IL-6 que presentan asociación con el síndrome coronario agudo, las más estudiadas son IL-1 β C-511T (Rs16944), IL-1 β C+3953T (Rs1143634), IL-6 G-174C (Rs1800795) y IL-6 G-572C (Rs1800796).

2. CAPITULO II

2.1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1.1. Cardiopatía isquémica.

La cardiopatía isquémica es la causa más seria de dolor torácico, también conocida como “infarto de miocardio”, esta enfermedad se produce cuando la dotación de oxígeno al músculo cardiaco es inferior a la demandada para su funcionamiento⁸². La cardiopatía isquémica usualmente es ocasionada por la aterosclerosis de las arterias coronarias, es decir, las encargadas de proporcionar sangre al músculo cardiaco (miocardio). La aterosclerosis coronaria es un proceso lento de formación de colágeno y acumulación de lípidos (grasas) y células inflamatorias (linfocitos). Estos tres procesos provocan el estrechamiento (estenosis) de las arterias coronarias con la consecuente disminución del aporte de oxígeno al miocardio, en este caso se produce una isquemia miocárdica (angina estable). Si se establece una oclusión súbita de la arteria por trombosis de la misma, esto genera una falta de oxigenación al miocardio que da lugar al síndrome coronario agudo.⁸³

El síndrome coronario agudo (SCA), un conjunto de enfermedades arteriales que presentan condiciones compatibles con isquemia miocárdica, se debe a una reducción abrupta del flujo sanguíneo coronario por ruptura de una placa ateromatosa y la consecuente generación de un trombo en el lumen arterial.³ El resultado de la isquemia arterial puede manifestarse en diversos tipos de SCA: una angina inestable (AI), infarto agudo de miocardio (IAM) con y sin elevación del ST y muerte súbita.⁴

2.1.1.1. Epidemiología.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) expone que las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de defunción a nivel mundial, se estima que aproximadamente 18 millones de personas mueren anualmente por eventos cardiovasculares, siendo alrededor de siete millones por cardiopatía isquémica. El 31% de las muertes globales provienen de países en vías de desarrollo.⁵

Según *Hartman y Fishman* en EEUU el 25% de todas las muertes son debido a problemas isquémicos, se estima que en el 2030 esta estadística aumentará a un 40,5% debido al aumento en los factores de riesgo.⁶

El estudio Framingham proporcionó datos que permitieron entender de manera fiable la morbilidad cardiovascular, tras el seguimiento de 44 años a un universo de 5,209 individuos entre los 35 a 94 años como cohorte original y un seguimiento de 20 años a sus descendientes. Los resultados aportados son los siguientes:⁷

- El riesgo de desarrollar eventos coronarios aumenta proporcionalmente con la edad, en el sexo masculino existe mayor incidencia en edades comprendidas entre los 35 y los 64 años. Por otro lado, en las mujeres la edad de presentación es de 65 a 94 años, teniendo tres veces más riesgo las mujeres post-menopáusicas en comparación con aquellas pacientes pre-menopáusicas de la misma edad.
- En cuanto a complicaciones, la angina de pecho se produce luego de un infarto agudo de miocardio (IAM) en un 66% de los varones, mientras que solo el 20% de las mujeres presentan esta complicación.

El estudio CARMELA⁸ (Cardiovascular Risk Factor Multiple Evaluation in Latin América) tuvo como objetivo determinar la prevalencia de factores de riesgo cardiovascular. El estudio se realizó en 6 países de Latinoamérica con una

muestra total de 11.550 personas. Se determinó que el 13% de los participantes tuvieron algún antecedente familiar de IAM o accidente cerebrovascular, y que el 2% tuvo un antecedente de enfermedad cardiovascular. Los factores de riesgo más frecuentes en cada ciudad se exponen en la Tabla 1:

Tabla 1: Factores de riesgo cardiovascular y su prevalencia por ciudad.

Factor de Riesgo	Ciudad 1	Ciudad 2
Hipertensión Arterial (HTA)	Buenos Aires	Santiago de Chile
Hipercolesterolemia	Quito	Buenos Aires
Tabaquismo	Quito	Santiago de Chile
Diabetes	México D.F.	Buenos Aires
Obesidad	México D.F.	Santiago de Chile
Síndrome Metabólico	México D.F.	Barquisimeto (Venezuela)

Tomado de: CARMELA Study Investigators. CARMELA: assessment of cardiovascular risk in seven Latin American cities. American Journal Medicine. 2008 Jan;121(1):58-65. Se presenta una lista de los factores de riesgo cardiovascular y las dos ciudades dónde son más prevalentes.

Además se realizaron 10.826 ecografías en la bifurcación carotídea, donde se observó que el espesor de la pared arterial aumentó con la edad en ambos sexos por igual. No se encontró relación directa entre el espesor de la pared arterial y la prevalencia de placa en el lumen de la misma .⁸

Como dato característico este estudio demuestra que en la población ecuatoriana la prevalencia de obesidad y diabetes presenta una distribución 3:1, mujer-hombre, mientras que en Buenos Aires se observa una relación inversa.⁸

Las estadísticas nacionales muestran de manera objetiva la importancia de las enfermedades isquémicas del corazón. En el 2013 esta patología ocupó el sexto lugar dentro de las principales causas de mortalidad general con un número total

de 2.942 defunciones, cifra que en el 2014 aumentó a 4.430 defunciones, estableciéndose como la primera causa de mortalidad.⁹

2.1.1.2. Clasificación.

La presentación clínica de los diferentes síndromes coronarios agudos (SCA) depende de la extensión y duración de la isquemia, producto de la obstrucción del flujo coronario. Podemos clasificar a los SCA tomando como referencia los resultados electrocardiográficos y la medición de marcadores de isquemia cardiaca, como se muestra en la Ilustración 1:

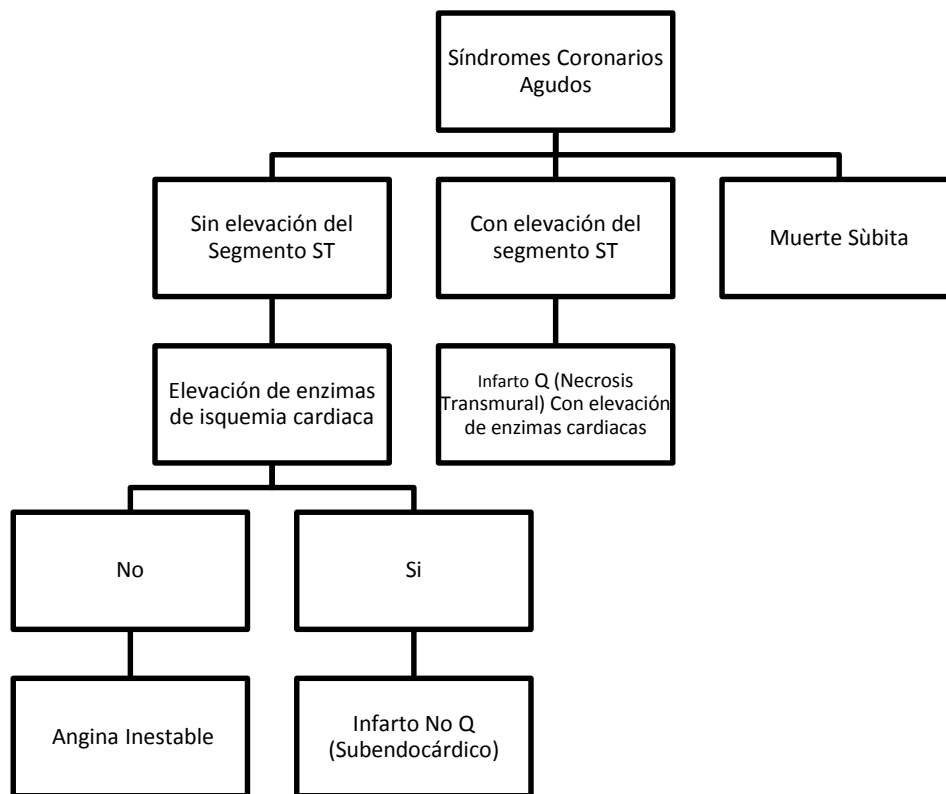


Ilustración 1: Clasificación de los Síndromes coronarios agudos. Elaborado por Cárdenas y Cruz.

2.1.1.2.1. SCA Sin elevación del segmento ST.

- **Angina Inestable:** La angina inestable abarca a todas las variantes de la angina que no siguen una aparición del dolor para un umbral fijo y se presentan en reposo, con un umbral de ejercicio variable o cada vez más reducido, y a la angina de inicio reciente. La angina inestable se diferencia de los infartos no Q por la ausencia de elevación de las enzimas de isquemia miocárdica (Troponinas T e I y CK-MB).
- **Infarto No Q o infarto subendocárdico:** Es aquel infarto que no da origen a ondas Q en el complejo ventricular durante el EKG, es decir que la necrosis por la isquemia abarca solamente la pared interna del miocardio, y presenta un aumento de las enzimas de isquemia cardíaca.¹⁰

2.1.1.2.2. SCA con elevación del segmento ST.

- **Infarto Agudo de Miocardio o Infarto transmural:** este tipo de infarto se define por sus características clínicas de dolor torácico, electrocardiográficas, bioquímicas y anátomo-patológicas, las cuales representan la necrosis del miocardio.¹⁰ El infarto en evolución se manifiesta con elevación del segmento ST en el punto J (> 2mm). Una vez establecido, se manifiesta con la presencia de onda Q en cualquier derivación mayor a 0.03 segundos. Se puede confirmar el IAM mediante la determinación de enzimas de isquemia cardíaca.

2.1.1.3. Factores de Riesgo.

Si bien existen algunas patologías que afectan la circulación coronaria, la más frecuente es la aterosclerosis, con menores porcentajes se encuentran la Hipertrofia ventricular, síndrome X (alteración de microcirculación coronaria), embolias, arteritis, entre otras.¹⁰

Son los factores de riesgo cardiovascular los que incrementan la posibilidad de desarrollar aterosclerosis. Con fundamento lógico, mientras más factores de riesgo presente el individuo mayor será su probabilidad de sufrir eventos cardiovasculares en un futuro.

Podemos dividir a los factores de riesgo cardiovascular en modificables, aquellos en que se puede realizar una intervención sanitaria como prevención, y no modificables, las características innatas del individuo.¹¹ A continuación en la Tabla 2 se presentan estos factores:

Tabla 2: Factores de Riesgo Cardiovascular.

No Modificables	Modificables	
Edad	Consumo de tabaco	Obesidad
Sexo	Hipertensión Arterial	Sedentarismo
Factor hereditario	Diabetes Mellitus	Albuminuria
Raza	Dislipidemia	

Tomado de: García-moll, X., & Carlos, J. C. K.(2015). Cardiopatía isquémica : marcadores de inflamación y riesgo cardiovascular. *Revista Española de Cardiología*, 1(4), 990–1003. Se muestra una lista de los factores de riesgo cardiovascular agrupados en modificables y no modificables.

2.1.1.3.1. Factores de riesgo No modificables:

- **Edad:** se conoce que la prevalencia de la aterosclerosis aumenta conforme la edad, siendo casi nula la posibilidad de encontrarla en personas menores de 35 años.¹¹ En el año 2013 se publicó un estudio con un universo de 3.6 millones de personas en EEUU, en el cual se determinó mediante ecografía la estenosis en la bifurcación carotídea (> 50%), esta se presentó en el 2% de los individuos de 40 a 50 años, en el 13% de individuos entre 71 y 80 años y 32,5 % en individuos de 91 a 100 años.¹²

- **Sexo:** El sexo masculino presenta mayor predisposición para la enfermedad aterosclerótica con un riesgo relativo (RR) de 1,66 en comparación con las mujeres. En los estudios ONTARGET y TRANSCEND que involucran 9.378 mujeres y 22.168 varones, seguidos durante 56 meses, se determina que el sexo femenino presenta 20% menor riesgo que los varones.¹³

- **Factor Hereditario:** La herencia es un factor de riesgo independiente. Se considera de riesgo el antecedente de un evento cardiovascular en familiares de primer grado. En el caso de los familiares varones si este hecho ocurrió antes de los 55 años y en el caso de las mujeres, si se presentó antes de los 65 años.¹⁴ Las personas con antecedente familiar de dos o más muertes prematuras por causa cardiovascular, muestran un riesgo tres veces mayor para sufrir IAM antes de los 50 años, es decir un RR de 3,30.¹⁴

- **Raza:** La mortalidad por cardiopatía isquémica es mayor en la raza negra que en la blanca. En la población hispana la tasa de mortalidad por enfermedad isquémica cardiaca no es tan alta como en la población negra y caucásica.¹⁵

- **Marcadores inflamatorios:**
 - Proteína C reactiva: La proteína C reactiva (CRP) es un predictor independiente para aterosclerosis entre hombres y mujeres sanos. La CRP predice el riesgo a largo plazo de un primer IAM o cualquier evento cardiovascular.²⁹ La Asociación Americana del Corazón (AHA) define que valores plasmáticos entre 3 y 10 mg/L son adecuados para predecir posibles eventos cardiovasculares.
 - Interleucina 6 (IL-6): La IL-6 es una citoquina pro-inflamatoria directriz en el desarrollo de las enfermedades coronarias. Dos

grandes meta-análisis han confirmado el papel crucial de la IL-6 en la generación de inflamación y el riesgo cardiovascular.³⁰

- **Hiperhomocistinemia:** La homocisteína ejerce un efecto citotóxico en las células endoteliales generando una alteración en la función endotelial, cuando esta se encuentra elevada se ve acompañada de niveles reducidos de ácido fólico y vitamina B₁₂. Además, la homocisteína promueve la oxidación de LDL mediante el peróxido de O₂, y se encuentra descrito un efecto promotor en la multiplicación de las células lisas de la pared arterial.³¹

2.1.1.3.2. Factores de Riesgo Modificables:

- **Consumo de tabaco:** El hábito tabáquico amplifica el riesgo de presentar eventos cardiovasculares y coronarios. Un meta-análisis en el que se tomó al consumo de tabaco y el diagnóstico de diabetes mellitus (DM) como factores de mortalidad, con un universo total de 130.000 pacientes diabéticos divididos en fumadores y no fumadores, mostró que el riesgo relativo (RR) en los pacientes que fumaban fue de 1,48 para la mortalidad cardiovascular, 1,54 para enfermedad coronaria, 1,44 para accidente cerebrovascular (ACV) y 1,55 para IAM. Por otra parte, se determinó menores tasas de eventos cardiovasculares en los pacientes que abandonaron el hábito tabáquico.¹⁶
- **Hipertensión arterial:** La hipertensión arterial (HTA) (presión arterial mayor a 140/90 mmHg) aumenta el riesgo de una variedad de enfermedades cardiovasculares, como los accidentes cerebrovasculares (ACV), cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca, fibrilación auricular, y enfermedad vascular periférica. La HTA es el factor de riesgo más importante para desarrollar un evento cardiovascular prematuro, siendo

más común que el tabaquismo, la dislipidemia, y la diabetes; es así que, la HTA es el antecedente presente en el 54% de todos los casos de ACV y en el 47% de los casos de IAM.¹⁷ La enfermedad coronaria y los accidentes cerebrovasculares son las complicaciones más frecuentes después de un diagnóstico de HTA, en hombres y mujeres respectivamente, como se observó en los resultados del estudio Framingham.

El riesgo de sufrir eventos cardiovasculares, tanto ACV como IAM, se incrementa progresivamente a partir de valores de tensión arterial de 115/75 mmHg. El aumento de riesgo en mayores de 60 años se relaciona con presión arterial sistólica elevada, mientras que en los jóvenes la asociación de riesgo se da con el incremento de los valores de presión diastólica.¹⁷ Los estudios muestran los beneficios de la terapia antihipertensiva, al igual que de las modificaciones en el estilo de vida, ya que reducen la incidencia de eventos cardiovasculares como son ACV en un 35%, IAM en un 25%, e insuficiencia cardiaca en más del 50%.

- **Diabetes Mellitus:** Los individuos que tienen diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 2 presentan mayor prevalencia de enfermedad coronaria, isquemia miocárdica crónica y mayor probabilidad de presentar un IAM.¹⁸

El estudio Framingham indica que al tener Diabetes Mellitus tipo 2, un paciente duplica su riesgo ajustado para la edad de presentar eventos cardiovasculares en el sexo masculino, mientras que en el femenino este riesgo se triplica.⁷ En el estudio MRFIT se observó que quienes no controlaban adecuadamente la DM presentaban una mayor tasa de mortalidad tras sufrir eventos cardiovasculares.¹⁹

Otra investigación demostró que los pacientes diabéticos sin infarto previo, presentan el mismo riesgo de debutar con un IAM que aquellos pacientes sin diagnóstico de diabetes pero con antecedente de IAM previo (20 y 19% respectivamente).²⁰

Resultados de una serie de 13.790 pacientes de una cohorte poblacional en los EEUU, en la cual durante los nueve primeros años de seguimiento hubo 634 muertes por IAM, muestran asociación entre el diagnóstico de diabetes e IAM, 32.2% de los pacientes presentaron las dos patologías.¹⁸

- **Dislipidemia:** El estudio INTERHEART en 52 países, evaluó todos los factores de riesgo cardiovascular en 15.152 casos y 14.820 controles, determinando que la prevalencia de alteración en el metabolismo de los lípidos puede ser tan alta como el 75 a 85% en aquellos pacientes con enfermedad coronaria prematura, en comparación con los controles que no presentaron la patología. Además, decretaron que el 49% presentó riesgo para un primer episodio de IAM al presentar mayores concentración de Apoproteína Apo B (transportadora de lípidos).²¹ Las alteraciones del metabolismo de los lípidos por lo general presentan un patrón familiar, es así que aquellas personas que presentan dicha alteración, en un 70% tienen un trastorno lipídico familiar. Los trastornos familiares más comunes son la lipoproteína a [Lp(a)] en exceso, hipertrigliceridemia y la hiperlipemia combinada.²¹

Las siguientes alteraciones en el metabolismo del colesterol son aquellas que se asocian con mayor riesgo de presentar un evento cardiovascular coronario:

- Colesterol total elevado: En el estudio MRFIT se estableció una relación proporcional del riesgo cardiovascular con la concentración plasmática del colesterol, los resultados indicaron que a valores de 150 mg/dl representan un RR de 1 y valores de 300 mg/dL un RR de 4.¹⁹
- Bajos niveles sanguíneos de HDL: Los valores disminuidos de lipoproteína de alta densidad (HDL) se convierten en un factor de riesgo, pues se considera benéfica para el ser humano porque transporta las

lipoproteínas de baja densidad para su metabolismo; es así que sus valores son inversamente proporcionales al desarrollo de enfermedad coronaria.²²

- Altos niveles sanguíneos de LDL: Un meta-análisis que incluyó 155.613 pacientes en los cuales se evaluó la efectividad de las estatinas para prevenir los eventos vasculares, encontró que hay una reducción del 11% de mortalidad vascular, disminución del 16% en eventos coronarios y para los accidentes cerebrovasculares una reducción del 10%, es decir que, por cada 38 mg/dL que disminuye el valor plasmático de LDL hay una reducción de riesgo del 20% para la presentación de eventos coronarios mayores.²³
- Hipertrigliceridemia: En la población general las cifras de triglicéridos (TG) aumentan en los varones desde los veinte años, mientras que las mujeres muestran prácticamente las mismas cifras hasta la menopausia, esto se encuentra en relación directa con el depósito de grasa abdominal. Con un aumento de 38 mg/dL se estima un RR de 1,32 para nuevos casos de eventos cardiovasculares, lo que indica un aumento del 32% de riesgo de la enfermedad asociada exclusivamente a los triglicéridos.²⁴
- Alta concentración de Lipoproteína a [Lp(a)]: Es una lipoproteína constituida de la asociación de una partícula de LDL y una proteína Apo (a), su elevación en el plasma es un factor de riesgo cardiovascular ya que favorece la formación de la placa aterosclerótica. Se considera una concentración plasmática elevada valores superiores de 30 mg/dL. Todavía no se establece cual es el mecanismo fisiológico, siendo evidente que participa en el transporte de lípidos, se sabe que su acción está condicionada por factores genéticos pero puede variar en el ambiente en el cual se desarrolla el individuo. Algunos estudios

muestran asociación entre valores elevados de Lp (a) y enfermedad coronaria.²⁵

- **Obesidad:** La obesidad definida por un índice de masa corporal (IMC) superior a 30, es una condición altamente prevalente a nivel mundial, se tiene estimaciones que el 35% de la población de EEUU presenta estos valores de IMC.²⁶ La obesidad se relaciona con numerosos factores de riesgo para el desarrollo de aterosclerosis, enfermedades vasculares, hipertensión, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, hipertrigliceridemia, dislipidemias.²⁶ El estudio de Framingham expuso que la obesidad predijo la aparición de enfermedades del corazón y accidentes cerebrovasculares, mostrando una relación lineal entre mayor IMC y el riesgo de enfermedad vascular.⁷
- **Sedentarismo:** El ejercicio tiene un efecto protector contra la enfermedad coronaria y la mortalidad por cualquier otra etiología. Entre los beneficios que aporta el ejercicio están el aumento de niveles plasmáticos de HDL, reducción de tensión arterial, disminución de la resistencia a la insulina. Aquellos hombres que realizan actividad física regular (3-4 días semanales) presentan una disminución del riesgo cardiovascular en un 23%.²⁷ En el estudio INTERHEART la falta de actividad física regular representó el 12% del riesgo atribuible para un primer episodio de IAM.²¹
- **Albuminuria:** La asociación entre el aumento de la excreción urinaria de albumina y las enfermedades cardiovasculares se demostró en el estudio HOPE²⁸, en el cual 1.859 pacientes presentaron altos valores de albuminuria, de los cuales un 81% exhibieron antecedente de IAM, un 53% antecedente de ACV o enfermedad vascular periférica y dislipidemia el 56% de los pacientes.

2.1.1.4. Patogénesis de los Síndromes Coronarios Agudos.

El síndrome coronario agudo (SCA) resulta del desequilibrio el aporte y la demanda de oxígeno a nivel del miocardio, suele producirse por una reducción aguda de dicho aporte por la obstrucción de las arterias coronarias. Este proceso se debe a la disrupción de la placa ateromatosa, junto con la cascada inflamatoria y el proceso trombótico.

La placa ateromatosa se forma por un proceso denominado aterosclerosis, caracterizado por el depósito de lípidos en el interior de la pared arterial. Pese a ser un proceso crónico y silente, puede llevar al desarrollo de eventos trombóticos de forma aguda que son precisamente los culpables de ocasionar obstrucción de la luz arterial y por ende SCA.³² La estenosis progresiva que genera la placa en el lumen de una arteria coronaria puede llegar al punto en el cual un trombo puede ocluir la luz arterial en todo su diámetro, ocasionando un SCA tipo IAMCEST; si la obstrucción del lumen arterial es parcial se producirá un tipo IAMSEST.³²

El proceso por el cual ocurren los eventos aterotrombóticos implica la ruptura de la capa fibrosa de la placa ateromatosa o la erosión endotelial hasta la capa íntima causando hemorragia intraplaca.³² Cuando la capa fibrosa que recubre al núcleo necrótico (núcleo rico en lípidos) se fisura, expone factores trombogénicos. Estudios mediante autopsias determinaron que el mejor indicador morfológico de que las placas habían causado desenlaces fatales era un espesor fino de la capa fibrosa (<55 μm); aproximadamente 30% de las placas se asociaron con una estenosis >75%.³³ La resistencia de la capa fibrosa se debe a la tracción de las fibras intersticiales de colágeno que son sintetizadas por las células musculares de la pared arterial. La asociación entre una capa fibrosa más delgada y la ruptura de la placa sugiere que un defecto en el metabolismo del colágeno de la placa provoca un agotamiento de la proteína de la matriz extracelular, la cual presenta un papel fundamental en el fortalecimiento de la capa fibrosa.³²

Las células inflamatorias como los macrófagos (MØS) producen una disrupción en el colágeno de la placa precipitando un SCA. Los MØS producen tres clases de

enzimas, tipo metaloproteasa intersticial, que degradan el colágeno como son: MMP-1; MMP-8; MMP-13; estas son reguladas por una citoquina derivada de los linfocitos T (LsT) CD40, que aumenta la producción de colagenasa intersticial. Es por esto que la interacción que se produce entre los LsT y los MØS inhibe la síntesis y degrada el colágeno presente en la placa. Otras moléculas inflamatorias como el Interferón γ (IFN- γ), inhibe fuertemente la capacidad de las células del musculo liso para sintetizar el nuevo colágeno, necesario para mantener la placa estable.³²

La tensión de cizallamiento, definida como la fuerza que el flujo sanguíneo ejerce en la pared vascular dependiendo de la viscosidad sanguínea y de la velocidad de flujo, es otro factor regulador en la expresión de las proteinasas.³⁴ Las regiones de la pared endotelial con bajas tensiones de cizallamiento, muestran una cápsula fibrosa fina y una mayor expresión de proteasas, aumentando el riesgo de causar SCA.³² Sin embargo, una capa fibrosa fina o debilitada por las colagenasas no es suficiente para precipitar la ruptura de la placa, factores adicionales como el vaso espasmo en el momento de la ruptura, y calcificaciones puntiformes intraplaca, también colaboran para aumentar la tensión circunferencial y así contribuir a la ruptura de la placa.³²

Al producirse la ruptura de la placa entra en contacto el material trombogénico sanguíneo con el núcleo necrótico de la placa, lo que da inicio al proceso trombótico. La trombosis comienza con el factor tisular, un pro-coagulante derivado de los MØS, que dispara el mecanismo de la trombina y la activación plaquetaria para su correspondiente agregación.³²

En un 25% de los pacientes con IAM las complicaciones trombóticas se deben a la erosión del endotelio pues se expone el material subendotelial a los factores sanguíneos. Los proteoglicanos del endotelio al estar expuestos producen la activación plaquetaria. La apoptosis endotelial, producida por el estrés oxidativo, propaga la perdida celular endotelial activando el mecanismo trombótico.³²

2.1.1.5. Diagnóstico.

La atención del paciente con dolor torácico de posible origen cardíaco se basa en una clasificación rápida de riesgo, para esto debemos tener en cuenta los parámetros clínicos, los datos de laboratorio, y exámenes complementarios como el electrocardiograma (EKG) o un estudio angiográfico. El análisis de todo este contexto clínico debe hacerse en el menor tiempo posible ya que se deben tomar decisiones terapéuticas rápidas para evitar el progreso de la isquemia y posibles complicaciones.

2.1.1.5.1. Diagnóstico clínico:

En la presentación clínica de un síndrome coronario agudo el síntoma cardinal es dolor en el torax que se experimenta como opresión alrededor del pecho que puede estar o no irradiado hacia el brazo izquierdo y al ángulo izquierdo del maxilar inferior (angina). Esto suele estar asociado con diaforesis (sudoración), náusea y vómito, así como disnea (dificultad para respirar). En muchos casos, la sensación es “atípica”, puesto que el dolor se experimenta de forma diferente (angina atípica), o incluso estando completamente ausente (más común en pacientes de sexo femenino y aquellos con diabetes), no es sorprendente que la presentación clínica de estos pacientes muestre un aumento en la mortalidad hospitalaria de 23% en relación al 9% de aquellos que presentan dolor anginoso típico.³⁵ Algunas personas reportan palpitaciones, ansiedad, o un sentimiento de muerte inminente y la sensación de estar muy enfermos.

2.1.1.5.2. Exámenes Complementarios:

- **Electrocardiograma (EKG):** El EKG es un elemento fundamental en el diagnóstico inicial de los pacientes con posible síndrome coronario agudo

pues permite la categorización inicial del paciente basado en los siguientes patrones:

- SCA con supradesnivel del segmento ST o un nuevo bloqueo de rama izquierda (BRI).
 - SCA sin elevación del segmento ST, que abarca SCASEST, angina inestable (AI), depresión del segmento ST y la presencia de ondas T invertidas.
 - SCA indiferenciado cuando el EKG no aporta datos diagnósticos.
-
- **Marcadores de Isquemia Cardíaca:** Una variedad de biomarcadores se han utilizado para evaluar a los pacientes con IAM, entre estas podemos citar a las troponinas cardíacas T e I, así como la isoenzima MB de la creatinfosfocinasa (CK-MB). Valores mayores al percentil 99 del límite superior de la concentración plasmática de estas enzimas deben ser considerados como anormales.³⁷
 - **Troponinas:** Las troponinas son proteínas estructurales que intervienen en el acoplamiento de las cadenas actina-miosina de las células del miocardio, regulando la fuerza y la velocidad de contracción muscular.⁴⁵ Existen tres tipos de troponinas T, I y C.
Troponina T (TnT): La TnT es una proteína con un peso molecular de 37 kD, con la función de fijar el complejo de la troponina a la tropomiosina. La particular liberación de esta proteína es útil para la valoración cronológica de la isquemia del miocardio, tienen una liberación rápida de 3 a 4 horas de ocurrido el evento, un pico máximo a las 14 a 18 horas, y mantienen una liberación sostenida entre 5 a 9 días con un máximo de 14 días. Presenta una sensibilidad diagnóstica del 100% entre las 4 a 6 primeras horas, especificidad del 88% y valor predictivo positivo de 83% 4 horas luego de la injuria cardíaca y del 100% en la quinta hora.³⁷
Troponina I (TnI): La TnI es una proteína con un peso molecular de 24 kD, su función es inhibir la actividad de la ATPasa, depende de la

estimulación del magnesio de la actomiosina. Existen tres isoformas en los tejidos humanos las cuales están en el musculo cardiaco, musculo esquelético rápido y lento. La isoforma cardiaca presenta una sensibilidad diagnóstica del 100% a las 6 horas de transcurrido el compromiso miocárdico, una especificidad de 88% en las primeras horas y un valor predictivo positivo de 92%.³⁷

- **Creatinfosfocinasa (CPk):** La CPk es una enzima que participa en la transferencia de energía desde la mitocondria hacia el citosol. Compuesta por tres isoenzimas conformadas por dos subunidades M y B: CK-BB o CK-1, CK-MB o CK-2, CK-MM o CK-3, siendo estas dos últimas las que se encuentran presentes en los músculos.³⁷

Tras la injuria miocárdica la concentración de CK-MB se incrementa al igual que en otras patologías como puede ser HTA, insuficiencia renal, hipertrofia ventricular, consumo de cocaína, enfermedad del músculo esquelético. En el IAM sus niveles plasmáticos se incrementan de 6 a 10 horas después de que el infarto se ha establecido, presenta un pico máximo entre las 12 a 24 horas y retorna a sus valores fisiológicos en 36 a 72 horas. Presenta una sensibilidad del 90%. Para realizar un diagnóstico específico con la CK-MB debemos correlacionar con el valor total de CPk, es decir CPk/CK-MB con un punto de corte superior a 3.³⁷

- **Angiografía Coronaria**

La angiografía coronaria o cateterismo cardiaco es una técnica diagnóstica que consiste en la introducción de catéteres por medio de las arterias femoral o humeral que proporciona información de la anatomía vascular coronaria.

Las arterias coronarias son las primeras ramas de la aorta ascendente, nacen de unas pequeñas dilataciones denominados senos aórticos, dando origen a una coronaria derecha y otra izquierda.³⁸

Coronaria Derecha (CD): Desde su nacimiento se dirige hacia adelante y a la derecha de la orejuela derecha y del tronco de la pulmonar. Discurre por el surco auriculoventricular hasta el borde derecho del corazón, irrigando así la cara posterior del corazón, es decir, el 25-35% del ventrículo izquierdo. La descendente posterior (DP) es su principal rama que irriga la porción posterior y superior del tabique interventricular. Otras ramas son: la arteria del cono, del nodo sinusal, ramos ventriculares, y posterolaterales.³⁸

Coronaria Izquierda (CI): Se encuentra ubicada entre el tronco de la arteria pulmonar y la orejuela izquierda para distribuirse por el surco auriculoventricular. Esta arteria tiene una longitud variable y es de mayor diámetro que la coronaria derecha, cubre un mayor territorio de irrigación del miocardio. Se divide en dos ramas: a) la descendente anterior (DEA) que va a irrigar el ventrículo izquierdo en su cara anterior y lateral, esta arteria discurre por el surco auriculoventricular anterior hasta alcanzar el vértice del corazón rodeándolo para luego dirigirse hacia la cara posterior dando ramos ventriculares anteriores o diagonales y una rama al tabique interventricular; y b) la arteria circunfleja (Cx) que también colabora con la irrigación del ventrículo izquierdo, se sumerge por el surco auriculoventricular izquierdo para llegar hasta la cruz del corazón, en un 90% de los casos da origen a la arteria marginal izquierda y en un 35% de los casos a la arteria del nódulo sinusal.³⁸

Además un cateterismo cardiaco muestra la existencia y gravedad de la isquemia miocárdica; con esta técnica se puede realizar los siguientes procedimientos:

- Coronariografía diagnóstica: Una prueba diagnóstica imprescindible que permite el estudio del lumen arterial mediante medios de contraste.
- Ventriculograma: Analiza la contractibilidad y la función de las cavidades cardiacas.

- Estudio Hemodinámico: Con el cual se estudia las presiones de las cavidades cardiacas así como los gradientes de presión tanto en las cavidades como en las áreas valvulares.
- Angioplastia coronaria trasluminal percutánea (PCI): Es un procedimiento de tipo terapéutico en el que se realiza la dilatación del lumen arterial en aquellas arterias coronarias que se encuentran con lesiones obstructivas.

2.1.2. Aterosclerosis.

“La aterosclerosis es una enfermedad vascular de evolución crónica, dinámica y evolutiva que aparece por el concurso de tres factores principales: disfunción endotelial, inflamación y trombosis. Se caracteriza por la oclusión progresiva de las arterias por placas de ateroma que pueden llegar a producir insuficiencia arterial crónica (angina de pecho, isquemia cerebral transitoria o angina mesentérica) o bien déficit agudo de la circulación por trombosis oclusiva (infarto del miocardio, cerebral o mesentérica)”.³⁹

Fisiopatológicamente se plantea que la aterosclerosis es el resultado de un proceso en el que el daño al endotelio provoca la interacción de macrófagos, plaquetas, células musculares y endoteliales culminando en el desarrollo de la lesión aterosclerótica.³²

Actualmente se considera a la aterosclerosis como un proceso inflamatorio activo. Las placas ateroscleróticas se componen de células, tejido conectivo, lípidos y desechos celulares. La mayoría de células en el ateroma son células inflamatorias, las restantes son células endoteliales y musculares. Las células del sistema inmune que se encuentran en el ateroma muestran signos de activación y producen interleucinas pro-inflamatorias.

El endotelio al ser una monocapa celular de revestimiento en el lumen de la pared arterial posee diversas funciones, tales como regular el tono vascular, la activación plaquetaria, adhesión leucocitaria, producción de sustancias vasodilatadoras y

vasoconstrictoras, regulación de la interacción de las células y proteínas circundantes con las células de la pared arterial, es por esto que desarrolla un papel fundamental en la fisiopatología de la enfermedad aterosclerótica. Los factores de riesgo cardiovascular alteran esta homeostasis generando disfunción del endotelio que conlleva a un proceso pro-inflamatorio y favorece la aterosclerosis en la pared del vaso.⁴⁰

El mecanismo implicado en la aterosclerosis es la disfunción endotelial, que puede definirse como un desequilibrio en la biodisponibilidad de sustancias activas de origen endotelial que predispone a la inflamación, la vasoconstricción y el incremento de la permeabilidad vascular, y que puede facilitar el desarrollo de la placa ateromatosa, agregación plaquetaria y trombosis.^{40, 41}

Las células endoteliales mediante un programa de expresión genética, dan síntesis y procesamiento a proteínas altamente regulables, las cuales son capaces de detectar los cambios tanto físicos, como el estrés mecánico, y cambios químicos (liberación de moléculas pro-inflamatorias) que se transformaran en respuestas funcionales adaptativas con lo cual se mantiene la homeostasis.⁴¹

El endotelio mediante un complejo microvesicular permite la absorción selectiva de macromoléculas que conforme avanza la enfermedad, van perdiendo paulatinamente su capacidad de control al paso de estas sustancias, lo que permite un mayor depósito de moléculas circulantes, como el fibrinógeno y las lipoproteínas de baja densidad (LDL), iniciando así el proceso de disfunción endotelial.⁵² Estas macromoléculas una vez dentro de la pared vascular, van a fijarse al citoesqueleto del endotelio, mediante uniones adherentes (Adherens junctions) que son derivadas de proteínas transmembrana de la familia de las cadherinas, esto genera un cambio en el citoesqueleto que junto a otros estímulos protrombóticos, inflamatorios, y lipídicos, van a determinar el aumento de su permeabilidad.⁴¹

La fase inicial de la aterosclerosis es una respuesta inflamatoria producida por la retención de lipoproteínas en la capa íntima de la arteria. Dentro de la

fisiopatogenia de la acumulación de lípidos en la pared arterial hay fenómenos que permiten la infiltración y la retención lipídica en la misma, como son la hiperlipemia y las anomalías de la matriz celular que produzcan dicha retención.

Los niveles séricos elevados de colesterol, compuesto en su mayoría por LDL, provoca la activación del endotelio en las arterias coronarias, induciendo la infiltración y retención del colesterol en la capa intima de la pared arterial debido al proceso inflamatorio generado.⁵¹ El LDL es el principal lípido implicado en el desarrollo de la placa aterosclerótica a través de dos mecanismos: uno que depende de la activación de receptores endoteliales VCAM-1 en el lumen, mediante la fosfatidil colina, y otro debido a la activación de receptores independientes, como las selectinas E y P a causa del daño endotelial ya generado.⁴⁰

La alteración de las proteínas LDL por ataque enzimático u oxidación, provoca la liberación de fosfolípidos que activan a las células endoteliales, que a su vez expresan diversos tipos de moléculas de adhesión a leucocitos. Con el estímulo presente los leucocitos comienzan por rodar sobre la superficie endotelial, para luego adherirse y culminar con su transmigración al interior de la pared. La fase de rodamiento y adhesión se da gracias a selectinas y moléculas de adhesión (ICAM, VCAM) respectivamente. Una vez adheridos entra en juego la quimiotaxis de monocitos para su migración al sitio de la lesión. El endotelio activado por los agentes pro-inflamatorios (principalmente las interleucinas) y agentes aterogénicos expresan moléculas de adhesión que fisiológicamente no se expresan como es el caso de ICAM-1. Las interleucinas pro-inflamatorias tales como la IL-1 β también inducen la expresión de VCAM-1 a través del factor nuclear-kB (NF-kB). Por lo tanto las interleucinas ligarían la hipercolesterolemia con la disfunción endotelial.³²

Una vez adheridos al endotelio los leucocitos migran hacia la capa intima mediante diapedesis a través de las células endoteliales. Esta migración ocurre en respuesta a estímulos quimio atrayentes como las quimiocinas: proteína quimio atrayente de monocitos-1(MCP-1), que atrae monocitos y linfocitos T y B.³²

Los monocitos que han ingresado en la íntima del vaso deben diferenciarse a macrófagos para el desarrollo de la aterosclerosis, esta diferenciación está asociada con la sobre-regulación de receptores de reconocimiento de patrones de la inmunidad innata como los receptores scavenger y tipo toll. Estos receptores promueven la fagocitosis de moléculas de colesterol oxidado (LDLox) que al no poder ser eliminadas de la célula, por el proceso inflamatorio concurrente, transforman al macrófago en una célula espumosa, que dentro del vaso sanguíneo promueven la transformación del ateroma en una capa fibrosa.⁵⁴

2.1.3. Interleucinas.

Las interleucinas son péptidos que cumplen un papel fundamental en la comunicación dentro del sistema inmune y en el intercambio de información de este con el resto de tejidos. Envían una señal a la célula que resulta en el cambio de función o fenotipo de la misma, de esta manera las interleucinas no solo juegan un rol importante en el sistema inmune, también lo hacen en una variedad de procesos fisiológicos y metabólicos. Tienen una potente función efectora en las respuestas inflamatorias agudas y crónicas.

Dentro del proceso de inflamación aguda varios grupos celulares que entran en juego en la respuesta inmune incluyendo neutrófilos, macrófagos, natural killer y eosinófilos, producen y responden a las interleucinas generadas luego de segundos de la agresión al tejido. Estas proteínas aumentan la expresión de las moléculas de adhesión en los leucocitos y células endoteliales, amplifican la liberación de radicales de oxígeno, óxido nítrico, aminas vaso-activas y la activación de quininas y derivados del ácido araquidónico, prostaglandinas y leucotrienos. Particularmente las IL-1, TNF, y IL-6 son cruciales en la respuesta de fase aguda.

La modulación de las interacciones que caracterizan la inflamación crónica es llevada por las interleucinas, donde las células bajo su control migran a través de

gradientes quimio tácticos en la matriz extracelular. Las interleucinas estimulan la muerte celular tanto por retiro de estímulos o por la unión a receptores que contienen dominios de muerte celular.

Numerosos factores promueven la expresión de las interleucinas, entre ellas el contacto célula-célula, complejos inmunes, auto anticuerpos, la activación del complemento, radicales de oxígeno, trauma, isquemia y las mismas interleucinas en anillos autócrinos, entre otros. Existen variaciones en la secuencia genética de las interleucinas conocidas como polimorfismos que causan una expresión alterada de estos péptidos, otorgando una ventaja selectiva contra la infección o a su vez incrementando la susceptibilidad o el progreso de la autoinmunidad. Por ejemplo los homocigotos para el alelo A2 en la posición 3954 del gen de la IL-1 β producen más IL-1 ante la estimulación con lipopolisacáridos.

Existen varias familias estructuralmente relacionadas de interleucinas que cumplen diversas funciones, estas moléculas pueden llevar a la formación de las placas de aterosclerosis que provocan complicaciones trombóticas agudas, tales como el IAM. En las placas ateroscleróticas se han detectado varias interleucinas pro-inflamatorias, entre las que destacan la IL-1, IL-6 e IL-10, así como TNF e INF que regulan y activan en proceso inflamatorio.⁴²

2.1.3.1. Familia de interleucinas IL-1

La Interleucina 1 es una citoquina pro-inflamatoria conocida como el primer pirógeno endógeno. La IL-1 consiste en diez ligandos del receptor de IL-1 pero solo cuatro tienen una función conocida: tres agonistas (IL-1 α , IL-1 β e IL-18) y un antagonista (IL-1Ra). Los miembros de la superfamilia de IL-1 son designados utilizando la F, por ejemplo IL-1F2 corresponde a IL-1 β (Tabla 3).⁴³

- **Gen IL-1 β**

El gen IL-1 β se localiza en el brazo largo del cromosoma 2, específicamente en la región 2q12-q21. El producto de este gen es un polipéptido de 269 aminoácidos que recibe el nombre de IL-1 β o bien IL-1F2.⁴³

La Interleucina 1 β ha sido descrita como un mediador inflamatorio en varias enfermedades, incluyendo la aterosclerosis. El mecanismo de formación de la placa aterosclerótica es iniciado por el daño endotelial, que resulta en una respuesta inflamatoria e hiperplasia en la pared arterial, este proceso es llevado a cabo por varios mediadores endoteliales y derivados de plaquetas así como las interleucinas inflamatorias.

Tabla 3: Familia de la interleucina IL-1.

Nombre	Nombre anterior	Propiedad	Cromosoma
IL-1F1	IL-1 α	Agonista	2q
IL-1F2	IL-1 β	Agonista	2q
IL-1F3	IL-1Ra	Antagonista	2q
IL-1F4	IL-18	Agonista	11q
IL-1F5	IL-1Hy1	Desconocida	2q
IL-1F6	FIL-1, IL-1 \square	Desconocida	2q
IL-1F7	FIL-1 \square , IL-1H4, IL-1RP1	Desconocida	2q
IL-1F8	FIL-1h, IL-1H2	Desconocida	2q
IL-1F9	IL1-H1, IL1-RP2	Desconocida	2q
IL-1F10	IL-1Hy2, FKSG75	Desconocida	2q

Tomado de: Vélez-Castrillón, S., Camargo, J. F., Correa, P. a, & Anaya, J. (2004). Bases moleculares de la familia de la interleucina-1. *Revista Colombiana de Reumatología*, 11(1), 11–39

IL-1 β es sintetizada en varias células inflamatorias: monocitos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos B y células natural killer. Los estímulos para su producción son los productos microbianos, otros miembros de la familia de la IL-1 y varios productos endógenos como los uratos o los cristales de colesterol.

Una vez secretada la IL-1 β es una citoquina inflamatoria que ejerce su efecto principalmente a través de la IL-6 y reactantes de fase aguda como la proteína C reactiva (CRP), provocando un aumento en su concentración sérica de hasta 1000

veces durante la inflamación aguda. La proteína c reactiva se encuentra elevada en trauma, condiciones inflamatorias y en enfermedades cardiovasculares como la hiperlipidemia y la aterosclerosis.

La IL-1 β ha sido implicada en varios pasos del proceso aterosclerótico, desde la alteración del metabolismo lipídico hasta la formación de la placa. La inflamación mediada por la IL-1 β e IL-6 produce hipertrigliceridemia y cifras elevadas de VLDL creando un perfil lipídico pro-aterogénico. El metabolismo del LDL también se ve alterado, el estado inflamatorio provoca que la partícula de LDL se torne más pequeña y densa lo que facilita su ingreso en la íntima de la pared arterial. Durante la inflamación producida por la IL-1 β se produce la activación del endotelio con la sobreexpresión de las moléculas de adhesión que sirven para reclutar las células inflamatorias en la pared endotelial, además aumenta el efecto pro coagulante facilitando así la adhesión de plaquetas, factores que favorecen la formación de la placa.⁴⁴

- **Polimorfismos del Gen IL-1 β**

Los seres humanos compartimos cerca del 99,9% de la secuencia de ADN, en la pequeña variación del 0,1% se encuentran las diferencias fenotípicas que vuelven a cada ser humano único y que además le confieren susceptibilidad a ciertas enfermedades, este tipo de variaciones genéticas se conocen como polimorfismos.⁴ Los polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) son las variantes genéticas más comúnmente encontradas en el genoma humano.⁴⁵ Estas se deben a la sustitución de una base nitrogenada por otra en un segmento específico del gen. La mayoría de SNPs presentan dos alelos que se clasifican en alelo principal o silvestre y en alelo raro o mutante.⁴⁵ Los seres humanos poseemos dos alelos para cada gen, es decir somos diploides, por lo que un individuo puede ser homocigoto para el alelo silvestre, homocigoto para el alelo mutante u heterocigoto (un alelo silvestre y otro mutante).

En el caso del gen IL-1 β se han encontrado 82 SNPs hasta el momento. En relación con enfermedad isquémica cardiaca se han estudiado el polimorfismo IL-1

β C-511T (Rs16944) e IL-1 β C+3953T (Rs1143634). En el polimorfismo IL-1 β C-511T (Rs16944) hay un cambio de citosina (C) por timina (T), donde la presencia de C se considera alelo mutante, y se estima que confiere un riesgo aumentado para presentar cardiopatía isquémica.⁴⁶ En el caso del polimorfismo C+3953T (Rs1143634) existe un cambio similar pero en la región +3953 del gen.

2.1.3.2. Familia de interleucinas IL-6

Se ha demostrado que la IL-6 tiene varias propiedades pro-inflamatorias y también muchas actividades regeneradoras o anti-inflamatorias. Entre los miembros de la familia de la IL-6 se incluyen: IL-6, IL-11, factor inhibidor de la leucemia (LIF), oncostatina M (OSM), factor inhibidor ciliar (CNTF), cardiotropin-1(CT-1), neuropoietina (NPN), IL-27 e IL-31.⁴⁷

- **Gen IL-6**

El gen de la IL-6 se localiza en el cromosoma 7, codifica para una proteína de entre 21 y 28 KDa y está formada por 212 aminoácidos. Es producida por diferentes células en el cuerpo incluyendo linfocitos, monocitos, fibroblastos y células endoteliales.

La interleucina 6 estimula la expresión del factor tisular, proteína quimiotáctica de monocitos 1 y receptores de lipoproteínas de baja densidad en los macrófagos, además favorece la agregación plaquetaria, proliferación celular en la muscular de los vasos y producción de proteína c reactiva y fibrinógeno en los hepatocitos. Regula la expresión de las moléculas de adhesión y otras citoquinas en las células endoteliales.⁴⁸

La interleucina 6 posee actividad pro coagulante significativa a través de la expresión del factor tisular en los monocitos, el cual permite la formación de trombos y por último el infarto de miocardio en el sitio de la aterosclerosis.⁴⁹

Se considera que la IL-6 es un regulador el cual juega un rol central en la respuesta inflamatoria, que es responsable de la aterosclerosis. Las células endoteliales responden al estímulo efectuado por la IL-6 elaborando más quimiocinas e incrementando la expresión de ICAM-1, esto en conjunto permite el reclutamiento y la migración de los leucocitos a la íntima del vaso.⁴⁹ Diversos estudios muestran que los niveles elevados de IL-6 circulante se asocian con mayor presentación síndromes coronarios agudos.

El punto de enlace más estudiado entre IL-6 y la aterosclerosis es a través de las células hepáticas, aumentando la producción de proteínas de fase aguda en respuesta a la lesión en la íntima de los vasos producida por la placa aterosclerótica, donde se han encontrado niveles elevados de proteína c reactiva y se han implicado con la progresión de enfermedad arterial coronaria.¹⁰

- **Polimorfismos del gen IL-6**

Dos polimorfismos funcionales en la región promotora del gen de la IL-6 han sido identificados (IL-6 G-174C, IL-6 G-572C) en relación con el desarrollo de enfermedad arterial coronaria. Se trata de polimorfismos de nucleótido simple (SNPs). En ambos casos existe una sustitución de una citosina (C) por guanina (G), estos alelos raros se han visto asociados con niveles plasmáticos más altos del IL-6.⁵¹

El cambio de C por G, 174 pares de bases a partir de la región de inicio de transcripción en el gen de la IL-6 ha mostrado una asociación en los sujetos portadores del alelo C con una mayor mortalidad en 5 años de seguimiento.⁵²

En el 2011 se realizó un meta análisis a partir de 27 estudios donde no se encontró una asociación estadísticamente significativa para el polimorfismo IL-6 G-174C con el riesgo de enfermedad coronaria, por otro lado en el polimorfismo IL-6 G-572C se asoció el alelo C (salvaje) con un menor riesgo de enfermedad arterial coronaria al ser comparado con el alelo G (mutante).⁵³

2.2. JUSTIFICACIÓN

Según la OMS las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de defunción a nivel mundial, se estima que aproximadamente 18 millones de personas mueren anualmente por eventos cardiovasculares, representando el 31% de las muertes globales, de estas, 7 millones son por cardiopatía isquémica.⁵

En el 2013 la cardiopatía isquémica ocupó el sexto lugar dentro de las principales causas de mortalidad general en el Ecuador, con una tasa de 18,65 por cada 100.000 habitantes, lo que implica un número total de 2.942 defunciones, cifras que venían manteniéndose estables en los últimos 7 años, sin embargo, en el 2014 la tasa sufre un incremento significativo llegando a ser 27,64 por cada 100.000 habitantes, lo que la establece como la primera causa de mortalidad con un total de 4.430 defunciones.⁹ Estos datos justifican la investigación en nuestro país orientada al entendimiento de la patología cardiovascular.

Dentro de la fisiopatología de las enfermedades cardiovasculares un factor primordial es el proceso inflamatorio el cual se desarrolla en base a la producción de moléculas, dentro de estas las citoquinas, principalmente las interleucinas IL-1, IL-6, consideradas pro-inflamatorias debido a que aumentan las concentraciones sanguíneas de reactantes de fase aguda (marcadores de inflamación activa) como el fibrinógeno o la proteína C reactiva, estos a su vez favorecen la activación de los genes de las interleucinas, tornándose el proceso en un círculo vicioso que generará mayor respuesta inflamatoria.

En la búsqueda de la relación de las interleucinas con la cardiopatía isquémica diversos estudios muestran que las variaciones genéticas alteran la síntesis de estas moléculas provocando una mayor producción de las mismas y por ende una respuesta inflamatoria excesiva. Estas mutaciones genéticas se conocen como polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) siendo las más importantes: IL-1 β C-511T (Rs16944), IL-1 β C+3953T (Rs1143634), IL-6 G-174C (Rs1800795), e IL-6 G-572C (Rs1800796).

En Ecuador no se han desarrollado investigaciones que revelen las variaciones genéticas propias de nuestra población. Aunque los factores de riesgo nutricional, ambiental pueden ser similares en las distintas poblaciones, es de vital importancia conocer los cambios genéticos de cada grupo poblacional, encaminado a desarrollar una medicina personalizada. La investigación de estos factores en nuestro país busca generar un mayor conocimiento en cuanto a la patogénesis de la cardiopatía isquémica. Específicamente en este estudio, se pretende indagar el rol de los polimorfismos de las interleucinas IL-1, IL-6, como factores de riesgo para el desarrollo de un evento cardiovascular.

El potencial uso de los polimorfismos de citoquinas como marcadores de susceptibilidad todavía no se ha explorado en su totalidad, la mayoría de este tipo de investigaciones se ha realizado en países anglosajones, y requieren confirmación epidemiológica y experimental en países con una composición étnica distinta como es el caso del Ecuador.

3. CAPITULO III

3.1. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1. Planteamiento del problema

¿Son los polimorfismos genéticos IL-1 β C-511T, IL-1 β C+3953T, IL-6 G-174C, e IL-6 G-572C factores de riesgo para cardiopatía isquémica en los pacientes que acudan al servicio de Hemodinámica del HCAM en el periodo Junio-Septiembre 2015?

¿Son los polimorfismos genéticos IL-1 β C-511T, IL-1 β C+3953T, IL-6 G-174C, e IL-6 G-572C factores que modifican la extensión de la lesión vascular coronaria en pacientes con diagnóstico de cardiopatía isquémica que acudan a servicio de Hemodinámica del HCAM en el periodo Junio-Septiembre 2015?

3.1.2. Objetivos

3.1.2.1. Objetivo general:

Relacionar los polimorfismos de IL6 (G-174C, G-572C) e IL1 (C-511T, C+3953T) con el riesgo de presentar cardiopatía isquémica así como con la extensión de lesión vascular coronaria en una muestra de la población ecuatoriana.

3.1.2.2. Objetivos específicos:

- Demostrar la relación de los SNPs de IL6, IL1, con el potencial riesgo de presentar cardiopatía isquémica.
- Demostrar la relación de los SNPs de IL6, IL1 con la extensión de lesión vascular coronaria.

- Analizar los datos estadísticamente con estudios de asociación genética.
- Comparar las frecuencias alélicas obtenidas entre muestras y controles.

3.1.3. Hipótesis

Los polimorfismos genéticos IL-1 β C-511T, IL-1 β C+3953T, IL-6 G-174C, y IL-6 G-572C son factores de riesgo para el desarrollo de cardiopatía isquémica.

Los pacientes con cardiopatía isquémica que poseen los polimorfismos genéticos IL-1 β C-511T, IL-1 β C+3953T, IL-6 G-174C, y IL-6 G-572C presentan mayor extensión de lesión vascular coronaria.

3.1.4. Metodología

3.1.4.1. Operacionalización de variables de estudio

Tabla 4: Operacionalización de variables.

Variable Independiente	Variable Específica	Definición Conceptual	Definición operacional	Categoría	Indicador
Polimorfismo genético	IL6 G-174C G-572C IL1 C-511T C+3953T	Se considera polimorfismo genético a una variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base de una secuencia del genoma	<i>Se considera SNP IL6 G-174C si: La persona presenta un cambio de base en el gen de la IL6 alelo 'G' en -174 variación C.</i> <i>Se considera SNP IL6 G-572C si: La persona presenta un cambio de base en el gen de la IL6 alelo 'G' en -572 variación C.</i> <i>Se considera SNP IL1 C-511T si: La persona presenta un cambio de base en el gen de la IL1 alelo 'C' en -511 variación T.</i> <i>Se considera SNP IL1 C+3953T si: presenta un cambio de base en el gen de la IL1 alelo 'C' en +3953 variación / T.</i>	Si / No	Frecuencia Absoluta Frecuencia Relativa
Variable Independiente	Variable Específica	Definición Conceptual	Definición operacional	Categoría	Indicador
Extensión de la lesión vascular coronaria	Extensión mayor y extensión menor de la lesión	Numero de arterias coronarias obstruidas por el desarrollo de placas ateroscleróticas en su lumen	Se considera extensión menor si: evidencia angiográfica de oclusión mayor al 50% en un vaso coronario. Se considera extensión mayor si: evidencia angiográfica de oclusión mayor al 50% en dos o más vasos coronarios	Extensión mayor Extensión menor	Frecuencia Absoluta Frecuencia Relativa

Cardiopatía Isquémica	Infarto agudo de miocardio Angina inestable	Riesgo sanguíneo insuficiente con daño tisular del miocardio, secundario a un proceso isquémico por la obstrucción coronaria.	Se considera enfermedad coronaria si presenta al menos una lesión obstructiva mayor al 50%	Si / No	Frecuencia Absoluta Frecuencia Relativa
Variable de control	Variable Específica	Definición Conceptual	Definición operacional	Categoría	Indicador
Edad	Edad en años	Tiempo que una persona ha vivido desde su nacimiento	Tiempo que una persona ha vivido desde su nacimiento hasta el momento del estudio	Expresada en años	Promedio Mediana Moda
Sexo	Sexo Fenotípico	Características biológicas que definen a un ser humano como hombre o mujer	Sexo determinado por la morfología de los genitales externos	Masculino Femenino	Frecuencia Absoluta Frecuencia Relativa
Diabetes Mellitus T2	Diabetes Mellitus tipo 2	Trastorno metabólico que se caracteriza por hiperglicemia en el contexto de resistencia a la insulina.	Se considera DM2 si: glucosa en ayuno ≥ 126 mg/dl o si el paciente está tomando mediación antidiabética	Si / No	Frecuencia Absoluta Frecuencia Relativa
Tabaquismo	Consumo activo/pasivo o de tabaco	Intoxicación aguda o crónica producida por el consumo abusivo de tabaco	Se considera Tabaquismo si: cuando el paciente acepta ser fumador activo o haber sido fumador.	Si / No	Frecuencia Absoluta Frecuencia Relativa
Hipertensión Arterial	Hipertensión Arterial	Enfermedad caracterizada por incremento continuo de las cifras de la presión arterial	Se considera HTA si: cuando existen cifras tensionales $\geq 140/90$ o se toma medicina antihipertensiva	Si / No	Frecuencia Absoluta Frecuencia Relativa
Colesterol total	Colesterol total	Lípido que se encuentra en los tejidos y plasma sanguíneo.	Valores medidos por laboratorio expresados en mg/dL	mg/dL	Promedio, mediana, moda
Colesterol HDL	Colesterol HDL	Lípido de alta densidad que transporta el colesterol de los tejidos	Valores medidos por laboratorio expresados en mg/dL	mg/dL	Promedio, mediana, moda

		hasta el hígado			
Colesterol LDL	Colesterol LDL	Colesterol transportado en la sangre unido a proteínas	Valores medidos por laboratorio expresados en mg/dL	mg/dL	Promedio, mediana, moda
Triglicéridos	Triglicéridos	Lípido que se forma por esterificación de gliceroles	Valores medidos por laboratorio expresados en mg/dL	mg/dL	Promedio, mediana, moda

Elaborado por Cárdenas y Cruz

3.1.4.2. Tipo de estudio

Estudio analítico de casos y controles, retrospectivo, pues se busca relacionar la causalidad del factor genético como determinante de riesgo para cardiopatía isquémica. Se identificaran los polimorfismos genéticos IL-1 β C-511T, IL-1 β C+3953T, IL-6 G-174C, y IL-6 G-572C en ambos grupos.

3.1.4.3. Universo y muestra

La población de nuestro estudio son los ecuatorianos con diagnóstico de cardiopatía isquémica, seleccionando los pacientes que acudieron al servicio de hemodinámica del HCAM y que presentaron la enfermedad en cuestión. El proceso de recolección se realizó en los pacientes que ingresaron al servicio de hemodinámica, que cumplieron con los criterios de inclusión y se sometieron a cateterismo cardiaco.

En el grupo control se incluyeron individuos voluntarios sin diagnóstico de enfermedad cardiovascular alguna que acudieron al hospital por otro motivo de consulta y que aceptaron formar parte del estudio previo a la firma del consentimiento informado.

Se utilizó un muestreo aleatorio estratificado proporcional.

El tamaño de la muestra se calculó en base a:

- Nivel de confianza 95%
- Poder del estudio 80%
- Relación enfermo-no enfermo 1:1
- Frecuencia esperada de exposición en los no enfermos 32%
- Frecuencia esperada de exposición en los enfermos 60%.
- La muestra necesaria es 56 casos y 56 controles, utilizando el programa StatCalc.

3.1.4.3. Criterios de inclusión y exclusión

- **Criterios de Inclusión para casos:**

- 1) Dos Episodios de angina en reposo, o un episodio que dure más de 20 minutos en las últimas 48 horas.
- 2) Elevación del segmento ST diagnosticado por EKG durante la angina, con movilización o no de enzimas de isquemia cardiaca durante admisión en emergencias (CK-Mb/Troponina T)
- 3) Estenosis mayor al 50% demostrado por angiografía.
- 4) Antecedente diagnóstico de enfermedad multivaso.
- 5) Demostración de enfermedad multivaso diagnosticado por angiografía.
- 6) Nacionalidad Ecuatoriana.
- 7) Consentimiento informado firmado.

- **Criterios de Exclusión para casos:**

- 1) Antecedente de inflamación crónica de base (Infeccioso, Inmunológico, Neoplásico) diagnosticado en los últimos 6 meses.

- 2) Antecedente de cardiomiopatía de base.
- 3) Antecedente Reumatológico.

- **Criterios de inclusión para controles:**

- 1) Individuos sanos sin antecedentes de enfermedad cardiaca que acudan al HCAM por otro motivo de consulta distinto a cardiopatía isquémica.
- 2) Nacionalidad Ecuatoriana.
- 3) Consentimiento informado firmado.

- **Criterios de exclusión de controles:**

- 1) Presentar síntomas y/o antecedentes familiares o clínicos de enfermedad cardiovascular, principalmente IAM.
- 2) Electrocardiograma con cambios sugestivos de enfermedad isquémica.
- 3) Antecedente de cardiomiopatía de base.
- 4) Antecedente Reumatológico.

3.1.5. Estrategia general

En el presente estudio se incluyeron pacientes con diagnóstico de enfermedad cardiaca isquémica e individuos sin enfermedad cardiovascular, a los cuales se les tomo una muestra de sangre a partir de la cual se obtuvo el plasma y se extrajo el ADN de los componentes celulares, el cual se utilizó para el análisis genético. En la figura se observa el diagrama de la estrategia general empleada en el estudio.

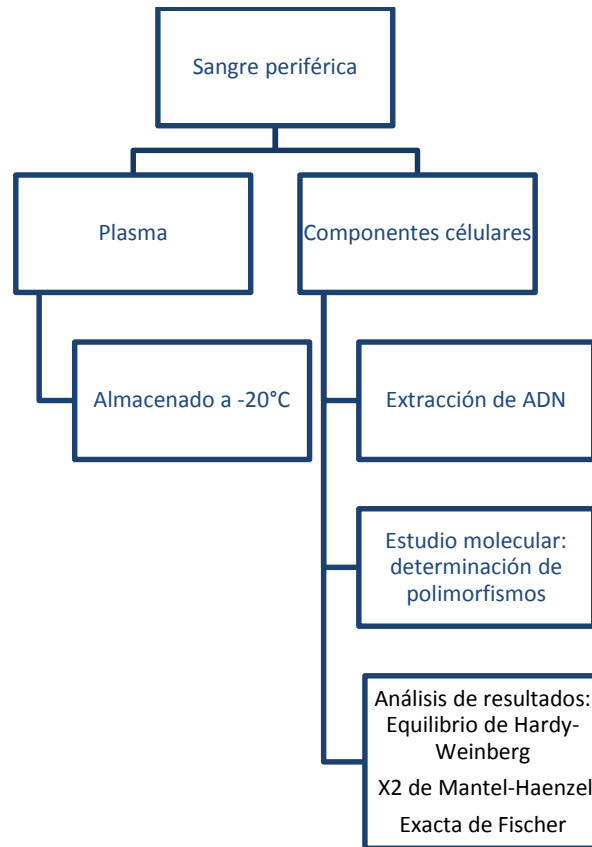


Ilustración 2: Estrategia general.
Elaborado por: Cárdenas y Cruz.

3.1.6. Procesamiento y recolección de datos.

- **Muestras biológicas.**

Se obtuvieron 76 muestras sanguíneas de pacientes con diagnóstico de enfermedad cardíaca isquémica. La obtención de las muestras se logró gracias al Servicio de Hemodinámica del Hospital Carlos Andrade Marín (HCAM). Además se recolectaron muestras de 76 individuos sanos sin antecedentes de enfermedad cardíaca que acudieron al HCAM por otro motivo de consulta distinto a cardiopatía isquémica.

Las muestras fueron transportadas al laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Medicina de la PUCE para ser procesadas. El protocolo de transporte se detalla en el Anexo 2.

Se obtuvo el permiso del hospital para tener el acceso a las historias clínicas de los pacientes con el objetivo de conocer los datos necesarios para la investigación que se detallan en el Anexo 1, manteniendo el anonimato de los pacientes.

3.1.6.1. Extracción de ADN

Se tomaron 3 mL de sangre periférica venosa de cada individuo en tubos vacutainer con EDTA al 5% como anticoagulante. Estas muestras fueron procesadas para separar los componentes celulares del plasma sanguíneo aplicando el protocolo expuesto en el Anexo 3.

A partir de esta muestra se extrajo el ADN genómico utilizando el Kit “Wizard® Genomic DNA Purification Kit” de Promega. El proceso consiste en realizar la lisis de los eritrocitos, seguida por la lisis de los leucocitos, posteriormente se efectúa la precipitación proteica y el lavado del ADN con etanol que luego de ser desecado es rehidratado y almacenado a -8°C. El proceso detallado se muestra en el Anexo 4.

Una vez purificado el ADN, éste se cuantificó por espectrofotometría a 260 y 280nm utilizando el equipo NanoDrop 2000® de Thermo Scientific. El criterio de pureza que se evaluó fue de $260\text{nm}/280\text{nm} \geq 1.6$. Finalmente se ajustó la concentración de ADN a 80ng/μL con solución de rehidratación y se dividieron alícuotas de este, las cuales se almacenaron a -20°C y -4°C para su óptima preservación y su uso posterior.

3.1.6.2. Determinación del genotipo

El genotipo de cada individuo en estudio se determina mediante el método PCR-RFLP. La técnica consiste en el corte de los productos de PCR mediante el uso de enzimas de restricción. La primera etapa consiste en la amplificación de las regiones de interés con los primers respectivos. El segundo paso consiste en la digestión de los productos de PCR con enzimas de restricción, cuya acción determinará el genotipo de cada individuo. Los resultados se verifican en geles horizontales de agarosa al 2,5% con marcadores moleculares apropiados para la detección de las diferentes bandas. Los primers y enzimas empleados para cada polimorfismo se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 5: Polimorfismos IL-1 e IL-6.

Polimorfismo	Identificación SNP	Primer Forward Primer Reverse	Enzima	Referencia
IL-1 β C-511T	rs16944	TGG CAT TGA TCT GGT TCA TC GTT TAG GAA TCT TCC CAC TT	Ava I	Vohnout et al. ⁵⁵
IL-1 β C+3953T	rs1143634	GTT GTC ATC AGA CTT TGA CC TTC AGT TCA TAT GGA CCA GA	Taq I	Arman et al. ⁵⁸
IL-6 G-174C	rs1800795	TGA CTT CAG CTT TAC TCT TGT CTG ATT GGA AAC CTT ATT AAG	SfaNI	Libra et al, Flex et al. ⁷¹
IL-6 G-572C	rs1800796	GGAGACGCCTTGAAGTAACTGC GAGTTTCCTCTGACTCCATCGCAG	Mbil	Brull et al. ⁷⁶

Adaptado por los autores. Cárdenas y Cruz

3.1.6.2.1. Polimorfismo IL-1 β C-511T

- **Reacción en cadena de la polimerasa.**

Para el estudio de este polimorfismo se debe amplificar una región de 305pb correspondientes a la región -511 del promotor del gen IL1 β . Se obtuvo un volumen final de 25 μ L para cada muestra, la reacción se llevó a cabo con 12 μ L de GoTaq® Green Master Mix de Promega, 0,5 μ L de primer FW 5'-TGG CAT TGA TCT GGT TCA TC-3' (10 μ M), 0,5 μ L de

primer RV 5'-GTT TAG GAA TCT TCC CAC TT-3' (10 μ M), ambos de Invitrogen, 3 μ L de ADN y 12,5 μ L de agua UltraPure™ libre de nucleasas de Invitrogen. Se utilizó el termociclador MultiGene™ OptiMax (Labnet International Inc.) para su amplificación siguiendo el siguiente programa: Un paso de desnaturalización inicial a 94°C por 3 minutos. A continuación 35 ciclos consistentes en desnaturalización de 2 minutos a 95°C, etapa de hibridación de 1 minuto a 53°C y extensión de 1 min a 74°C. Para culminar, una extensión final de 5 minutos a 72°C. Los fragmentos resultantes se observan tras corrida electroforética en gel de agarosa al 1% en el transiluminador ENDURO™ GDS Touch Gel Documentation System (Labnet International Inc.).

En la figura se muestra una de las imágenes obtenida de la verificación de PCR.

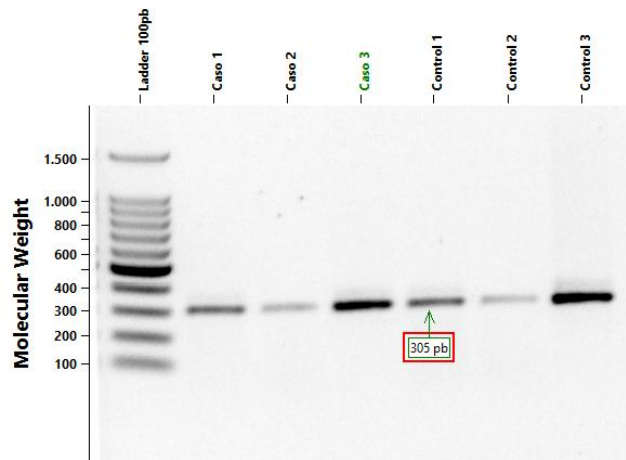


Ilustración 3: Producto de PCR del polimorfismo IL-1 β C-511T.
Elaborado por: Cárdenas y Cruz

- **Digestión para análisis de los fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLP).**

El polimorfismo IL-1 β C-511T corresponde a un SNP localizado en la región promotora del gen de Interleuquina 1 β , en la posición -511 y corresponde a un cambio de citosina por timina (C>T) que resultaría en un incremento de

transcripción genómica y así, aumentar la producción de la interleucina. El genotipo de un individuo, de acuerdo a este polimorfismo, podría ser: homocigoto (CC o TT) o heterocigoto (CT).

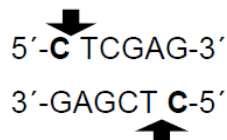
La enzima Aval reconoce el siguiente sitio dentro del fragmento amplificado:



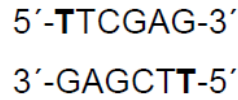
Siendo Y cualquier pirimidina (T, C) y R, cualquier purina (A, G). El reconocimiento y revelado de genotipo se da gracias a la digestión con la enzima.

Se usaron 1 μL de productos PCR y se añadieron 2 μL de 1X CutSmart® Buffer, 1 μL de enzima Aval (10 U/ μL) de New England Biolabs y 17,5 μL de H₂O ultrapura para tener finalmente un volumen de 20 μL . La digestión se dio a 37°C durante toda la noche, luego de lo cual, las muestras se corrieron en un gel de agarosa al 2,5%.

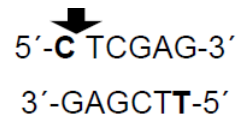
Genotipo homocigoto CC: Este genotipo se observa en el gel como dos bandas separadas, de 190 y 115 pb respectivamente. Esto es debido a que la enzima reconoce su sitio de restricción en ambas cadenas del ADN amplificado, por lo tanto, al ser cortadas ambas en la misma posición, se generan dos sub-fragmentos.



Genotipo homocigoto TT: Este genotipo se observa en el gel como una sola banda, correspondiente a los 305 pb del fragmento amplificado. La presencia de una sola banda corresponde a la ausencia de sitios reconocibles para la enzima en ambas cadenas del producto amplificado, razón por la cual la enzima no produce cortes.



Genotipo heterocigoto CT: se determina al observar 3 bandas (305 pb, 190 pb y 115 pb). Este genotipo resulta del reconocimiento del sitio de restricción en una sola cadena del producto PCR, por ende se generan dos fragmentos y uno tercero que corresponde a la cadena intacta que no fue digerida.



En la figura se muestran los distintos genotipos producto de la restricción enzimática.

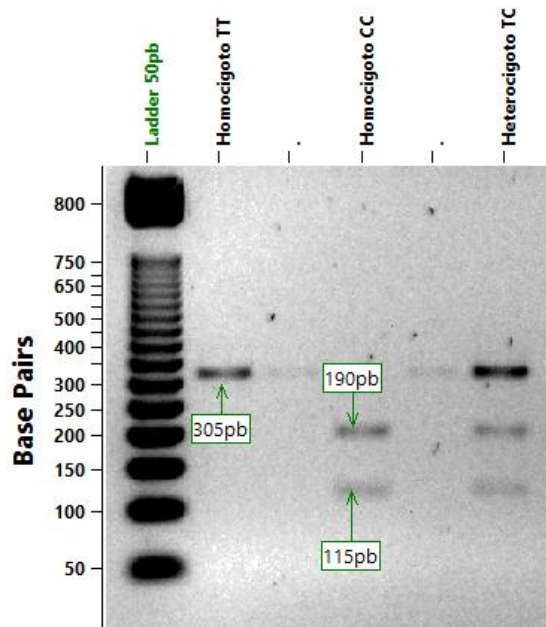


Ilustración 4: Patrón de restricción del polimorfismo IL-1β C-511T.
Elaborado por: Cárdenas y Cruz

3.1.6.2.2. Polimorfismo IL-1 β C+3953T

- **Reacción en cadena de la polimerasa**

Para el estudio de este polimorfismo se debe amplificar una región de 249pb correspondientes a una región el exón 5 del gen IL1 β . Se obtuvo un volumen final de 25 μ L para cada muestra, la reacción se llevo a cabo con 12 μ L de GoTaq® Green Master Mix de Promega, 0,5 μ L de primer FW 5'-GTT GTC ATC AGA CTT TGA CC-3' (10 μ M), 0,5 μ L de primer RV 5'-TTC AGT TCA TAT GGA CCA GA -3' (10 μ M), ambos de Invitrogen, 3 μ L de ADN y 12,5 μ L de agua UltraPure™ libre de nucleasas de Invitrogen. Se utilizó el termociclador MultiGene™ OptiMax (Labnet International Inc.) para su amplificación siguiendo el siguiente programa: Un paso de desnaturalización inicial a 94°C por 3 minutos. A continuación 35 ciclos consistentes en desnaturalización de 2 minutos a 95°C, etapa de hibridación de 1 minuto 53°C y extensión de 1 min a 74°C. Para culminar una extensión final de 5 minutos a 72°C. Los fragmentos resultantes se observan tras corrida electroforética en gel de agarosa al 1% en el transiluminador ENDURO™ GDS Touch Gel Documentation System (Labnet International Inc.).

En la figura se muestra una de las imágenes obtenida de la verificación de PCR.

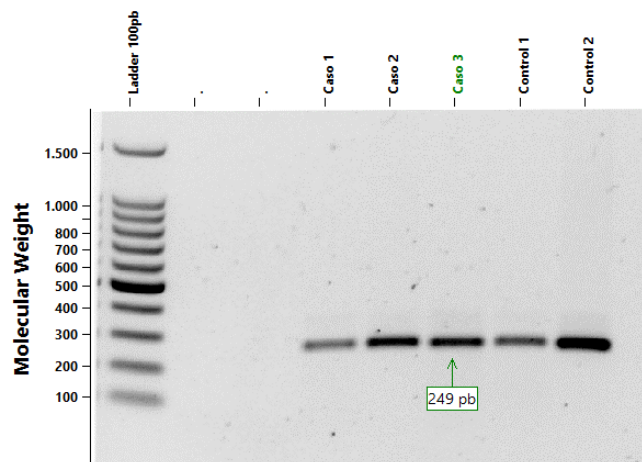
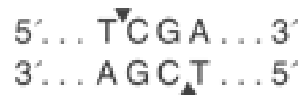


Ilustración 5: Producto de PCR del polimorfismo IL-1 β C+3953T.
Elaborado por Cárdenas y Cruz

- **Digestión para análisis de los fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLP).**

El polimorfismo IL-1 β C+3953T corresponde a un SNP localizado en el exón 5 del gen de Interleuquina 1 β , en la posición +3953 y corresponde a un cambio de citosina por timina (C>T) que se asocia con aumento de producción de la interleucina. El genotipo de un individuo, de acuerdo a este polimorfismo, podría ser: homocigoto (CC o TT) o heterocigoto (CT).

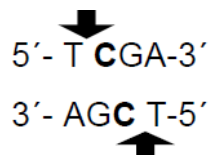
La enzima TaqI reconoce el siguiente sitio dentro del fragmento amplificado:



El reconocimiento y revelado de genotipo se da gracias a la digestión con la enzima.

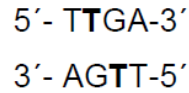
Se usaron 1 μ L de productos PCR y se añadieron 1 μ L 10X NEBuffer 4,1 μ L 100X BSA, 0,5 μ L de enzima TaqI (20 U/ μ L) de New England Biolabs y 16,5 μ L de H₂O ultra pura, para tener finalmente un volumen de 20 μ L. La digestión se dio a 65°C durante una hora, luego de lo cual, las muestras se corrieron en un gel de agarosa al 2,5%.

Genotipo homocigoto CC: Este genotipo se observa en el gel como dos bandas separadas, de 135 y 114 pb respectivamente. Esto es debido a que la enzima reconoce su sitio de restricción en ambas cadenas del ADN amplificado, por lo tanto, al ser cortadas ambas en la misma posición, se generan dos sub-fragmentos.

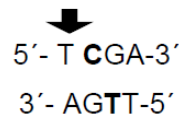


Genotipo homocigoto TT: Este genotipo se observa en el gel como una sola banda, correspondiente a los 249 pb del fragmento amplificado. La

presencia de una sola banda corresponde a la ausencia de sitios reconocibles para la enzima en ambas cadenas del producto amplificado, razón por la cual la enzima no produce cortes.



Genotipo heterocigoto CT o TC: Este genotipo se observa como 3 bandas individuales en el gel, que corresponden tanto a la longitud total del amplicón (249 pb) como a los productos de su digestión total con la enzima (135 y 114 pb). Este genotipo resulta del reconocimiento del sitio de restricción en una sola cadena del producto PCR, por ende se generan dos fragmentos y uno tercero que corresponde a la cadena intacta que no fue digerida.



En la figura se muestran los distintos genotipos productos de la restricción.

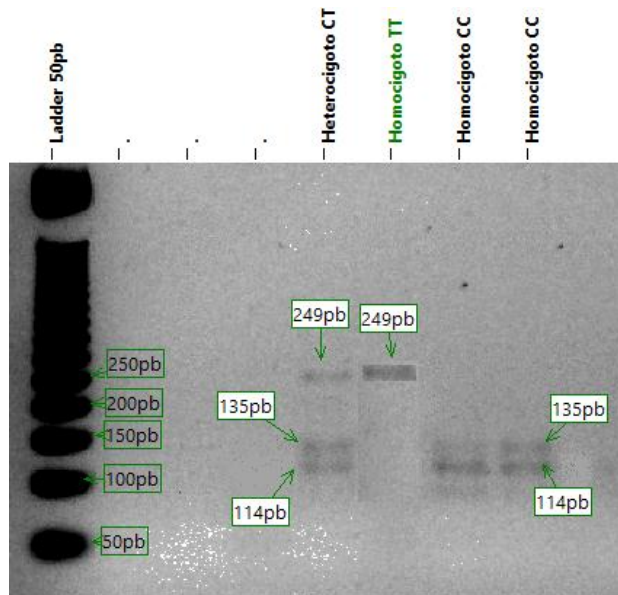


Ilustración 6: Patrón de restricción del polimorfismo IL-1 β C+3953T.
Elaborado por Cárdenas y Cruz

3.1.6.2.3. Polimorfismo IL-6 G-174C

- **Reacción en cadena de la polimerasa**

Para investigar este polimorfismo se debe amplificar una región de 198 pb correspondientes a la región promotora del gen IL6. Se obtuvo un volumen final de 25 μL para cada muestra, la reacción se llevó a cabo con 12 μL de GoTaq® Green Master Mix de Promega, 0,5 μL de primer FW 5'-TGA CTT CAG CTT TAC TCT TGT-3' (10 μM), 0,5 μL de primer RV 5'-CTG ATT GGA AAC CTT ATT AAG-3' (10 μM), ambos de Invitrogen, 3 μL de ADN y 12,5 μL de agua UltraPure™ libre de nucleasas de Invitrogen. Se utilizó el termociclador MultiGene™ OptiMax (Labnet International Inc.) para su amplificación siguiendo el siguiente programa: Un paso de desnaturalización inicial a 94°C por 10 minutos. A continuación 35 ciclos consistentes en desnaturalización de 1 minuto a 95°C, etapa de hibridación de 1,35 minutos a 55°C y extensión de 1 min a 72°C. Para culminar una extensión final de 10 minutos a 72°C. Los fragmentos resultantes se observan tras corrida electroforética en gel de agarosa al 1% en el transiluminador ENDURO™ GDS Touch Gel Documentation System (Labnet International Inc.).

La figura muestra una imagen obtenida de la verificación de PCR.

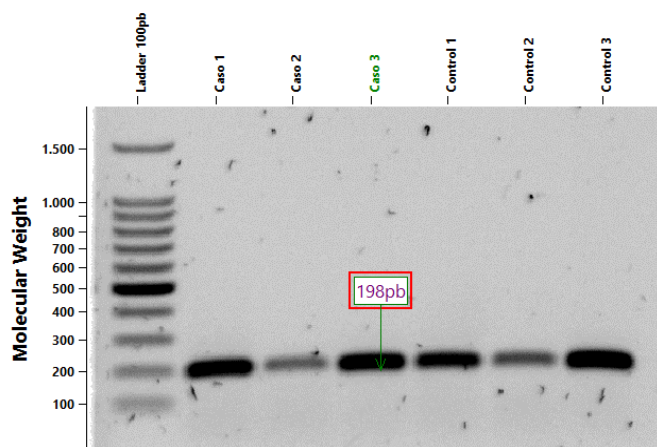


Ilustración 7: Producto de PCR del polimorfismo IL-6 G-174C.
Elaborado por Cárdenas y Cruz

- **Digestión para análisis de los fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLP).**

El polimorfismo IL-6 G-174C corresponde a un SNP localizado en la región promotora del gen de Interleuquina 6, en la posición -174 y corresponde a un cambio de guanina por citosina (G>C) que se asocia con aumento de producción de la interleuquina. El genotipo de un individuo, de acuerdo a este polimorfismo, podría ser: homocigoto (CC o GG) o heterocigoto (GC).

La enzima SfaNI reconoce el siguiente sitio dentro del fragmento amplificado:



El reconocimiento y revelado de genotipo se da gracias a la digestión con la enzima.

Se usaron 1 µL de productos de PCR y se añadieron 2 µL 10X NEBuffer, 1 µL de enzima SfaNI (2 U/µL) de New England Biolabs y 16 µL de H₂O ultra pura para tener finalmente un volumen de 20 µL. La digestión se dio a 37°C durante toda una noche, luego de lo cual, las muestras se corrieron en un gel de agarosa al 2,5%.

Genotipo homocigoto GG: Este genotipo se observa en el gel como dos bandas separadas, de 140 y 58 pb respectivamente. Esto es debido a que la enzima reconoce su sitio de restricción en ambas cadenas del ADN amplificado, por lo tanto, al ser cortadas ambas en la misma posición, se generan dos sub-fragmentos.



Genotipo homocigoto CC: Este genotipo se observa en el gel como una sola banda, correspondiente a los 198 pb del fragmento amplificado. La presencia de una sola banda corresponde a la ausencia de sitios reconocibles para la enzima en ambas cadenas del producto amplificado, razón por la cual la enzima no produce cortes.

5' GCATCC 3'

3' CGTAGC 5'

Genotipo heterocigoto GC o CG: Este genotipo se observa como 3 bandas individuales en el gel, que corresponden tanto a la longitud total del amplicón (198 pb) como a los productos de su digestión con la enzima (140 y 58 pb). Este genotipo resulta del reconocimiento del sitio de restricción en una sola cadena del producto PCR, por ende se generan dos fragmentos y un tercero que corresponde a la cadena intacta que no fue digerida.

5' GCATCG 3'

3' CGTAGC 5'

En la figura se muestran los distintos genotipos producto de la restricción.

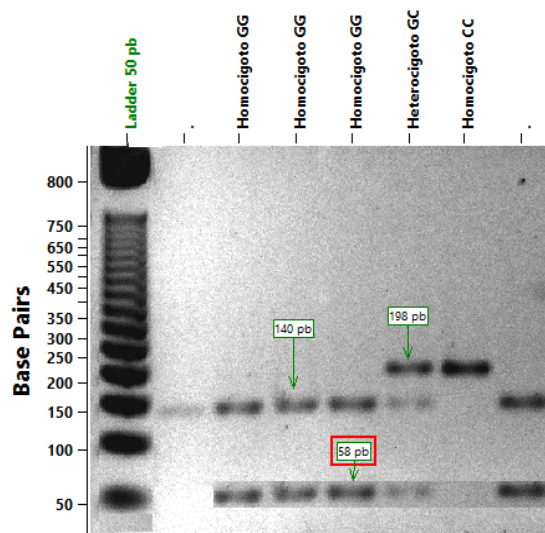


Ilustración 8: Patrón de restricción del polimorfismo IL-6 G-174C
Elaborado por Cárdenas y Cruz

3.1.6.2.4. Polimorfismo IL-6 G-572C

- **Reacción en cadena de la polimerasa.**

Para investigar este polimorfismo se debe amplificar una región de 163pb correspondientes a la región promotora del gen IL6. Se obtuvo un volumen final de 25 μ L para cada muestra, la reacción se llevó a cabo con 12 μ L de GoTaq® Green Master Mix de Promega, 0,5 μ L de primer FW 5'-GGAGACGCCTTGAAGTAACTGC-3' (10 μ M), 0,5 μ L de primer RV 5'-GAGTTTCCTCTGACTCCATCGCAG-3' (10 μ M), ambos de Invitrogen, 3 μ L de ADN y 12,5 μ L de agua UltraPure™ libre de nucleasas de Invitrogen. Se utilizó el termociclador MultiGene™ OptiMax (Labnet International Inc.) para su amplificación siguiendo el siguiente programa: Un paso de desnaturalización inicial a 94°C por 10 minutos. A continuación 35 ciclos consistentes en desnaturalización de 1 minuto a 95°C, etapa de hibridación de 1,35 minutos a 55°C y extensión de 1 min a 72°C. Para culminar una extensión final de 10 minutos a 72°C. Los fragmentos resultantes se observan tras corrida electroforética en gel de agarosa al 1% en el transiluminador ENDURO™ GDS Touch Gel Documentation System (Labnet International Inc.).

En la figura se muestra una imagen obtenida de la verificación de PCR.

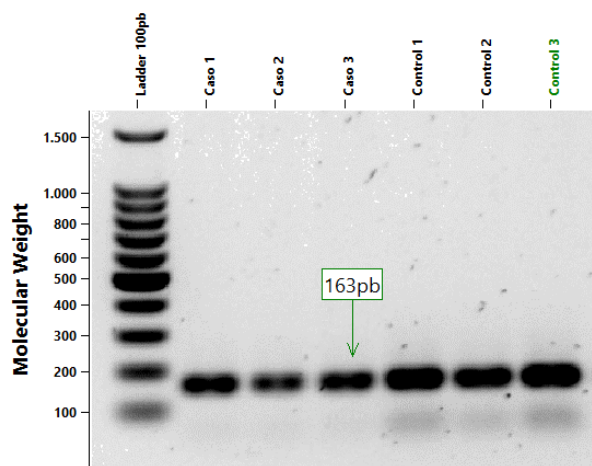


Ilustración 9: Producto de PCR del polimorfismo IL-6 G-572C.

- **Digestión para análisis de los fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLP).**

El polimorfismo IL-6 G-572C concierne a un SNP localizado en la región promotora del gen de Interleuquina 6, en la posición -572 y corresponde a un cambio de guanina por citosina (G>C) que se asocia con aumento de producción de la interleuquina. El genotipo de un individuo, de acuerdo a este polimorfismo, podría ser: homocigoto (CC o GG) o heterocigoto (GT).

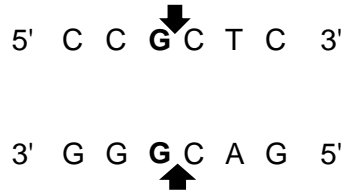
La enzima Mbl1 reconoce el siguiente sitio dentro del fragmento amplificado:



El reconocimiento y revelado de genotipo se da gracias a la digestión con la enzima.

Se usaron 1µL de productos PCR y se añadieron 2 µL Anza™ 10X Buffer, 1µL de enzima Anza™ 115 Mbil (10 U/µL) de Invitrogen y 16 µL de H₂O ultra pura para tener finalmente un volumen de 20 µL. La digestión se dio a 37°C durante toda una noche, luego de lo cual, las muestras se corrieron en un gel de agarosa al 2,5%.

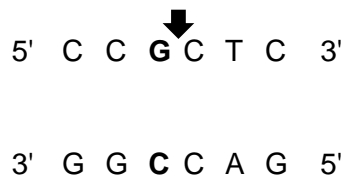
Genotipo homocigoto GG: Este genotipo se observa en el gel como dos bandas separadas, de 88 y 74 pb respectivamente. Esto es debido a que la enzima reconoce su sitio de restricción en ambas cadenas del ADN amplificado, por lo tanto, al ser cortadas ambas en la misma posición, se generan dos sub-fragmentos.



Genotipo homocigoto CC: Este genotipo se observa en el gel como una sola banda, correspondiente a los 163 pb del fragmento amplificado. La presencia de una sola banda corresponde a la ausencia de sitios reconocibles para la enzima en ambas cadenas del producto amplificado, razón por la cual la enzima no produce cortes.



Genotipo heterocigoto GC o CG: Este genotipo se observa como 3 bandas individuales en el gel, que corresponden tanto a la longitud total del amplicón (163 pb) como a los productos de su digestión total con la enzima (88 y 74 pb). Este genotipo resulta del reconocimiento del sitio de restricción en una sola cadena del producto CRP, por ende se generan dos fragmentos y uno tercero que corresponde a la cadena intacta que no fue digerida.



En la figura se muestran los distintos genotipos producto de la restricción.

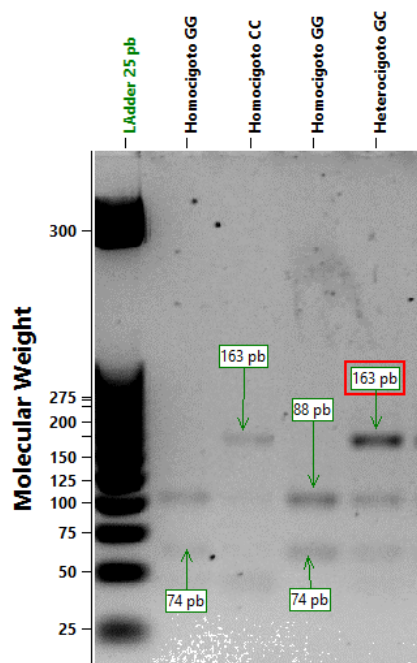


Ilustración 10: Patrón de restricción del polimorfismo IL-6 G-572C.
Elaborado por Cárdenas y Cruz.

3.1.7. Aspectos bioéticos

Se abordó a los pacientes presentándonos como investigadores de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador quienes estamos indagando sobre la cardiopatía isquémica, enfermedad común en nuestro país. Se brindó la respectiva información para invitarlos a participar en el estudio, la cooperación fue totalmente voluntaria, y los pacientes firmaron un consentimiento informado. Los datos obtenidos fueron manejados con confidencialidad.

La información acerca del paciente y su estado de salud fue puesta fuera de alcance y nadie, sino los investigadores tuvieron acceso a verla. Cualquier información acerca del paciente se registró con un número en vez de su nombre. Solo los investigadores conocían el número y se mantiene la información encerrada en cabina con llave, esta no fue compartida ni entregada a nadie. El consentimiento informado se presenta en el Anexo 5.

3.1.8. Aspectos Administrativos

Recursos Humanos: El equipo de investigación estuvo coordinado por la directora del proyecto, el asesor metodológico, y los autores de la disertación; quienes conforman parte del equipo del laboratorio de biología molecular de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Recursos Materiales: Toda la información recolectada de las historias clínicas digitalizadas del HCAM fueron agrupadas en una base de datos para el manejo de los investigadores. Además el procesamiento y análisis de las muestras biológicas se realizó en el laboratorio de biología molecular donde se cuenta con los siguientes equipos:

1. Tubos de extracción de sangre EDTA 5%
2. Pipetas y micro pipetas
3. Centrifuga de mesa Prism™ LabNet Modelo C2500.
4. Termociclador de mesa OptiMax™ LabNet Modelo TC9610
5. Fotodocumentador ENDURO™ GDS Touch Gel Documentation System.
LabNet
6. Cámaras de Electroforesis en Gel Horizontal, C.B.S. Scientific
7. Cámara de flujo laminar
8. Reactivos

Costos: El valor del análisis molecular fue asumido por la PUCE como parte de un proyecto de investigación de la Facultad de Medicina, los gastos de logística se asumieron por los investigadores, un valor promedio de 400 USD.

4. CAPÍTULO IV

4.1. RESULTADOS.

4.1.1. Características generales de los casos y controles.

Se recolectó la información de 76 pacientes y 76 individuos sanos mediante sus historias clínicas encontrándose los siguientes resultados: el sexo predominante fue el masculino constituyó el 86,84% de los casos y 68,42% de los controles. El sexo femenino representó el 13,16% de los casos y el 31,58% de los controles. La edad media fue 64.7 años en el grupo de estudio y 57,5 años en el grupo control.

En cuanto a los antecedentes patológicos personales, los casos presentaron HTA en un 57,89%; diabetes mellitus tipo 2 un 32,89% y alteración en el metabolismo de los lípidos en un 60,53%, patologías que presentan menor frecuencia en los controles como muestra la tabla 6.

Los hábitos revisados muestran una frecuencia de consumo de alcohol del 52,63% en el grupo de estudio, mientras en los controles se presentó un 23,68%; el hábito tabáquico se reportó en un 47,37% y 30,26% de los casos y controles respectivamente.

Tabla 6: Características generales de casos y controles.

Variables	Casos n= 76	Controles n=76
Edad	64,7 ± 12	57,5 ± 12
Masculino	66 (86,84%)	52 (68,42%)
Femenino	10 (13,16%)	24 (31,58%)
Hipertensión arterial (HTA)	44 (57,89%)	28 (36,84%)
Diabetes Mellitus Tipo 2	25 (32,89%)	12 (15,79%)
Dislipidemia	46 (60,53%)	18 (23,6%)
Alcohol	40 (52,63%)	18 (23,68%)
Tabaco	36 (47,37%)	23 (30,26%)

Elaborado por Cárdenas y Cruz

De los 76 casos en los que se realizó intervención angiográfica se encontró que 46 de los pacientes tuvieron dos o más arterias lesionadas, corresponden el 60,53%, mientras que el 39,47% presentó lesión única arterial. La arteria descendente anterior fue la más frecuentemente afectada con un 65,79%, seguida de la coronaria derecha con una frecuencia de 55,26%.

Tabla 7: Frecuencias de lesión coronaria.

Arteria Lesionada	Frecuencia
Coronaria Derecha	42 (55,26%)
Coronaria Izquierda	9 (11,84%)
A. Descendente Anterior	50 (65,79%)
A. Circunfleja	32 (42,11%)
Otra	6 (8,00%)
Lesión Multivaso	46 (60,53%)

Elaborado por Cárdenas Y Cruz

4.1.2. Relación de los polimorfismos con el riesgo de presentar cardiopatía Isquémica.

4.1.2.1. Polimorfismo IL-1 β C-511T

Se determinaron los genotipos de 76 pacientes y 76 controles sanos para el polimorfismo IL-1 β C-511T. La distribución de las frecuencias genotípicas se presentó de la siguiente manera: en el grupo de los casos afectados, 33 (43,42%) individuos fueron homocigotos TT (normales), 30 (39,47%) heterocigotos TC y 13 (17,115%) homocigotos CC (mutados). En el grupo de los controles 48 (63,16%) individuos fueron homocigotos TT, 19 (25%) heterocigotos TC y 9 (11,84%) homocigotos CC.

En cuanto a la frecuencia del alelo C, en los casos afectos fue de 0,37 y en los controles de 0,24, mientras que la frecuencia del alelo T en casos afectos fue de 0,63 y en los controles de 0,76.

Mediante el análisis de chi cuadrado realizada para el grupo de casos, se obtuvieron valores que muestran que la población está en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 8: Equilibrio Hardy-Weinberg del polimorfismo IL-1 β C-511T.

Genotipo	No. Individuos	%	No. Alelos	Frecuencias Genotípicas	Frecuencias Esperadas	Frecuencia Alélica	X ² HW
TT	33	43,42	66	0,43	0,40	0,63	1,74
CC	13	17,11	26	0,17	0,14	0,37	
TC	30	39,47	60	0,39	0,47		
Total	76	100	152	1,00	1,00	1,00	

Elaborado por Cárdenas y Cruz

La prueba de Odds ratio se aplicó para conocer el riesgo relativo de que, ya sea un genotipo o un alelo específico, esté relacionado con el desarrollo de cardiopatía isquémica. Al analizar el genotipo CC, considerado raro o mutado, se encontró un OR de 1,53(IC al 95% de 0,61-3,84) sin embargo este hallazgo no es significativo ($p=0,48$). De igual forma, se evaluaron los genotipos TT y TC contra el genotipo CC (TT + TC vs CC), obteniéndose un valor de p de 0,48 (OR=0,65: IC al 95% 0,26-1,62). Lo anterior podría indicar que los genotipos TT y TC confieren un riesgo menor para el desarrollo del padecimiento, mientras que el genotipo CC podría conferir un mayor riesgo para el desarrollo de la patología. Esta presentación se ve reforzada con la comparación de las frecuencias alélicas donde se muestra que el alelo C tiene un OR de 1,81(IC al 95% de 1,10-2,97), valor de $p=0,02$.

Tabla 9: Frecuencias genotípicas y asociación de riesgo del polimorfismo IL-1 β C-511T.

IL-1 β C-511T (Rs16944)	Casos	Frecuencias	Controles	Frecuencias	Valor de p	OR (IC al 95%)
Genotipos	n=76		n=76			
	TT	33	43,42%	48	63,16%	
	TC	30	39,40%	19	25%	
	CC	13	17,11%	9	11,84%	0,48
TT+TC vs CC					0,48	0,65(0,26-1,62)
Haplótipo	n=152		n=152			
	T	96	63,16	115	75,66	
	C	56	36,84	37	24,34	0,02

Elaborado por Cárdenas y Cruz

4.1.2.2. Polimorfismo IL-1 β C+3953T

Se determinaron los genotipos de 76 pacientes y 76 controles sanos para el polimorfismo IL-1 β C+3953T. La distribución de las frecuencias genotípicas se presentó de la siguiente manera: en el grupo de los casos afectos, 0 (0%) individuos fueron homocigotos normales (TT), 14 (18,42%) heterocigotos TC y 62 (81,42%) homocigotos mutados (CC). En el grupo de los controles 4 (5,26%) individuos fueron homocigotos TT, 11 (14,47%) heterocigotos TC y 61 (80,26%) homocigotos CC.

En cuanto a la frecuencia del alelo C, en los casos afectos fue de 0,91 y en los controles de 0,88, mientras que la frecuencia del alelo T en casos afectos fue de 0,09 y en los controles de 0,13.

Mediante el análisis de chi cuadrado realizada para el grupo de casos y controles, se obtuvieron valores que muestran como la población está en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 10: Equilibrio de Hardy-Weinberg del polimorfismo IL-1 β C+3953T.

Genotipo	No. Individuos	%	No. Alelos	Frecuencias Genotípicas	Frecuencias Esperadas	Frecuencia Alélica	X ² HW
TT	0	0,00	0	0,00	0,01	0,09	0,82 28
CC	62	81,58	124	0,82	0,83	0,91	
TC	14	18,42	28	0,18	0,16		
Total	76	100,0	152	1,00	1,00	1,00	

Elaborado por Cárdenas y Cruz

La prueba de Odds ratio se aplicó para conocer el riesgo que ya sea un genotipo o un alelo específico confieran para el desarrollo de cardiopatía isquémica. Al analizar el genotipo CC, considerado de riesgo, se encontró un OR de 1,08 (IC al 95% de 0,48-2,44) sin embargo este hallazgo no es significativo ($p=1$). De igual forma, se evaluaron los genotipos TT y TC contra el genotipo CC (TT + TC vs CC), obteniéndose un valor de p de 1 (OR=0.92, IC al 95% 0.48-2.06). Lo anterior podría indicar que los genotipos TT y TC confieren un riesgo menor para el desarrollo del padecimiento, mientras que el genotipo CC podría conferir un mayor riesgo para el desarrollo de la patología sin embargo no se tiene confirmación estadística. La comparación de las frecuencias alélicas donde se muestra que el alelo C tiene un OR de 1,4 (IC al 95% de 0,67-2,92), valor de $p=0,46$, revelan un grado de asociación de este alelo con el riesgo de padecer cardiopatía isquémica.

Tabla 11: Frecuencias genotípicas y asociación de riesgo del polimorfismo IL-1 β C+3953T.

IL-1 β C+3953T (Rs1143634)	Casos	Frecuencias	Controles	Frecuencias	Valor de p	OR (IC al 95%)	
Genotipos	n=76		N=76				
	TT	0	0%	4	5,26%		
	TC	14	18,42%	11	14,47%		
	CC	62	81,58%	61	80,26%	1	1,08(0,48-2,44)
	TT+TC vs CC					1	0,92(0,48-2,06)
Haplotipos	n=152		n=152				
	T	14	9,21	19	12,50		
	C	138	90,79	133	87,50	0,46	1,4(0,67-2,92)

4.1.2.3. Polimorfismo IL-6 G-174C

Se determinaron los genotipos de 76 pacientes y 76 controles sanos para el polimorfismo IL-6 G-174C. La distribución de las frecuencias genotípicas se presentó de la siguiente manera: en el grupo de los casos, 5 (6,58%) individuos fueron homocigotos normales (CC), 15 (19,74%) heterocigotos GC y 56 (73,68%) homocigotos mutados (GG). En el grupo de los controles 32 (42,11%) individuos fueron homocigotos TT, 13 (17,11%) heterocigotos GC y 31(40,79%) fueron homocigotos GG.

En cuanto a la frecuencia del alelo G, en los casos afectos fue de 0,84 y en los controles de 0,49, mientras que la frecuencia del alelo C en casos afectos fue de 0,16 y en los controles de 0,51.

Mediante el análisis de chi cuadrado realizada para el grupo de casos, se obtuvieron valores que indican que esta población no está en equilibrio de Hardy-Weinberg lo cual significa que algo está sucediendo en la población a nivel de las fuerzas evolutivas, y puede ser digno de estudio.

Tabla 12: Equilibrio de Hardy-Weinberg del polimorfismo IL-6 G-174C.

Genotipo	No. Individuos	%	No. Alelos	Frecuencias Genotípicas	Frecuencias Esperadas	Frecuencia Alélica	X ² HW
CC	5	6,58	10	0,07	0,71	0,16	1551 ,45
GG	56	73,68	112	0,74	0,27	0,84	
GC	15	19,74	30	0,20	0,03		
Total	76	100,0	152	1,00	1,00	1,00	

Elaborado por Cárdenas y Cruz

La prueba de Odds ratio se aplicó para conocer el riesgo que ya sea un genotipo o un alelo específico confieren para el desarrollo de cardiopatía isquémica. Al analizar el genotipo GG, considerado de riesgo, se encontró un OR de 4,06(IC al 95% de 2,04-8,06) estadísticamente significativa (p=0,00008). De igual forma, se evaluaron los genotipos CC y GC contra el genotipo GG (CC + GC vs GG), obteniéndose un valor OR=0,24 (IC al 95%

0,12-0,48). Lo anterior indica claramente que los genotipos CC y GC confieren un riesgo menor para el desarrollo del padecimiento, mientras que el genotipo GG constituye un claro riesgo para el desarrollo de la patología con una amplia confirmación estadística. La comparación de las frecuencias alélicas dónde se muestra que el alelo G tiene un OR de 5,21(IC al 95% de 3,05-8,89), valor de $p=0$, confirman la asociación de este polimorfismo con el riesgo de padecer cardiopatía isquémica.

Tabla 13: Frecuencias genotípicas y asociación de riesgo del polimorfismo IL-6 G-174C.

IL-6 G-174C (Rs1800795)		Casos	Frecuen cias	Controles	Frecuen cias	Valor de p	OR (IC al 95%)
Genotipos		n=76		n=76		0,00008	4,06(2,04-8,06)
	CC	5	6,58%	32	42,11%		
	GC	15	19,74%	13	17,11%		
	GG	56	73,68%	31	40,79%		
	CC+GC vs GG					0,00008	0,24(0,12-0,48)
Haplotipos		n=152		n=152		0	5,21(3,05-8,89)
	C	25	16,45	77	50,66		
	G	127	83,55	75	49,34		

Elaborado por Cárdenas y Cruz

4.1.2.4. Polimorfismo IL-6 G-572C

Se determinaron los genotipos de 76 pacientes y 76 controles sanos para el polimorfismo IL-6 G-572C. La distribución de las frecuencias genotípicas se presentó de la siguiente manera: en el grupo de los casos, 12 (15,79%) individuos fueron homocigotos normales (CC), 31 (40,79%) heterocigotos GC y 33 (43,42%) homocigotos mutados (GG). En el grupo de los controles 18 (23,68%) individuos fueron homocigotos TT, 31(40,79%) heterocigotos GC y 27 (35,53%) fueron homocigotos GG.

En cuanto a la frecuencia del alelo G, en los casos afectos fue de 0,64 y en los controles de 0,56, mientras que la frecuencia del alelo C en casos afectos fue de 0,36 y en los controles de 0,44.

Mediante el análisis de chi cuadrado realizada para el grupo de casos, se obtuvieron valores que indican que la población está en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 14: Equilibrio de Hardy-Weinberg del polimorfismo IL-6 G-572C.

Genotipo	No. Individuos	%	No. Alelos	Frecuencias Genotípicas	Frecuencias Esperadas	Frecuencia Alélica	X ² HW
CC	12	15,79	24	0,16	0,13	0,36	1,04
GG	33	43,42	66	0,43	0,46	0,64	
GC	31	40,79	62	0,41	0,41		
Total	76	100,00	152	1,00	1,00	1,00	

Elaborado por Cárdenas y Cruz

La prueba de Odds ratio se aplicó para conocer el riesgo que ya sea un genotipo o un alelo específico confiere para el desarrollo de cardiopatía isquémica. Al analizar el genotipo GG, considerado de riesgo, se encontró un OR de 1,39 (IC al 95% de 0,72-2,67) ($p=0,4$). De igual forma, se evaluaron los genotipos CC y GC contra el genotipo GG (CC + GC vs GG), obteniéndose un valor OR=0,71 (IC al 95% 0,37-1,37). Lo puede significar que los genotipos CC y GC confieren un riesgo menor para el desarrollo del padecimiento, mientras que el genotipo GG constituye un posible riesgo para el desarrollo de la patología aún sin confirmación estadística. La comparación de las frecuencias alélicas donde se muestra que el alelo G tiene un OR de 1,39 (IC al 95% de 0,87-2,20), valor de $p=0,19$ apoya la asociación de este polimorfismo con el riesgo de padecer cardiopatía isquémica sin embargo no se tiene una clara significancia estadística.

Tabla 15: Frecuencias genotípicas y asociación de riesgo del polimorfismo IL-6 G-572C.

IL-6 G-572C (Rs1800796)		Casos	Frecuen cias	Controles	Frecuen cias	Valor de p	OR (IC al 95%)
Genotipos		N=76		N=76			
	CC	12	15,79%	18	23,68%		
	GC	31	40,79%	31	40,79%		
	GG	33	43,42%	27	35,53%	0,4	1,39(0,72-2,67)
	CC+GC vs GG					0,4	0,71(0,37-1,37)
Haplotipos		n=152		n=152			
	C	55	36,18	67	44,08		
	G	97	63,82	85	55,92	0,19	1,39(0,87-2,20)

Elaborado por Cárdenas y Cruz

4.1.3. Relación de los polimorfismos con el riesgo de presentar lesión coronaria multivaso.

Se identificaron las frecuencias genotípicas de los pacientes con lesión coronaria multivaso (EMV) y los pacientes con enfermedad de vaso único (EUV).

De los 13 pacientes que presentaron el polimorfismo IL-1 β C-511T (CC), 9 tenían lesión multivaso y 4 lesión en un solo vaso. El alelo C, tuvo una frecuencia de 0,67 en los individuos con EMV y 0,32 en aquellos con EUV.

La asociación entre el polimorfismo y el riesgo de presentar lesión multivaso se buscó a través del OR, obteniéndose OR=1,58(IC al 95%= 0,43-5,68), p=0,35. Lo que indica la posibilidad de una asociación, aunque no se obtuvo una confirmación estadística. La comparación de las frecuencias alélicas dónde se muestra que el alelo C tiene un OR de 1,64(IC al 95% de 0,82-3,27), valor de p=0,21 apoya la asociación de este polimorfismo con el riesgo de padecer EMV sin embargo no se tiene una clara significancia estadística.

En los pacientes que presentaron el polimorfismo IL-1 β C+3953T (CC), de un total de 62, 37 tenían lesión multivaso y 25 lesiones en un solo vaso. El alelo C, tuvo una frecuencia de 0,6 en los individuos con EMV y 0,4 en aquellos con EUV.

La asociación entre el polimorfismo y el riesgo de presentar lesión multivaso se buscó a través del OR, obteniéndose $OR=0,82$ (IC al 95%= 0,24-2,74), $p=0,49$. Lo que indica la no existencia de una asociación. La comparación de las frecuencias alélicas dónde se muestra que el alelo C tiene un OR de 0,83(IC al 95% de 0,26-2,63), valor de $p=0,98$ podría descartar la asociación de este polimorfismo con el riesgo de padecer EMV.

De los 56 pacientes que presentaron el polimorfismo IL-6 G-174C (GG), 32 tenían lesión multivaso y 24 lesión en un solo vaso. El alelo G, tuvo una frecuencia de 0,6 en los individuos con EMV y 0,4 en aquellos con EUV.

La asociación entre el polimorfismo y el riesgo de presentar lesión multivaso se buscó a través del OR, obteniéndose $OR=0,57$ (IC al 95%= 0,19-1,7), $p=0,45$. Por lo tanto no se encuentra una asociación de riesgo entre el polimorfismo y el desarrollo de enfermedad multivaso. En la comparación de las frecuencias alélicas se muestra que el alelo G tiene un OR de 0,67(IC al 95% de 0,27-1,68), valor de $p=0,54$ no se demuestra asociación del alelo mutante con el desarrollo de enfermedad multivaso.

En los pacientes que presentaron el polimorfismo IL-6 G-572C (GG) de un total de 33, 19 tenían lesión multivaso y 14 lesión en un solo vaso. El alelo G, tuvo una frecuencia de 0,34 en los individuos con EMV y 0,42 en aquellos con EUV.

La asociación entre el polimorfismo y el riesgo de presentar lesión multivaso se buscó a través del OR, obteniéndose $OR=0,8$ (IC al 95%= 0,31-2,03), $p=0,8$. Por lo tanto no se encuentra una asociación de riesgo entre el polimorfismo y el desarrollo de enfermedad multivaso. En la comparación de las frecuencias alélicas se muestra que el alelo G tiene un OR de 0,72(IC al 95% de 0,36-1,43), valor de

p=0,44; no se demuestra asociación del alelo mutante con el desarrollo de enfermedad multivaso.

Tabla 16: Frecuencias de los polimorfismos en relación con la lesión coronaria.

	EUV (n=30)	EMV (n=46)	Total	Valor de p	OR (IC al 95%)
IL-1β C-511T (CC)	4(30,77)	9(69,23)	13(100)	0,35	1,58(0,43-5,68)
Alelo T	42(43,75)	54(56,25)	96(100)		
Alelo C	18(32,14)	38(67,86)	56(100)	0,21	1,64(0,82-3,27)
IL-1β C-3953T (CC)	25(40,43)	37(56,68)	62(100)	0,49	0,82(0,24-2,74)
Alelo T	5(35,71)	9(64,29)	14(100)		
Alelo C	55(39,86)	83(60,14)	138(100)	0,98	0,83(0,26-2,63)
IL-6 G-174C (GG)	24(42,86)	32(57,14)	56(100)	0,45	0,57(0,19-1,7)
Alelo C	8(32)	17(68)	25(100)		
Alelo G	52(40,94)	75(59,06)	127(100)	0,54	0,67(0,27-1,68)
IL-6 G-572C (GG)	14(42,42)	19(57,58)	33(100)	0,8	0,8(0,31-2,03)
Alelo C	19(34,55)	36(65,45)	55(100)		
Alelo G	41(42,27)	56(34,55)	97(100)	0,44	0,72(0,36-1,43)

Elaborado por Cárdenas y Cruz

5. CAPITULO V

5.1. DISCUSIÓN

Como primer punto, en el análisis de los resultados obtenidos en esta investigación se abordan los factores poblacionales, comorbilidades y factores de riesgo presentes en grupos de estudio.

Las características de las poblaciones muestran que en el grupo de casos el sexo masculino fue más frecuente con un 86,84% frente a 13,16% del sexo femenino, lo que se explica por la mayor presencia de cardiopatía isquémica en los hombres a nivel de la población ecuatoriana. En el 2014, 2.643 varones murieron por enfermedades isquémicas del corazón, comparado con 1.787 defunciones femeninas por esta causa, es decir, de cada 10 personas que mueren por enfermedad isquémica cardíaca 6 son hombres.⁹

Las comorbilidades más frecuentemente asociadas a la cardiopatía isquémica fueron la hipertensión arterial (HTA), presente en el 57,89% de los pacientes, la Dislipidemia presente en el 60,53% y la diabetes mellitus tipos 2 (DM) con una ocurrencia del 23,68%. Estas patologías consideradas como factores de riesgo cardiovascular presentan una distribución similar a nivel mundial. Un estudio en población italiana muestra que los pacientes con enfermedad arterial coronaria sufren HTA en un 45%; DM en un 13%.⁵⁵ La distribución epidemiológica en Brasil presenta datos de concurrencia para HTA e IAM del 52% y para la DM e IAM del 10%.⁵⁶ En el grupo control se observó que el 36,84% de los individuos presentaron HTA, un 15,79% DM y el 23,6% alteración en el metabolismo de los lípidos, cifras superiores a las que se esperaba encontrar basados en datos que muestran que en Quito en el año 2008 se estableció una prevalencia de HTA de 17,3% y DM un 11,9%.⁸ En la población latinoamericana según el estudio CARMELA la prevalencia de HTA es del 18%, de Dislipidemia el 14% y diabetes mellitus un 7%.

Tomando como referencia estos resultados podríamos decir que la prevalencia de factores de riesgo cardiovascular en nuestro país es mayor.⁸

Con respecto a los hábitos prevaleció el alcoholismo, pues el 52,63% de los casos se declaró consumidor, seguido del consumo de tabaco que fue del 47,37%. La prevalencia de tabaquismo encontrada en Quito al 2008 fue de 60% mientras que a nivel general de Latinoamérica fue del 30%.⁸ Esto indica que nuestra población de estudio es similar a la población general en cuanto a hábitos perniciosos.

El objetivo principal de este trabajo de investigación fue demostrar que las variaciones genéticas en la población ecuatoriana constituyen un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades. Específicamente el estudio se enfocó en la patología cardiovascular, pues en el Ecuador es la principal causa de muerte, y se espera que las cifras de mortalidad crezcan exponencialmente en los próximos años. Estudios recientes demuestran que la inflamación es la piedra angular en la fisiopatología del proceso aterosclerótico, principal etiología de los síndromes coronarios agudos. Al ser las interleucinas moléculas primordiales en la respuesta inflamatoria se piensa que alteraciones en la estructura genética determinan su sobreexpresión, facilitando el proceso inflamatorio. Hipotéticamente los polimorfismos de las interleucinas 1 y 6 estarían relacionados con un mayor riesgo de desarrollar cardiopatía isquémica.

El estudio genético se realizó mediante la técnica de PCR (RFLP), una metodología que ha sido extensamente empleada para la determinación de polimorfismos de nucleótido simple (SNP), alteraciones en el genoma que confiere a grupos particulares de personas riesgo de contraer ciertas enfermedades. Luego de estandarizar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la amplificación de los cuatro segmentos estudiados, pertenecientes a los genes IL-1, IL-6, se procedió a la digestión enzimática de los mismos a través de enzimas de restricción específicas para cada polimorfismo. Todos los procesos se realizaron aplicando protocolos determinados cuya efectividad fue altamente confirmada, por tal motivo este estudio puede ser fácilmente replicado.

El primer análisis estadístico realizado una vez obtenidos los genotipos fue el equilibrio de Hardy-Weinberg mediante el cual se pudo conocer que las distribuciones genotípicas para los polimorfismos IL-1 β C-511T e IL1 β C+3953T se encuentran en equilibrio. Este resultado sugiere que no existen fuerzas externas evolutivas, como la selección natural que alteren el equilibrio de la población de estudio. Es decir, las frecuencias de los alelos en la muestra son estables y no se han dado fallas en la genotipificación.

Los resultados obtenidos del análisis del polimorfismo IL-1 β C-511T (rs16944) indican que el genotipo CC, considerado raro o mutado, estaría relacionado con el riesgo de desarrollar cardiopatía isquémica. En la población de nuestro estudio la variante CC presenta una frecuencia del 17,11% en los casos y el 11,84% en los controles, mostrando un incremento de riesgo en 1.5 veces de sufrir un evento coronario al compararlo con los individuos que presentaron el genotipo TC y TT; es decir estos dos genotipos confieren un menor riesgo para el desarrollo de la patología (OR=0,65 IC al 95% = 0,26 – 1,62). Esta asociación de riesgo puede verse reforzada con el análisis alélico, donde el alelo C origina un riesgo 1,81 veces superior que el alelo T.

En el estudio realizado por *Domingos L.S et al* en población brasileña se muestra una mayor frecuencia del genotipo CC en los pacientes con enfermedad coronaria (30,4%) en comparación con los controles (16,5%), con un OR estimado de 2,32 (p=0,019), lo que significa que presentar el polimorfismo confiere predisposición para los eventos cardiovasculares.⁴⁶ Como puede observarse en esta población la frecuencia de presentación del polimorfismo IL-1 β C-511T en pacientes con patología coronaria es superior a la nuestra (30,4% vs 17,11%), sin embargo en ambas población constituye un factor de riesgo.

La distribución genotípica en población norteamericana muestra que el genotipo CC tiene una frecuencia de presentación del 23%, mientras que en la población taiwanesa se presenta hasta el 40%, esto demuestra que la presentación genotípica puede variar según las etnias.⁵⁹

En la población turca se realizó un estudio con 381 individuos donde no se presenta diferencia significativa de la distribución del polimorfismo IL-1 β C-511T entre los controles y los pacientes con síndrome coronario agudo. Al realizar el análisis de la distribución de alelos encontraron asociación entre la presencia del alelo C y la angina de pecho ($p=0,041$). Este hallazgo tiene concordancia con la relación de riesgo del mismo alelo en nuestro estudio (OR= 1,81 IC al 95% 1,10-2,97; $p=0,02$).⁵⁸

En una muestra de la población mexicana los resultados indican que el genotipo CC podría ser un factor de riesgo para el desarrollo de IAM, mientras que los genotipos TT y TC representarían un menor riesgo para presentar dicho padecimiento.⁶⁰ Estos datos se asemejan a los resultados obtenidos en nuestra investigación. Probablemente esto se debería a la composición étnica de nuestras poblaciones.

Otros estudios muestran resultados discordantes. Investigación de una serie de 335 Italianos no mostró diferencias en la distribución alélica ni genotípica entre los casos y controles ($p=0,51$), sin embargo el polimorfismo se ha visto asociado con el riesgo de sufrir un IAM en edades tempranas, sugiriendo un posible rol de la mutación IL-1 β C-511T en la trombosis más que en el proceso aterosclerótico.⁵⁵

Un meta-análisis con un total de 3.219 casos de estudio no mostró una asociación significativa entre el polimorfismo IL-1 β C-511T y el riesgo de enfermedad coronaria (OR=0,98; $p=0,02$).⁶¹

En cuanto al polimorfismo IL1 β C+3953T la frecuencia del genotipo CC en los casos fue 81,58% y en los controles de 80,26%. No se encontró una asociación de riesgo significativa entre la presencia del polimorfismo y la manifestación de eventos coronarios (OR=1,08 IC al 95% 0,48 – 2,44) ($p=1,0$) Existe una tendencia estadística a que los genotipos TT y TC confieran un riesgo menor hacia el padecimiento. En la comparación de las frecuencias alélicas, el alelo C representa un riesgo 1,4 veces superior en relación a la presencia del alelo T de sufrir un síndrome coronario agudo.

La IL-1 β liberada por los MØS plaquetas y el endotelio lesionado, juega un rol central en la respuesta inflamatoria y se relaciona con la formación de la placa ateromatosa. Su función dentro de la aterosclerosis puede ser estimular la proliferación de las células musculares lisas y del endotelio, incrementando las moléculas de adhesión vascular. Además promueve la inestabilidad endotelial lo que favorece el proceso trombótico, y estimula la producción de otros componentes de la inflamación como la proteína C reactiva, el fibrinógeno y la IL-6.⁴¹ Con base en estos datos se ha desarrollado investigaciones para relacionarla con el riesgo cardiovascular, los resultados obtenidos son diversos, en ciertas poblaciones se muestra asociación, mientras que en otras no se ha logrado confirmar una relación directa. Nuestro estudio no demostró una asociación de riesgo estadísticamente significativa entre el homocigoto CC y el desarrollo de cardiopatía isquémica. Sin embargo el alelo C representa un riesgo 1,4 veces superior en relación a la presencia del alelo T de sufrir un síndrome coronario agudo.

Estudios en busca de la relación del polimorfismo IL1 β C+3953T con la inflamación, muestran el rol importante que juega la interleucina 1 (IL-1) en este proceso. La IL-1 estimula la producción de proteína C reactiva (CRP), un reactante de fase aguda implicado en el riesgo cardiovascular. Personas con el genotipo CC del polimorfismo IL1 β C+3953T pueden llegar a triplicar los valores plasmáticos de CRP si se combina con el polimorfismo 1059 del gen codificador de la CRP.⁶² Esta relación puede ser un marcador predictivo para personas propensas a sufrir enfermedades cardiovasculares.

La distribución genotípica de un estudio realizado en Turquía muestra que la frecuencia del genotipo CC fue del 55,2% en los pacientes con IAM, mientras que en los controles se presentó en el 65,7% es decir, una relación inversa a la encontrada en nuestra población. Con base en estas frecuencias, los resultados muestran al genotipo CC como un factor protector para el IAM y al alelo T como factor de riesgo.⁶³ En concordancia con estos hallazgos, en población europea el polimorfismo IL1 β C+3953T se ve fuertemente asociado con niveles elevados de

CRP ($p=0,002$), los valores séricos obtenidos se ven influenciados por el genotipo presentado, lo que significa que existe variación entre homocigotos y heterocigotos, sugiriendo un efecto dominante del alelo T para la síntesis de este reactante de fase aguda. Este resultado es consistente con la observación de que el alelo T está asociado con mayor producción de interleucina 1 y constituye un factor de riesgo.⁶⁴

La frecuencia estimada de este polimorfismo pro-inflamatorio fue superior en la población china comparada con la norteamericana (52% vs 33% $p=0,001$).⁵⁹

Un meta-análisis que comprende 1.828 casos de diferentes grupos poblacionales sugiere que no existe asociación estadísticamente significativa entre el polimorfismo IL1 β C +3953T y la susceptibilidad para enfermedad coronaria (OR=1,11 IC al 95% 0,97 – 1,27) ($p=0,354$).⁶¹

Las variaciones de frecuencia en estas poblaciones y aún más las discrepancias en determinación de riesgo con el alelo T o C, demuestran la necesidad del estudio de la función de estos genes para poder asociarlos con susceptibilidad o resistencia a la enfermedad.

Una vez obtenidos los genotipos del polimorfismo IL-6 G-174C se calculó el equilibrio de Hardy Weinberg mediante el cual se pudo conocer que la distribución genotípica no se encuentra en equilibrio. Este resultado sugiere que algo sucede en la población a nivel de las fuerzas evolutivas que provoca una alteración en la estructura genética, esta anomalía apoya la hipótesis de un posible rol del polimorfismo en el riesgo de desarrollar eventos cardiovasculares. El mencionado desequilibrio se ha identificado en otras poblaciones como la francesa e irlandesa.⁶⁷

Nuestros resultados indican que la frecuencia del genotipo GG en los casos fue 73,68% y en los controles de 40,79%. Se encontró una asociación de riesgo significativa entre la presencia del polimorfismo y la manifestación de eventos coronarios (OR=4,06 IC al 95% 2,04 – 8,06) ($p=0,00008$). Al comparar los

genotipos GC y CC contra el genotipo de riesgo GG se encuentra que los dos primeros confieren menor riesgo de desarrollar cardiopatía isquémica (OR=0,24 IC al 95% 0,12 – 0,48) ($p=0,00008$). La presencia del alelo G se ve fuertemente asociada a la posibilidad de presentar la patología estudiada, confiere un riesgo 5,21 veces mayor que el alelo normal C ($p= <0,005$). Contrastando, *Fishman et al* mostraron en 92 sujetos que los niveles plasmáticos de IL-6 en pacientes con el genotipo CC fueron inferiores que aquellos con genotipo GG o GC confirmando al alelo C un menor riesgo para el desarrollo de SCA.⁶ Una serie rusa con 199 pacientes confiere a este alelo un RR de 0,48 (IC al 95% 0,26 – 0,88) ($P=0,013$) confirmando su rol protector para esta patología.⁷²

A través del uso de líneas celulares con las diferentes variantes genéticas pertenecientes al polimorfismo IL-6 G-174C, se ha medido la funcionalidad del mismo midiendo la respuesta de transcripción. Este método ha demostrado que el alelo C promueve una menor expresión de IL-6 al compararlo con el alelo G. Luego de la estimulación con lipopolisacáridos el alelo G aumentó la expresión de la interleucina entre dos y tres veces más, estos resultados soportan nuestros hallazgos.⁶

El estudio de distribución alélica en población británica muestra que el alelo G se presenta con una frecuencia del 57%, en nuestra investigación tuvo una frecuencia del 83%, mostrando una diferencia significativa en la distribución genética de estas dos poblaciones.⁶⁹ El alelo G se ha visto relacionado con niveles elevados de CRP, por tal motivo, el polimorfismo IL-6 G-174C es un candidato para la regulación de la respuesta inflamatoria, nuestros resultados ligan fuertemente a este alelo con el desarrollo de cardiopatía isquémica, una enfermedad donde la inflamación juega un rol principal en su fisiopatología.

La frecuencia de presentación del polimorfismo IL-6 G-174C en la población brasileña con IAM se estima en 38,2%, algo similar a lo encontrado en Inglaterra, Alemania, Australia y España.⁵⁶ Llama la atención que la frecuencia de presentación se duplica en nuestra población de estudio, lo que recalca la existencia de diferentes distribuciones genotípicas entre las múltiples etnias.

El genotipo IL-6 -174GG se ha visto asociado con niveles elevados de glucosa, triglicéridos y colesterol VLDL, lo que muestra la relación del polimorfismo con un perfil aterogénico. Esto se explica por la asociación reportada entre el alelo G y niveles elevados de IL-6, los perfiles lipídicos encontrados en los pacientes con IAM pueden ser resultado del efecto de la IL-6 en el metabolismo lipídico. El efecto hiperglucemiante del polimorfismo se debe a la influencia de la IL-6 en el metabolismo hepático, pues fomenta la gluconeogénesis o por el incremento de la resistencia a la insulina mediado por la hipertrigliceridemia.^{56, 65.}

Un estudio en Brasil muestra que el genotipo GG se asocia con un riesgo incrementado de presentar enfermedad coronaria (OR=2,037; p=0,028).⁴⁶ La distribución genotípica mostró una frecuencia de presentación del 69,6% en los casos contra un 60% en la población control. En concordancia con los resultados de este estudio, encontramos en nuestra investigación que la frecuencia de este genotipo es superior en los pacientes con SCA y una asociación clara con el riesgo cardiovascular. Esto se explica por el hecho de que la interleucina 6 es una citosina pro-inflamatoria, por ende los portadores de polimorfismos en su secuencia codificante tienen susceptibilidad incrementada al desarrollo de enfermedad isquémica cardíaca⁶⁶.

Oznur et al en una muestra de 106 pacientes turcos con SCA, expone una frecuencia del 82% para el homocigoto GG, mientras que la presentación de los heterocigotos GC y homocigotos CC fue nula. Además, en los pacientes que presentaron el polimorfismo IL-6 G-174C, el 31% desarrollaron lesión multivaso vs el 8% que se manifestó con lesión única durante la angiografía coronaria (p= <0,05). En esta investigación se demostró una relación entre el polimorfismo y la severidad del compromiso coronario. Aquellos pacientes con el genotipo GG presentaron un mayor tiempo de hospitalización y complicaciones más severas a causa de una titulación plasmática superior de los valores de IL-6.⁶⁸

Otras investigaciones muestran resultados discordantes, por ejemplo en Alemania no se encontró diferencia en la distribución del alelo G y C entre casos y controles, tampoco hubo diferencias en la distribución genotípica, por ende no se demostró

asociación con el riesgo de infarto de miocardio ($OR=0,96$; $p=0,061$)⁷⁰. Estos resultados conflictivos sugieren que el polimorfismo IL-6 G-174C, no es un modulador genético fuerte en la respuesta de la interleucina durante una respuesta de fase aguda y contradicen los resultados de nuestro análisis, por ejemplo el estudio de *Georges et al.*, en el cual se menciona la asociación del alelo -174C con el riesgo de enfermedad arterial coronaria, toma el genotipo CC como referencia y describe que este presentó un RR de 1,31 (0,94 – 1,94) ($p=0,10$) en relación con cardiopatía isquémica. La existencia de al menos una copia del alelo C en el genotipo confirió un riesgo 1,34 veces mayor que el alelo G.⁶⁷

Berthold et al. señalan que los portadores del alelo C tienen mayor riesgo de enfermedad arterial coronaria e infarto cerebral, estos individuos mostraron niveles superiores de CRP e IL-6 al comprarlos con los portadores del alelo G. Otros factores de riesgo cardiovascular también fueron más prevalentes en este grupo, como son la hipertensión arterial y la diabetes mellitus tipo 2. En relación al papel pro-aterogénico del polimorfismo demuestran que aquellos pacientes con los genotipos CC y GC presentan valores de lipoproteína a LP(a) mayores con un $OR=1,44$ ($p=0,018$).⁷¹

Humphries et al. en una muestra de 3.052 pacientes ingleses describe una frecuencia del alelo C del 43%. Al comparar este grupo con aquellos portadores del genotipo GG, el alelo C muestra un RR de 1,54 para el desarrollo de enfermedad coronaria ($p=0,048$).⁷³ De forma similar aquellos homocigotos CC presentaron un 5% adicional de riesgo para sufrir un IAM. También se encontró una relación directa entre la presencia del polimorfismo IL-6 G-174C y niveles elevados de presión arterial, la presencia del alelo C provoca un aumento de 2,5mmHg en la presión sistólica, la importancia de este hallazgo se basa en el estudio NPHSII⁷⁴, donde se demostró que un incremento de 1 mmHg aumentó el riesgo de presentar eventos cardiovasculares en un 2%.

Las inconsistencias encontradas entre los estudios, donde en algunos se muestra como genotipo de riesgo al homocigoto GG y en otros al homocigoto CC, pueden

ser explicadas por el hecho de que la enfermedad arterial coronaria es una patología de origen multifactorial en la cual entran en juego edad, género, etnicidad, hábitos y varios otros factores englobados en dos grandes grupos, ambientales y genéticos. Por esto, es difícil establecer una relación directa entre un único factor genético y el resultado clínico en las poblaciones alrededor del mundo.⁴⁶ Sin embargo nuestros resultados presentan una amplia significancia estadística y confieren a los individuos homocigotos GG un riesgo cuatro veces superior para el desarrollo de síndromes coronarios agudos.

El estudio del polimorfismo genético IL-6 G-572C muestra la siguiente distribución genotípica, el 43,42% de los casos presentan homocigocidad GG vs el 35,53% de los controles. El genotipo CC estuvo presente en el 15,79% de los casos frente a un 23,68% de los controles. El alelo G tuvo una frecuencia de presentación en los casos del 63,82% y en los controles del 55,92%. El análisis estadístico muestra una posible asociación entre el genotipo GG y el riesgo de desarrollar cardiopatía isquémica (OR= 1,39 IC al 95% 0,72- 2,67) ($p= 0,4$). Además la presencia del alelo G implica 1,39 veces más riesgo para un síndrome coronario agudo. Nuestra población se encuentra en equilibrio de Hardy Weinberg en relación a este polimorfismo.

El estudio de la relación genotípica con niveles séricos de fibrinógeno y CRP llevado por acabo *Wong et al.*, muestra que los pacientes portadores del genotipo GG y GC tienen concentraciones superiores de fibrinógeno (3,06 vs 2,83) y proteína C reactiva (0,33 vs 0,12) que aquellos portadores del genotipo CC. Estos resultados corroboran la asociación del polimorfismo IL-6 G-572C y una mayor respuesta inflamatoria.⁷⁵

En la población inglesa un estudio efectuado en 168 pacientes muestra una frecuencia de presentación del genotipo GG del 87% vs el 1% del genotipo CC, una distribución equivalente a la presentada en nuestro estudio, aunque con cifras superiores. El análisis de los niveles séricos de IL-6 en los pacientes sometidos a una cirugía de bypass coronario muestra una asociación del alelo C con concentración séricas elevadas de interleucina a las 6 horas post quirúrgicas.⁷⁶ En

esta investigación contrario a nuestro análisis, se identifica al genotipo CC como factor de riesgo para cardiopatía isquémica.

A través de un meta-análisis *Zheng et al.* muestran que no existe una relación estadística entre el polimorfismo IL-6 G-572C y el riesgo de enfermedad coronaria, al ser comparado con el alelo G, el alelo C se muestra como un factor que confiere menor riesgo de desarrollar la patología (OR=0,79), estos resultados concuerdan con nuestros hallazgos donde el genotipo CC y GC presentan un OR=0,71 al compararse con el genotipo GG.⁷⁷ En el estudio de *Zichuan Tong et al.* no se encontraron diferencias en la distribución genotípica en los grupos de casos y controles.⁷⁸

El meta-análisis realizado por *Kumar et al.* con 3.317 casos demuestra que no hay asociación significativa entre la presencia del polimorfismo IL-6 G-572C y el riesgo de presentar accidentes cerebrovasculares tanto para el genotipo CC y GG (OR= 0,99 IC al 95% 0,57–1,71; p= 0,97) y (CC vs. GG + GC: OR =0,93 IC al 95% 0,60 –1,45; p=0,75). Al comparar los alelos G y C de forma individual tampoco se encuentra una significancia estadística (p=0,76).⁷⁹

Nuestra investigación buscó también la asociación de los distintos polimorfismos con la extensión de la lesión coronaria. A través del estudio angiográfico, un procedimiento a través del cual se puede ubicar de forma precisa la arteria obstruida, se pudo determinar la coronaria causante de la lesión isquémica, la arteria descendente anterior fue la más frecuentemente afectada con el 65,79% seguido de la coronaria derecha con el 55,26%. El análisis de los pacientes con dos o más vasos lesionados (lesión multivaso) revela que el 60.53% de los individuos presentó este tipo de lesión. El estudio desarrollado por *Vonhout et al.*⁵⁵ muestra una distribución similar en la población italiana, en su grupo de pacientes el 30,5% presentaron enfermedad de vaso único mientras que el 69,5% mostró lesión multivaso. Datos equivalentes fueron los obtenidos en un grupo de pacientes en Polonia en donde la lesión multivaso muestra una prevalencia del 60,6% vs el 39,4% que presento una sola arteria afecta.⁵⁷

Los resultados de nuestra investigación indican una posible relación del alelo C, en el polimorfismo IL-1 β C-511T, con el riesgo de presentar lesión multivaso ($p=0,21$). No se encontró una correlación significativa con los otros polimorfismos.

Basados en la suposición de que los niveles séricos de IL-6 son superiores conforme el compromiso vascular sea mayor, diversas investigaciones han buscado correlacionar los valores de IL-6 y la severidad de la patología coronaria. Deliargyris et al. muestran que la IL-6 es producida en la circulación coronaria de los pacientes con angina inestable pero no en los pacientes con angina estable⁸⁰. Un estudio en Turquía describe niveles superiores de IL-6 y CRP en pacientes que desarrollaron un infarto agudo de miocardio en comparación con quienes presentaron una cardiopatía isquémica estable⁶⁸. Se considera que la IL-6 promueve el camino de la aterosclerosis.

6. CAPÍTULO VI

6.1. CONCLUSIONES.

- El estudio de los polimorfismos IL-1 β C-511T, IL-1 β C+3953T, IL-6 G-174C, IL-6 G-572C, se realizó mediante la metodología PCR RFLP (Restricción de fragmentos de longitud polimórfica), en una muestra de 76 individuos pertenecientes a la población ecuatoriana con diagnóstico de cardiopatía isquémica y fueron comparados con 76 individuos sin esta patología.
- El análisis del equilibrio de Hardy Weinberg para los polimorfismos IL-1 β C-511T, IL-1 β C+3953T, IL-6 G-572C, reveló resultados que indican que la población estuvo en equilibrio lo que significa que no hubo afectación por fuerzas externas como la consanguinidad, mutación o selección natural. Pero por otra parte los valores encontrados en el polimorfismo IL-6 G-174C determinaron que el grupo de afectos no se encontraba en equilibrio, esta alteración se asoció con la presencia del polimorfismo. Es decir, en la población existe una asociación de riesgo real entre el polimorfismo y la enfermedad isquémica cardíaca.
- En la población ecuatoriana un individuo portador del genotipo homocigoto raro GG en la posición -174 del gen de la interleucina 6 presenta un riesgo 4 veces mayor de desarrollar cardiopatía isquémica. De igual forma el alelo G confiere un riesgo 5,21 veces superior que el alelo C.
- En el polimorfismo IL-1 β C-511T el genotipo CC podría ser un factor de riesgo para el desarrollo de IAM. El alelo C implica un riesgo 1,81 veces superior de presentar la patología.

- El análisis estadístico indica que ni el polimorfismo IL-1 β C+3953T ni polimorfismo IL-6 G-572C muestran una asociación significativa con el riesgo de presentar un IAM.
- A partir de las distribuciones genotípicas observadas en nuestra población y las presentadas en otros estudios, se observa un impacto del origen étnico en la distribución de las variantes entre una población y otra. Es así que nuestros datos concuerdan con los observados en países como México y Brasil y se contradicen con los encontrados en Asia y Europa.
- Existe una posible asociación entre la presencia del alelo C en el polimorfismo IL-1 β C-511T y la presentación de una lesión Multivaso. Ningún otro polimorfismo estudiado en esta investigación mostró relación con una mayor cantidad de arterias coronarias afectadas.

6.2. RECOMENDACIONES.

La asociación de riesgo de los diversos polimorfismos con el desarrollo de cardiopatía isquémica aún presenta discrepancias. Por lo que es necesario ampliar la muestra de estudio para poder extrapolar los datos a la población ecuatoriana. Recomendamos continuar la investigación para incluir más individuos y poder contrastar los resultados.

Sería interesante ampliar la investigación con el análisis de otros factores ambientales y genéticos como variables perturbadoras, por ejemplo dieta, ejercicio, polución, variaciones en los genes de la CRP, Apo B. Este proceso podría establecer si el estudio de estos polimorfismos se puede utilizar como método de cribaje para riesgo cardiovascular.

Luego del largo proceso que ha significado llevar a cabo este estudio y basados en las dificultades, debilidades y fortalezas encontradas podemos recomendar lo siguiente:

1. Incentivar a los estudiantes de la facultad de medicina de la PUCE para realizar estudios de investigación en el campo de la biología molecular, puesto que así podemos desarrollar nuevas competencias en investigación científica y conocer el panorama genético de nuestra población. Además los diagnóstico en el mundo entero se basan cada vez más en técnicas moleculares, el manejo y conocimiento de estas darían al estudiante mayor competencia para ubicarse en plazas de otros países.
2. Mejorar la infraestructura de los laboratorios de investigación de la facultad.
3. Fortalecer la enseñanza de Bioestadística y Metodología de la investigación en los últimos semestres de la carrera

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Tarragó Amaya, E., Enrique, P., Soca, M., Cruz Lage, A., Lozano, Y. S., & Resumen, H. (2012). Factores de Riesgo y prevención de la cardiopatía isquémica. *Correo Científico Médico*, 16(2).
2. García-moll, X., & Carlos, J. C. K. (2015). Cardiopatía isquémica: marcadores de inflamación y riesgo cardiovascular. *Revista Española de Cardiología*, 1(4), 990–1003.
3. Navarro-López, F., & López, N. (2012). Bases genéticas de la enfermedad coronaria. *Rev Esp Cardiol*, 55(4), 413–31
4. Vargas-alarcón, G., Fragoso, J. M., & Delgadillo, H. (2011). Síndrome coronario agudo. Fisiopatología y genética. *Foro Clínico RIC*, 63, 64–74.
5. Cardiovascular diseases (CVDs). Fact sheet N°31. Updated January 2015. Recuperado el 24 Octubre 2015. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en>
6. Fishman GI, Chugh SS, Dimarco JP, Albert CM, Anderson ME, Bonow RO, Buxton AE, Chen PS, Estes M, Jouven X, et al. Sudden cardiac death prediction and prevention: report from a National Heart, Lung, and Blood Institute and Heart Rhythm Society Workshop. *Circulation* 2010;122(22):2335–48.
7. Mahmood, S. S., Levy, D., Vasan, R. S., & Wang, T. J. (2015). The Framingham Heart Study and the epidemiology of cardiovascular disease: a

historical perspective. *The Lancet*, 383(9921), 999–1008.
[http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61752-3](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61752-3)

8. Schargrodsky H, Hernández-Hernández R, Champagne BM, Silva H, Vinueza R, Silva Ayçaguer LC, Touboul PJ, Boissonnet CP, Escobedo J, Pellegrini F, Macchia A, Wilson E; CARMELA Study Investigators. CARMELA: assessment of cardiovascular risk in seven Latin American cities. *Am J Med*. 2008 Jan;121(1):58-65
9. INEC. Anuario de Estadísticas vitales. Nacimientos- Defunciones 2014. Quito, Ecuador. Jhon Usiña. Febrero 2015.
http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/webinec/Poblacion_y_Demografia/Nacimientos_Defunciones/Publicaciones/Anuario_Nacimientos_y_Defunciones_2014.pdf
10. Barrabés, J. A., Bodí, V., Jiménez-Candil, J., & Fernández-Ortiz, A. (2011). Actualización en cardiopatía isquémica Update in Ischemic Heart Disease. *Rev Esp Cardiol*, 64, 50–8.
11. García-moll, X., & Carlos, J. C. K. (2015). Cardiopatía isquémica: marcadores de inflamación y riesgo cardiovascular. *Revista Española de Cardiología*, 1(4), 990– 1003.
12. Savji, N., Rockman, C. B., Skolnick, A. H., Guo, Y., Adelman, M. A., Riles, T., & Berger, J. S. (2013). Association Between Advanced Age and Vascular Disease in Different Arterial Territories. *Journal of the American College of Cardiology*, 61(16), 1736–1743.
<http://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.01.054>
13. Kappert, K., Böhm, M., Schmieder, R., Schumacher, H., Teo, K., Yusuf, S., Unger, T. (2012). Impact of sex on cardiovascular outcome in patients at

high cardiovascular risk: analysis of the Telmisartan Randomized Assessment Study in ACE-Intolerant Subjects With Cardiovascular Disease (TRANSCEND) and the Ongoing Telmisartan Alone and in Combination. *Circulation*, 126(8), 934–41. <http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA>.

14. Ranthe, M. F., Carstensen, L., Øyen, N., Tfelt-Hansen, J., Christiansen, M., McKenna, W. J., Boyd, H. A. (2012). Family History of Premature Death and Risk of Early Onset Cardiovascular Disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 60(9), 814–821. <http://doi.org/10.1016/j.jacc.2012.06.018>
15. Ferreira-gonza, I. (2014). La de la enfermedad coronaria Epidemiologi The Epidemiology of Coronary Heart Disease. *Revista Española de Cardiología*, 67(2), 139–144. <http://doi.org/10.1016/j.recesp.2013.10.003>
16. Qin, R., Chen, T., Lou, Q., & Yu, D. (2015). Excess risk of mortality and cardiovascular events associated with smoking among patients with diabetes: Meta-analysis of observational prospective studies. *International Journal of Cardiology*, 167(2), 342–350. <http://doi.org/10.1016/j.ijcard.2011.12.100>
17. Lawes, C. M. M., Hoorn, S. Vander, & Rodgers, A. (2015). Global burden of blood-pressure-related disease, 2001. *The Lancet*, 371(9623), 1513–1518. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60655-8](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60655-8)
18. Grundy, S. M., Benjamin, I. J., Burke, G. L., Chait, A., Eckel, R. H., Howard, B. V., ... Sowers, J. R. (1999). Diabetes and Cardiovascular Disease: A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association. *Circulation*, 100 (10), 1134–1146. <http://doi.org/10.1161/01.CIR.100.10.1134>

19. Stamler, J., Neaton, J. D., Cohen, J. D., Cutler, J., Eberly, L., Grandits, G., Group, T. M. R. (2012). Multiple Risk Factor Intervention Trial Revisited: A New Perspective Based on Nonfatal and Fatal Composite Endpoints, Coronary and Cardiovascular, During the Trial. *Journal of the American Heart Association*, 1 (5). <http://doi.org/10.1161/JAHA.112.003640>
20. Haffner, S. M., Lehto, S., Rönnemaa, T., Pyörälä, K., & Laakso, M. (2009). Mortality from Coronary Heart Disease in Subjects with Type 2 Diabetes and in Nondiabetic Subjects with and without Prior Myocardial Infarction. *New England Journal of Medicine*, 339(4), 229–234. <http://doi.org/10.1056/NEJM199807233390404>
21. Yusuf, S., Hawken, S., Ôunpuu, S., Dans, T., Avezum, A., Lanas, F., Lisheng, L. (2015). Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *The Lancet*, 364(9438), 937–952. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17018-9](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17018-9)
22. Collaboration*, T. E. R. F. (2009). Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA*, 302(18), 1993–2000. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2009.1619>
23. Delahoy, P. J., Magliano, D. J., Webb, K., Grobler, M., & Liew, D. (2015). The relationship between reduction in low-density lipoprotein cholesterol by statins and reduction in risk of cardiovascular outcomes: An updated meta-analysis. *Clinical Therapeutics*, 31(2), 236–244. <http://doi.org/10.1016/j.clinthera.2009.02.017>
24. Austin PhD, M. A., Hokanson MPH, J. E., PhC, & Edwards PhD, K. L. (2015). Hypertriglyceridemia as a Cardiovascular Risk Factor. *American*

Journal of Cardiology, 81(4), 7B–12B. [http://doi.org/10.1016/S0002-9149\(98\)00031-9](http://doi.org/10.1016/S0002-9149(98)00031-9)

25. Enríquez, L., & Matas, P. (2001). Lipoproteína (a): fisiopatología y consideraciones clínicas y terapéuticas. *Medicina Clínica*, 116(19), 746–749. Retrieved from <http://www.elsevier.es/es-revista-medicina-clinica-2-articulo-lipoproteina-a-fisiopatologia-consideraciones-clinicas-13014324>
26. CL, O., MD, C., BK, K., & KM, F. (2014). Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011-2012. *JAMA*, 311(8), 806–814. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2014.732>
27. Paffenbarger, R. S., Hyde, R. T., Wing, A. L., Lee, I.-M., Jung, D. L., & Kampert, J. B. (1993). The Association of Changes in Physical-Activity Level and Other Lifestyle Characteristics with Mortality among Men. *New England Journal of Medicine*, 328(8), 538–545. <http://doi.org/10.1056/NEJM199302253280804>
28. Viazzi, F., Leoncini, G., Conti, N., Tomolillo, C., Giachero, G., Vercelli, M., Pontremoli, R. (2010). Microalbuminuria Is a Predictor of Chronic Renal Insufficiency in Patients without Diabetes and with Hypertension: The MAGIC Study. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 5(6), 1099–1106. <http://doi.org/10.2215/CJN.07271009>
29. Pearson, T. A., Mensah, G. A., Alexander, R. W., Anderson, J. L., Cannon, R. O., Criqui, M., ... Vinicor, F. (2003). Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: A Statement for Healthcare Professionals From the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*, 107(3), 499–511. <http://doi.org/10.1161/01.CIR.0000052939.59093.45>

30. Consortium, I. L. R. G., Risk, E., & Collaboration, F. (2012). Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: a collaborative meta-analysis of 82 studies. *The Lancet*, 379(9822), 1205–1213. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61931-4](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61931-4)
31. Terrados, N., Valcárcel, G., & Venta, R. (2010). Los nuevos factores de riesgo cardiovascular y la actividad física, 45(167), 201–208.
32. Libby, P. (2013). Mechanisms of Acute Coronary Syndromes and Their Implications for Therapy. *New England Journal of Medicine*, 368(21), 2004–2013. <http://doi.org/10.1056/NEJMra1216063>
33. Narula, J., Nakano, M., Virmani, R., Kolodgie, F. D., Petersen, R., Newcomb, R., Finn, A. V. (2013). Histopathologic characteristics of atherosclerotic coronary disease and implications of the findings for the invasive and noninvasive detection of vulnerable plaques. *Journal of the American College of Cardiology*, 61(10), 1041–51. <http://doi.org/10.1016/j.jacc.2012.10.054>
34. Mongrain, R., & Rodés-Cabau, J. (2006). Papel de la tensión de cizallamiento en la enfermedad aterosclerótica y la reestenosis tras implantación de *stent* coronario. *Revista Española de Cardiología*, 59(01), 1–4. Retrieved from <http://www.revespcardiol.org/es/papel-tension-cizallamiento-enfermedad-aterosclerotica/articulo/13083641/> ER
35. JG, C., MG, S., WJ, R., & al, et. (2000). Prevalence, clinical characteristics, and mortality among patients with myocardial infarction presenting without chest pain. *JAMA*, 283(24), 3223–3229. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1001/jama.283.24.3223>

36. Members, W. C., Antman, E. M., Anbe, D. T., Armstrong, P. W., Bates, E. R., Green, L. A., Ornato, J. P. (2004). ACC/AHA Guidelines for the Management of Patients With ST-Elevation Myocardial Infarction—Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 1999 Guidelines for the Management of Patients With Acute Myocardial Infarction) . *Circulation* , 110 (5), 588–636. <http://doi.org/10.1161/01.CIR.0000134791.68010.FA>
37. Segura De La Cal, T., Carbonell San Román, S. a., & Zamorano Gómez, J. L. (2013). Síndrome coronario agudo. Marcadores de Lesion Miocárdica. *Revista Mexicana De Patología Clínica*, 11(54), 2233–2239. [http://doi.org/10.1016/S0304-5412\(13\)70608-5](http://doi.org/10.1016/S0304-5412(13)70608-5)
38. Bastarrika Alemañ, G., Alonso Burgos, A., Azcárate Agüero, P. M., Castaño Rodríguez, S., Pueyo Villoslada, J. C., & Alegría Ezquerro, E. (2008). Anatomía normal, variantes anatómicas y anomalías del origen y trayecto de las arterias coronarias por tomografía computarizada multicorte. *Radiología*, 50(3), 197–206.
39. Guadalajara, J. (2002). Aterosclerosis Y Sus Complicaciones. Progresion Y Regresion. *Instituto Nacional De Cardiología Ignacio Chávez Miembro*, 1(1), 1–31. Retrieved from http://www.facmed.unam.mx/sms/temas/2010/05_may_doc_2k10.pdf
40. Badimón, L., & Martínez-González, J. (2006). Disfunción endotelial. *Revista Española de Cardiología*, 6(Supl.A), 21–30. Retrieved from <http://www.revespcardiol.org/es/content/articulo/13087918/>

41. Libby, P., Ridker, P. M., & Maseri, A. (2002). Inflammation and Atherosclerosis. *Circulation*, 105 (9), 1135–1143. <http://doi.org/10.1161/hc0902.104353>
42. Function, A. C., & Cytokines, C. O. F. (2012). Assessing cytokine function in vitro and in vivo. *Kelley's Textbook of Rheumatology*, 367–377. doi:10.1016/B978-1-4160-3285-4.10023-3
43. Vélez-castrillón, S., Camargo, J. F., Correa, P. a, & Anaya, J. (2004). Bases moleculares de la familia de la interleuquina-1. *Revista Colombiana de Reumatología*, 11(1), 11–39.
44. McCarty, S., & Frishman, W. (2014). Interleukin 1 β . *Cardiology in Review*, 22(4), 176–181. doi:10.1097/CRD.0 022
45. Caratachea, M. A. C. (2007). Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. *Revista Del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, 20(3), 213–221.
46. Rios, D. L. S., Cerqueira, C. C. S., Bonfim-Silva, R., Araújo, L. J., Pereira, J. F., Gadelha, S. R., & Barbosa, a. a L. (2010). Interleukin-1 beta and interleukin-6 gene polymorphism associations with angiographically assessed coronary artery disease in Brazilians. *Cytokine*, 50(3), 292–296. doi:10.1016/j.cyto.2010.02.012
47. Scheller, J., Chalaris, A., Schmidt-Arras, D., & Rose-John, S. (2011). The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1813(5), 878–888. doi:10.1016/j.bbamcr.2011.01.034

48. Ikeda, U., Ito, T., & Shimada, K. (2001). Interleukin-6 and acute coronary syndrome. *Clinical of Cardiology*, 24(11), 701–704. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11714126
49. Kofler, S., Nickel, T., & Weis, M. (2005). Role of cytokines in cardiovascular diseases: a focus on endothelial responses to inflammation. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 108(3), 205–213. doi:10.1042/CS20040174
50. Satti, H. S., Hussain, S., & Javed, Q. (2013). Association of interleukin-6 gene promoter polymorphism with coronary artery disease in Pakistani families. *TheScientificWorldJournal*, 2013, 538365. doi:10.1155/2013/538365
51. Shaikh, P. Z. (2011). Cytokines & their physiologic and pharmacologic functions in inflammation : A review. *International Journal of Pharmacy and Life Sciences*, 2(11), 1247–1263.
52. Kofler, S., Nickel, T., & Weis, M. (2005). Role of cytokines in cardiovascular diseases: a focus on endothelial responses to inflammation. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 108(3), 205–213. doi:10.1042/CS20040174
53. Kumar, P., Yadav, A. K., Kumar, A., Sagar, R., Pandit, A. K., & Prasad, K. (2015). Association between Interleukin-6 (G174C and G572C) promoter gene polymorphisms and risk of ischaemic stroke: A meta-analysis. *Annals of Neurosciences*, 22(2), 61–69. <http://doi.org/10.5214/ans.0972.7531.220203>
54. HANSSON, G. K. (2009). Inflammatory mechanisms in atherosclerosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 7, 328–331. doi:10.1111/j.1538-7836.2009.03416.x

55. Branislav Vohnout, Augusto Di Castelnuovo, Roberto Trotta, Andria D'orazio, Gaetano Panniteri, Anna Montali, M. B. D., & Marcello Arca, L. I. (2003). Interleukin-1 gene cluster polymorphisms and risk of coronary artery disease. *Journal of Hematology*, *88*(09), 1002–1012.
56. Lima-Neto, L. G., Hirata, R. D. C., Luchessi, A. D., Silbiger, V. N., Stephano, M. A., Sampaio, M. F., ... Hirata, M. H. (2013). CD14 and IL6 polymorphisms are associated with a pro-atherogenic profile in young adults with acute myocardial infarction. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, *36*(3), 332–340. doi:10.1007/s11239-012-0841-4
57. Jarosław Goraćy, a Iwona Goraćy, b Krzysztof Safranow, c Olga Taryma, B., & Grażyna Adler, b and A. C. (2011). Lack of Association of Interleukin-1 Gene Cluster Polymorphisms with Angiographically Documented Coronary Artery Disease: Demonstration of Association with Hypertension in the Polish Population.
58. Soyulu, O., Yildirim, A., Coker, A., Tezel, T., List, E. O., & Arman, A. (2008). Interleukin-1B (-511) gene polymorphism is associated with acute coronary syndrome in the Turkish population, *19*(March), 42–48.
59. Tseng, L.-H., Chen, P.-J., Lin, M.-T., Shau, W.-Y., Chaung, S.-M., Martin, P. J., & Hansen, J. A. (2001). Single nucleotide polymorphisms in Intron 2 of the human interleukin-1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene: further definition of the IL-1beta and IL-1Ra polymorphisms in North American Caucasians and Taiwanese Chinese. *Tissue Antigens*, *57*(4), 318–324. doi:10.1034/j.1399-0039.2001.057004318.x
60. Pérez, N. M. (2008). Estudio de los polimorfismos de los genes de interleucina-1 (IL1) y del antagonista del receptor de interleucina-1 (IL1RN) en pacientes mexicanos con infarto agudo del miocardio.

61. Zhou, L., Cai, J., Liu, G., Wei, Y., & Tang, H. (2012). Associations between interleukin-1 gene polymorphisms and coronary heart disease risk: a meta-analysis. *PLoS One*, 7(9), e45641. doi:10.1371/journal.pone.0045641
62. Ganter, K., Deichmann, K. a, & Heinzmann, a. (2005). Association study of polymorphisms within matrix metalloproteinase 9 with bronchial asthma. *International Journal of Immunogenetics*, 32(4), 233–236. doi:10.1111/j.
63. Zeybek, U., Toptas, B., Karaali, Z. E., Kendir, M., & Cakmakoglu, B. (2011). Effect of TNF-alpha and IL-1beta genetic variants on the development of myocardial infarction in Turkish population. *Mol Biol Rep*, 38(8), 5453–5457. doi:10.1007/s11033-011-0701-x
64. Latkovskis, G., & Kalnins, U. (2004). C-reactive protein levels and common polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster and interleukin-6 gene in patients with coronary heart disease, 207–213. doi:10.1111/j.1365-2370.2004.00476.x
65. Miranville, A., Herling, A. W., Biemer-Daub, G., & Voss, M. D. (2010). Reversal of Inflammation-Induced Impairment of Glucose Uptake in Adipocytes by Direct Effect of CB1 Antagonism on Adipose Tissue Macrophages. *Obesity*, 18(12), 2247–2254. doi:10.1038/oby.2010.81
66. C, C. G. P., Naveda, R., P, M. D. L. R. C. De, Petrola, I., C, M. F., Pacheco, M., ... Uc, C. (2005). Interleucina 6 en pacientes con cardiopatía Isquémica, 9(3), 29–37.
67. Georges, J. L., Loukaci, V., Poirier, O., Evans, A., Luc, G., Arveiler, D., ... Tiret, L. (2001). Interleukin-6 gene polymorphisms and susceptibility to

myocardial infarction: the ECTIM study. Etude Cas-Temoin de l'Infarctus du Myocarde. *J Mol Med*, 79(5-6), 300–305. doi:10.1007/s001090100209

68. Ozdemir, O., Gundogdu, F., Karakelleoglu, S., Sevimli, S., Pirim, I., Acikel, M., ... Serdar, S. (2008). Comparison of serum levels of inflammatory markers and allelic variant of interleukin-6 in patients with acute coronary syndrome and stable angina pectoris. *Coronary Artery Disease*, 19(1), 15–9. doi:10.1097/MCA.0b013e3282f27bf7

69. Vickers, M. (2002). Genotype at a promoter polymorphism of the interleukin-6 gene is associated with baseline levels of plasma C-reactive protein. *Cardiovascular Research*, 53(4), 1029–1034. doi:10.1016/S0008-6363(01)00534-X

70. Nauck, M., Winkelmann, B. R., Hoffmann, M. M., Bohm, B. O., Wieland, H., & Marz, W. (2002). The interleukin-6 G(-174)C promoter polymorphism in the LURIC cohort: no association with plasma interleukin-6, coronary artery disease, and myocardial infarction. *J Mol Med*, 80(8), 507–513. doi:10.1007/s00109-002-0354-2

71. Berthold, H. K., Laudes, M., Krone, W., & Gouni-Berthold, I. (2011). Association between the interleukin-6 promoter polymorphism -174G/C and serum lipoprotein(a) concentrations in humans. *PloS One*, 6(9), e24719. doi:10.1371/journal.pone.0024719

72. Sudomoina, M. A., Sukhinina, T. S., Barsova, R. M., Favorov, A. V, Shakhnovich, R. M., Titov, B. V, ... Favorova, O. O. (2010). [Complex analysis of association of inflammation genes with myocardial infarction]. *Mol Biol (Mosk)*, 44(3), 463–471. doi:10.1134/S0026893310030088

73. Humphries, S. E., Luong, L. a, Ogg, M. S., Hawe, E., & Miller, G. J. (2001). The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. *European Heart Journal*, 22(24), 2243–2252. doi:10.1053/euhj.2001.2678
74. Hawe, E., Talmud, P. J., Miller, G. J., & Humphries, S. E. (2003). Family history is a coronary heart disease risk factor in the Second Northwick Park Heart Study. *Annals of Human Genetics*, 67(Pt 2), 97–106.
75. Wong, L. Y. F., Leung, R. Y. H., Ong, K. L., & Cheung, B. M. Y. (2007). Plasma levels of fibrinogen and C-reactive protein are related to interleukin-6 gene -572C>G polymorphism in subjects with and without hypertension. *Journal of Human Hypertension*, 21(11), 875–882. doi:10.1038/sj.jhh.1002233
76. Brull, D. J., Montgomery, H. E., Sanders, J., Dhamrait, S., Luong, L., Rumley, A., ... Humphries, S. E. (2001). Interleukin-6 Gene -174G>C and -572G>C Promoter Polymorphisms Are Strong Predictors of Plasma Interleukin-6 Levels After Coronary Artery Bypass Surgery. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 21(9), 1458–1463. doi:10.1161/hq0901.094280
77. Zheng, G. H., Chen, H. Y., & Xiong, S.-Q. Q. (2012). Polymorphisms of -174G>C and -572G>C in the interleukin 6 (IL-6) gene and coronary heart disease risk: a meta-analysis of 27 research studies. *PloS One*, 7(4), e34839. doi:10.1371/journal.pone.0034839
78. Tong, Z., Li, Q., Zhang, J., Wei, Y., Miao, G., & Yang, X. (2013). Association between interleukin 6 and interleukin 16 gene polymorphisms and coronary heart disease risk in a Chinese population. *The Journal of International Medical Research*, 41(4), 1049–56. doi:10.1177/0300060513483405

79. Kumar, P., Yadav, A. K., Kumar, A., Sagar, R., Pandit, A. K., & Prasad, K. (2015). Association between Interleukin-6 (G174C and G572C) promoter gene polymorphisms and risk of ischaemic stroke: A meta-analysis. *Annals of Neurosciences*, 22(2), 61–69. <http://doi.org/10.5214/ans.0972.7531.220203>
80. Deliargyris, E. N., Raymond, R. J., Theoharides, T. C., Boucher, W. S., Tate, D. A., & Dehmer, G. J. (2000). Sites of interleukin-6 release in patients with acute coronary syndromes and in patients with congestive heart failure. *The American Journal of Cardiology*, 86(9), 913–918.
81. Que es la Aterosclerosis? NIH. National Institute of Health. Health Topics. Aterosclerosis. Diciembre 2015. <http://www.nhlbi.nih.gov/health-spanish/health-topics/temas/atherosclerosis>
82. Robert O. Bonow, Douglas L. Mann, Douglas P. Zipes, Peter Libby . (2013). Braunwald Tratado de Cardiología 9ª Edición. EEUU: Elsevier. Página 1057
83. Cardiopatía Isquémica. Fundacion española del Corazón. Dr. Lorenzo Fácila. Febrero 2015. <http://www.fundaciondelcorazon.com/informacion-para-pacientes/enfermedades-cardiovasculares/cardiopatia-isquemica.html>

ANEXOS

ANEXO 1: Ficha Clínica

N°	HCL:	NOMBRE:			SEXO	EDA	FECHA:		
						D			
						M F			
DIAGNOSTICO					CARDIOPATIA ISQUEMICA	ANGINA ESTABLE			
						ANGINA INESTABLE			
FC:	T°C:	IMC	TAS	TAD	Cir. Abd.	Cir. Cad	Índice C/C	Alcohol	Tabaco
MOTIVO DE CONSULTA						Primer Control		Subsecuente	
								Dolor precordial	
MEDICACIÓN									
APP	HT A	DM II	DISLIPIDEMIA		Tiempo de enfermedad				
LABORATORIO									
COLESTEROL TOTAL				COL. HDL			COL. LDL	TRIGLICERIDO S	
Troponina I ≤ 10 ug/dl					CPK-MB				
Troponina T 0- 0.1 ug/dl					Leucocitos		Neutrófilos		
EKG	Elevación del ST-T								
	Inversión de la onda T								
	Otros cambios								
Coronariografía									

ANEXO 2: Protocolo De Extracción Y Transporte De Muestras.

Técnica de la punción venosa:

Etapa 1 – Acopio de material

Etapa 2 – Identificación y preparación del paciente

- Preséntese ante el paciente y pregúntele su nombre y apellido(s).
- Pregunte al paciente si tiene alergias, fobias o si se ha desmayado alguna vez en alguna inyección o extracción de sangre previa.
- Si el paciente está nervioso o asustado, tranquilícelo y pregúntele qué puede hacer para ayudarlo a sentirse más cómodo.
- Haga que el paciente se sienta cómodo colocándolo en decúbito supino (si fuera posible).
- Coloque un papel o una toallita limpia debajo del brazo del paciente.
- Háblele del análisis que se hará e informarle sobre el procedimiento a que va a ser sometido
- Se ha de colocar adecuadamente al paciente, según éste se encuentre sentado, o en decúbito prono, para tener acceso fácil y cómodo a la fosa antecubital.

Etapa 3 – Limpieza de manos y colocación de guantes

- Límpiense las manos: lávese las manos con agua y jabón y séquelas con una toalla para uso único; o si las manos no están visiblemente sucias, límpielas con un preparado a base de alcohol: vierta 3 ml del preparado alcohólico en la palma de la mano y frótese con él las yemas de los dedos, el dorso de las manos y el resto de ambas manos hasta que se evapore.
- Luego de limpiarse las manos, póngase un par de guantes no estériles del tamaño adecuado.

Etapa 4 – Elección del lugar

- Extienda el brazo del paciente y examine el pliegue del codo o antebrazo.
- Localice una vena de tamaño adecuado que sea visible, derecha y clara.
- Aplique el torniquete a unos 4 ó 5 dedos de distancia por encima de la zona de venopunción elegida y vuelva a examinar la vena. Afloje el torniquete.

Etapa 5 – Desinfección del lugar de acceso

- Limpie el lugar con una gasa con alcohol al 70% y déjelo secar.
- Aplique una presión firme, pero suave. Comience desde el centro del lugar de la punción venosa y proceda radialmente hacia afuera de forma de cubrir una zona de 2 cm o más durante 30 segundos. Si el tiempo de contacto es insuficiente el riesgo de contaminación aumentará.
- Deje secar la zona por lo menos durante 30 segundos.
- NO toque el lugar desinfectado, y sobre todo: NO ponga el dedo sobre la vena para guiar el eje de la aguja expuesta. Si ha tocado el lugar, repita la desinfección.

Etapa 6 – Extracción de sangre

- Aplique el torniquete a unos 4 ó 5 dedos de distancia por encima de la zona de venopunción elegida y vuelva a examinar la vena.
- Sujete la vena sosteniendo el brazo del paciente con el pulgar colocado por DEBAJO del lugar de la punción venosa.
- Pida al paciente que cierre el puño para que la vena se dilate.
- Pinche la vena rápidamente con el bisel hacia arriba a un ángulo de 30° o menor y a continuación introduzca la aguja en la vena con el ángulo de ingreso más fácil. La pared superior de la vena debe ser puncionada y el bisel debe quedar en el interior de la vena.
- Cuando la aguja está asegurada se conecta el primer tubo o se aspira para que la sangre fluya; una vez que empieza a salir soltar el torniquete.

- Retire la aguja con delicadeza y presione el lugar ligeramente con una gasa limpia o una torunda seca de algodón hidrófilo. Pida al paciente que sostenga la gasa o el algodón hidrófilo en el lugar, con el brazo extendido y levantado. Dígale que NO doble el brazo, pues eso puede provocar un hematoma.
- Se mezclan los tubos con el anticoagulante.
- Se comprobará el estado del paciente; por ejemplo, si se ha mareado y si la hemorragia está controlada.
- Se elimina el material contaminado: agujas, jeringas, algodones, etc.
- Se marcan las etiquetas y se registra la hora en que se extrajeron las muestras.

Etapa 7 – Preparación y transporte de muestras.

- Transportar las muestras a temperaturas entre 2 y 8°C, las muestras no deben entrar en contacto directo con el medio refrigerante.
- Evitar que las muestras se calienten por encima de la temperatura ambiente.
- Las muestras de sangre total no deben permanecer más de 4 horas a temperaturas entre 2 y 8°C.
- El medio de transporte debe ser resistente a golpes y cumplir con las normas de bioseguridad.

Bibliografía:

1. Carpeta de material sobre seguridad de las inyecciones y los procedimientos conexos. Organización Mundial de la Salud, 2011.
2. Recomendaciones de la Sociedad Brasileña de Patología Clínica/Medicina Laboratorial para la extracción de sangre venosa. 2. ed. Baruerira, 2010, SP Minha Editora, 2010.

ANEXO 3: Protocolo Para Obtención De Plasma

1. Extraer sangre recogiéndola en un tubo de extracción sanguínea para hematología (con EDTA-K3) identificado.
2. Inmediatamente tras la extracción invertir suavemente el tubo para favorecer que la sangre se mezcle bien con el anticoagulante EDTA-K3E/K2E.
3. Transportarla al laboratorio para su procesado lo antes posible en un cooler debidamente refrigerado y protegido.
4. Preparar 3 crioviales para el almacenaje del plasma, fracción de leucocitos y eritrocitos, debidamente etiquetados e identificados.
5. Centrifugar los tubos de sangre (con anticoagulante) a 1500g durante 15 minutos o 2000g por 10 minutos. Tras la centrifugación observaremos tres capas:

La fracción superior o sobrenadante tras la centrifugación de aspecto claro y transparente, y de un color amarillo pálido corresponde al plasma sanguíneo.

La segunda fracción o intermedia es fina y de color gris-blanco, y representa la fracción de leucocitos.

La tercera fracción o inferior es de un color rojo oscuro y corresponde a los eritrocitos o hematíes.
6. Cuidadosamente aspirar el sobrenadante y alicuotar el plasma sanguíneo (fase superior) obtenido, fracción de leucocitos y eritrocitos, en cada uno de los crioviales debidamente etiquetados e identificados.
7. Seguidamente almacenar los crioviales en cajas de crio almacenaje y guardarlas en un congelador de -80°C.

Bibliografía:

1. Assay Max human Creactive Protein ELISA Kit, ASSAYPRO, Catalog No. EC1001-1
2. Obtención, procesado y almacenaje de muestras de plasma sanguíneo, Meritxell Arqué, Centro de investigación biomédica en red enfermedades respiratorias.2009.

ANEXO 4: Protocolo Para Extracción De ADN

1. Añadir 900 μL de Cell Lysis Solution en un tubo de 1,5 mL.
2. Añadir 500 μL de muestra al tubo que contiene el Cell Lysis Solution y mezclar gentilmente 5-6 veces.
3. Incubar por 10 min a temperatura ambiente (moviendo gentilmente de dos a tres veces) para lisar los glóbulos rojos y centrifugar a 6.000 rpm por 20 min.
4. Remueva y deseche tanto sobrenadante como sea posible (residuo de 20 μL es aceptable). Si el pellet que queda es muy oscuro repetir el proceso desde el paso 1 a 4 y continuar.
5. Vortex el tubo hasta que se re suspendan los glóbulos blancos (15 segundos).
6. Añadir la Nuclei Lysis Solution 300 μL al tubo. Pipetear la solución 5-6 veces para lisar los glóbulos blancos hasta que no hayan grumos.
7. Añadir la Protein Precipitation Solution 100 μL para lisar los núcleos y vortex por 10 segundos. Se formaran coágulos de proteína.
8. Centrifugar a 7.200 gravedades por 10min. Un pellet café se formará.
9. Transferir el sobrenadante a un tubo limpio de 1,5 mL que contenga 300 μL de isopropanol.
10. Mezclar la solución gentilmente hasta que se formen los hilos de DNA.
11. Centrifugar a 7.200 gravedades por 5 minutos. Desechar el sobrenadante y añadir 300 μL de etanol grado molecular.
12. Centrifugar a 7.200 gravedades por 5 minutos.
13. Aspirar cuidadosamente el etanol y dejar secar por 10-15 minutos.
14. Añadir el DNA Rehydration Solution 100 μL e incubar la solución a 4°C.
15. Almacenar el DNA a 2°C -8°C.

Bibliografía:

1. Wizard genomic DNA Purification kit. Promega Corporation. 2010

ANEXO 5: Consentimiento informado

Documento de Consentimiento Informado para pacientes hombres y mujeres que acudan al servicio de hemodinámica del Hospital Carlos Andrade Marín, y que se les invita a participar en la investigación sobre cardiopatía isquémica.

Nombre del Investigador Principal: Mtr. ROSA INES COLINA CIFUENTES

Nombre de la Organización: PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DEL ECUADOR

Nombre del Patrocinador: PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DEL ECUADOR

Nombre de la Propuesta: *Relación entre la cardiopatía isquémica y Proteína C Reactiva más el análisis de los haplotipos IL-1 e IL-6 relacionados a la inflamación.*

Este Documento de Consentimiento Informado tiene dos partes:

- Información (proporciona información sobre el estudio)
- Formulario de Consentimiento (para firmar si está de acuerdo en participar)

Se le dará una copia del Documento completo de Consentimiento Informado

PARTE I: Información

Introducción

Somos un grupo de investigadores de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (Quito) y estamos investigando sobre la cardiopatía isquémica, enfermedad común en el país. Le voy a dar información e invitarle a participar de esta investigación. No tiene que decidir hoy si participar o no en esta investigación. Antes de decidirse, puede hablar con alguien que le explique sobre la investigación. Puede que haya algunas palabras que no entienda, por favor,

pregúnteme que gustoso le explicare con detalle. Si tiene preguntas más tarde, puede preguntarme a mí, al doctor que investiga o a los miembros del equipo.

Propósito

La cardiopatía isquémica es una de las enfermedades comunes y peligrosas a nivel mundial. Existen ciertas sustancias en el organismo que se activan cuando la enfermedad empieza a manifestarse. Nosotros deseamos medir el nivel de éstas sustancias en la sangre, para saber si podemos detectar los riesgos de la enfermedad tempranamente, esta es la razón por la que hacemos este estudio.

Tipo de Intervención de Investigación

Esta investigación incluirá una extracción de sangre 5 cc mediante un pinchazo en la vena del brazo.

Selección de participantes

Estamos invitando a todos los adultos hombres y mujeres entre 40 a 60 con diagnóstico de cardiopatía isquémica y sin diagnóstico para participar en ésta investigación.

Participación Voluntaria

Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria. Usted puede elegir participar o no hacerlo. Tanto si elige participar o no, continuarán todos los servicios que reciba en este hospital y nada cambiará.

PROCEDIMIENTO

Extraeremos sangre de su brazo usando un vacutainer . Una vez sacaremos esta cantidad de sangre (muestre el tubito con EDTA dónde se recolecta). Al final de la investigación, en un año su muestra de sangre será eliminada.

Descripción del Proceso

Durante la investigación. Por una sola vez se le extraerá una pequeña cantidad de sangre con un vacutainer en un tubo con un químico que hace que no se coagule la sangre. Se probará en esta sangre la presencia de sustancias que ayudan a su cuerpo a luchar contra inflamación de las arterias del corazón y la presencia de genes que participan en ésta enfermedad. También le preguntaremos sobre su salud general y tratamiento.

Duración

La investigación durará 10 meses en total. Usted participará por una sola vez con la toma de la muestra sanguínea.

Riesgos

Mínimos como presencia de hematoma.

Molestias

Al participar en esta investigación es posible que experimente molestias al momento de la toma de la muestra sanguínea por pincharle la vena.

Beneficios

Si usted participa en esta investigación, es probable que le podamos indicar la posibilidad o no de prevenir un infarto cardiaco y con los datos obtenidos es probable que generaciones futuras se beneficien.

Confidencialidad

Con esta investigación, se realiza algo fuera de lo ordinario en su comunidad. Es posible que si otros miembros de la comunidad saben que usted participa, puede que le hagan preguntas. Nosotros no compartiremos la identidad de aquellos que

participen en la investigación. La información que recojamos por este proyecto de investigación se mantendrá confidencial. La información acerca de usted que se recogerá durante la investigación será puesta fuera de alcance y nadie, sino los investigadores tendrán acceso a verla. Cualquier información acerca de usted tendrá un número en vez de su nombre. Solo los investigadores sabrán cuál es su número y se mantendrá la información encerrada en cabina con llave. No será compartida ni entregada a nadie.

Compartiendo los Resultados

El conocimiento que obtengamos por realizar esta investigación se compartirá con usted. No se compartirá información confidencial. Se publicaran los resultados para que otras personas interesadas puedan aprender de nuestra investigación.

Derecho a negarse o retirarse

Usted no tiene por qué participar en esta investigación si no desea hacerlo y el negarse a participar no le afectara en ninguna forma a que sea tratado en este Hospital. Usted seguirá teniendo todos los beneficios que da el hospital. Puede dejar de participar en la investigación en cualquier momento que desee sin perder sus derechos como paciente aquí. Su tratamiento en este Hospital no será afectado en ninguna forma. Es su elección y todos sus derechos serán respetados.

Esta propuesta ha sido revisada y aprobada por el Comité de evaluación ética de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, que es un comité cuya tarea es asegurarse de que se protege de daños a los participantes en la investigación.

Si usted desea averiguar más sobre este proyecto, contáctese con Mtr. Rosa Colina, Directora del Proyecto al teléfono 299170 Ext. 2742 o Dr. Rommel Montufar Director de Investigación y Secretario del Comité de Bioética de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Telf. 2991700 Ext.1385

PARTE II: Formulario de Consentimiento

He sido invitado a participar en la investigación sobre la cardiopatía isquémica entiendo que me tomarán una muestra de sangre. He sido informado adecuadamente de que los riesgos son mínimos y pueden incluir solo hematoma. Se me ha proporcionado el nombre de un investigador que puede ser fácilmente contactado usando el nombre y la dirección que se me ha dado de esa persona.

He leído la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento voluntariamente participar en esta investigación como participante y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que me afecte en ninguna manera mi cuidado médico.

Nombre del Participante_____

Firma del Participante _____

Fecha _____ hora:

Día/mes/año

Si es analfabeto:

He sido testigo de la lectura exacta del documento de consentimiento para el potencial participante y el individuo ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando que el individuo ha dado consentimiento libremente.

Nombre del testigo_____ Y Huella dactilar del participante

Firma del testigo _____

Fecha _____ hora:

Día/mes/año

He leído con exactitud o he sido testigo de la lectura exacta del documento de consentimiento informado para el potencial participante y el individuo ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando que el individuo ha dado consentimiento libremente.

Nombre del Investigador _____

Firma del Investigador _____

Ha sido proporcionada al participante una copia de este documento de Consentimiento Informado _____ (iniciales del investigador/asistente)