

ARTICULO ORIGINAL

Evaluación de parámetros inflamatorios, trombóticos y variantes genéticas en pacientes con ataque cerebrovascular isquémico que se asisten en un hospital de Uruguay

Evaluation of Parameters of Inflammation, Thrombotic State and Genetic Variants in Patients with Ischemic Stroke in an Uruguayan Hospital

Avaliação de parâmetros de inflamação, estado trombótico e variantes genéticas em pacientes com acidente vascular cerebral isquêmico em um hospital uruguaio

Elizabeth M López¹ **Resumen**

Orcid: 0000-0001-7939-5794

Luis E Bonino²

Orcid: 0000-0003-1306-2254

Romina A Medeiros³

Orcid: 0000-0002-5680-4054

Ana M Lena⁴

Orcid: 0000-0003-4007-3418

Andrea Vaucher⁵

Orcid: 0000-0002-5574-7596

Patricia Esperón⁶

Orcid: 0000-0002-3080-5702

Introducción: El ataque cerebrovascular es la segunda causa de muerte en adultos en el mundo occidental y una de las principales causas de discapacidad permanente, aumentando su frecuencia con la edad, el 85 % es de tipo isquémico.

Objetivos: Analizar parámetros trombofílicos, hipofibrinolíticos y genéticos en pacientes con ataque cerebrovascular isquémico y evaluar la posible asociación de estos con factores de riesgo cardiovascular.

Metodología: Se utilizó un cuestionario para evaluar la presencia de factores de riesgo cardiovascular en 114 pacientes incluidos en el estudio con diagnóstico de ataque cerebrovascular isquémico. Proteína C y antitrombina fueron determinados mediante métodos cromogénicos, resistencia a la proteína C activada e inhibidor lúpico mediante métodos coagulométricos y proteína S libre, inhibidor del activador del plasminógeno-1, homocisteína y lipoproteína (a) por métodos inmunoquímicos. Fibrinógeno fue determinado por coagulometría y proteína C reactiva por inmunoturbidimetría, ambos contra un grupo control. Las variantes genéticas factor V Leiden, protrombina G20210A, rs1205 (gen PCR), rs1800779 (gen NOS3) y rs2257073 (gen ASB10) fueron analizadas mediante real-time PCR, comparando los últimos tres con una población de referencia. La alteración de las frecuencias de las variables fue determinada por análisis estadístico chi-cuadrado.

Resultados: Tres de los cuatro pacientes jóvenes estudiados presentaron indicadores de trombofilia. El resto de los parámetros alterados fueron homocisteína 30.1% (22.4-39.1), lipoproteína (a) 32.1% (24.1-41.4), inhibidor del activador del plasminógeno-1 36.0% (27.8-45.1), fibrinógeno 12.3% (7.5-19.6) y proteína C reactiva 78.1% (69.6-84.7). Se encontró asociación ($p < 0.05$) entre ciertos factores de riesgo cardiovascular y los parámetros evaluados como hipertensión/proteína C reactiva, dislipemia/lipoproteína (a), arritmia/lipoproteína (a) y arritmia/fibrinógeno. Para pacientes con ataque cerebrovascular isquémico solo la variante rs1205 mostró una frecuencia más alta del alelo T.

Conclusiones: Este estudio revela la importancia de analizar la trombofilia en pacientes jóvenes, especialmente en aquellos sin factores de riesgo cardiovascular, así como el rol de la hipofibrinólisis, inflamación y algunas variantes genéticas en el desarrollo de ataque cerebrovascular isquémico.

Palabras clave: ataque cerebrovascular isquémico, trombofilia, inflamación, hipofibrinólisis, variantes genéticas

^{1,2,3,4}Universidad de la República. Facultad de Química. Hospital Maciel.

⁵Universidad de la República. Facultad de Medicina. Unidad Académica Médica 3.

⁶Universidad de la República. Facultad de Química. Departamento de Bioquímica Clínica.

Abstract

Introduction: Stroke is the second cause of death in adults in the Western world and one of the main causes of permanent disability, increasing in frequency with age; 85% are ischemic.

Objectives: To analyze thrombophilic, hypofibrinolytic, inflammatory, and genetic parameters in patients with ischemic stroke and evaluate possible associations with vascular risk factors.

Methodology: Questionnaires were used to evaluate vascular risk factors in 114 patients included in the study with ischemic stroke diagnosis. Protein C and Antithrombin were determined by chromogenic assays, Activated Protein C Resistance and Lupus Anticoagulant were determined with by coagulometry and Free Protein S, Plasminogen activator inhibitor-1, Homocysteine and Lipoprotein (a) by immunochemistry. Fibrinogen was assayed by coagulometry and C-reactive protein by immunoturbidimetry, both against a control group. Factor V Leiden, Prothrombin G20210A, rs1205 (CRP gene), rs1800779 (NOS3 gene) and rs2257073 (ASB10 gene) genetic variants were analyzed by Real-Time PCR, comparing the last three with a reference population. Alteration frequencies of the variables were determined by chi-square statistical analysis.

Results: Three out of four of the young patients studied presented indicators of thrombophilia. The rest of the altered parameters were Homocysteine 30.1% (22.4–39.1), Lipoprotein (a) 32.1% (24.1–41.4), Plasminogen activator inhibitor-1 36.0% (27.8–45.1), Fibrinogen 12.3% (7.5–19.6) and C-reactive protein 78.1% (69.6–84.7). Associations were found ($p < 0.05$) between certain vascular risk factors and parameters evaluated, namely hypertension/C-reactive protein, dyslipidemia/lipoprotein (a), arrhythmia/lipoprotein (a) and arrhythmia/fibrinogen. For ischemic stroke patients only the genetic variant rs1205 showed higher frequency of the T allele.

Conclusions: This study reveals the importance of analyzing thrombophilia in young patients, especially those without vascular risk factors, as well as the role of hypofibrinolysis, inflammation and some genetic variants in the development of ischemic stroke.

Keywords: ischemic stroke, thrombophilia, inflammation, hypofibrinolysis, genetic variants

Resumo

Introdução: O AVC é a segunda causa de morte em adultos no mundo ocidental e uma das principais causas de incapacidade permanente, aumentando de frequência com a idade; 85% são isquêmicos.

Metas: Analisar os parâmetros trombofílicos, hipofibrinolíticos e genéticos em pacientes com acidente vascular cerebral isquêmico e avaliar a possível associação com fatores de risco cardiovascular.

Metodologia: Um questionário foi utilizado para avaliar a presença de fatores de risco cardiovascular em 114 pacientes incluídos no estudo com diagnóstico de acidente vascular cerebral isquêmico. Proteína C e antitrombina foram determinadas por métodos cromogênicos, resistência à proteína C ativada e inibidor de lúpus por métodos coagulométricos e proteína S livre, inibidor do ativador do plasminogênio-1, homocisteína e lipoproteína (a) por métodos imunoquímicos. O fibrinogênio foi determinado por coagulometria e a proteína C-reativa por imunoturbidimetria, ambos contra um grupo controle. As variantes genéticas fator V Leiden, protrombina G20210A, rs1205 (gene PCR), rs1800779 (gene NOS3) e rs2257073 (gene ASB10) foram analisadas por PCR em tempo real, comparando as três últimas com uma população de referência. As frequências de alteração das variáveis foram determinadas pela análise estatística qui-quadrado.

Resultados: Três dos quatro pacientes jovens estudados apresentaram indicadores de trombofilia. O resto dos parâmetros alterados foram homocisteína 30,1% (22,4-39,1), lipoproteína (a) 32,1% (24,1-41,4), inibidor do ativador de plasminogênio-1 36,0% (27,8-45,1), fibrinogênio 12,3% (7,5-19,6) e proteína C reativa 78,1% (69,6-84,7). Foi encontrada associação ($p < 0,05$) entre alguns fatores de risco cardiovascular e os parâmetros avaliados como hipertensão/proteína C reativa, dislipidemia/lipoproteína (a), arritmia/lipoproteína (a) e arritmia/fibrinogênio. Para pacientes com acidente vascular cerebral isquêmico apenas a variante rs1205 apresentou maior frequência do alelo T.

Conclusões: Este estudo revela a importância de analisar a trombofilia em pacientes jovens, especialmente aqueles sem fatores de risco cardiovascular, bem como o papel da hipofibrinólise, inflamação e algumas variantes genéticas no desenvolvimento do acidente vascular cerebral isquêmico.

Palavras-chave: acidente vascular cerebral isquêmico, trombofilia, inflamação, hipofibrinólise, variantes genéticas

Recibido: 22/03/2023 - **Aceptado:** 28/05/2023

Laboratorio Central del Hospital Maciel (Unidad de Bioquímica Clínica y Hematología, Facultad de Química). Departamento de Emergencia del Hospital Maciel. Unidad Académica Médica 3. Laboratorio de Biología Molecular de Facultad de Química. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

Correspondencia. E-mail: elopez@fq.edu.uy

Introducción

El ataque cerebrovascular (ACV) es la segunda causa de muerte en adultos en el mundo occidental y una de las principales causas de discapacidad permanente, aumentando su frecuencia con la edad^(1,2). Aproximadamente el 85 % es de tipo isquémico (ACV-i), y entre estos, un 20 a 25 % de los afectados son personas en edad laboral activa⁽³⁾. Estudios realizados en el país estiman una incidencia de 181 casos de ACV/100.000 habitantes/año, con una elevada tasa de mortalidad⁽³⁾. Esta tasa ha disminuido en las últimas cuatro décadas, encontrándose actualmente en una posición intermedia comparada con otros países de Latinoamérica, y mayor a la de Estados Unidos y países europeos^(2,4).

Los factores de riesgo vascular estándares o clásicos modificables para el ACV-i son, entre otros, la hipertensión arterial (HTA), la dislipemia, la diabetes mellitus (DM), el tabaquismo y las arritmias (particularmente la fibrilación auricular); y dentro de los no modificables los antecedentes familiares y personales de ACV, la edad avanzada y el sexo, existiendo una acción sinérgica entre todos ellos^(5,6). La prevalencia de éstos varía a nivel mundial, por lo que es importante conocer la situación en cada región a los efectos de implementar las medidas de control adecuadas^(7,8).

Dado que el mecanismo fisiopatológico de la mayoría de los ACV-i es la disminución o bloqueo del aporte sanguíneo al cerebro debido a un coágulo o a un embolismo, es importante distinguir si la hipercoagulabilidad, la hipofibrinólisis o un estado inflamatorio contribuyeron en dicho evento vascular.

Está demostrado que existe un mayor riesgo de ACV-i por presentar un estado de hipercoagulabilidad dado por niveles elevados de varios de los factores de la coagulación, donde uno de ellos es el fibrinógeno (Fg), que es además un marcador inflamatorio y es susceptible de sufrir estrés nitro-oxidativo^(9,10). Otra razón de hipercoagulabilidad es la presencia de trombofilia, la cual es importante estudiar en el ACVi del joven (< 45 años), ya sea causada por variantes genéticas que disminuyen los inhibidores de la coagulación (proteína C (PC), proteína S (PS) y antitrombina (AT)), a variantes en el Factor II de la coagulación (Protrombina G20210A), a una resistencia a la proteína C activada (RPCA), siendo la variante del factor V de la coagulación la más relevante (Factor V Leiden (FVL))^(11,12). Incluso puede darse trombofilia adquirida por la presencia de anticuerpos antifosfolípidos tales como inhibidor lúpico (IL) o anticuerpos anticardiolipina (ACL), que dan lugar al síndrome antifosfolípido⁽¹³⁾. Cabe destacar que aún existe controversia en el rol de las trombofilias genéticas y adquiridas en el ACVi arterial⁽¹⁴⁾.

Si bien la hipofibrinólisis como causa de un ACVi ha sido poco estudiada, está descrita su presencia ya sea por aumento de factores tromboticos no coagulopáticos como homocisteína (Hcis)⁽¹⁵⁾ y lipoproteína (a) (Lp(a))⁽¹⁶⁾, así como por factores directamente relacionados a una disminución de la fibrinólisis por aumento del inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1)⁽¹⁷⁾.

La Hcis, un producto intermediario del metabolismo de la metionina, es un aminoácido de 4 carbonos con un grupo tiol libre. Se ha reportado que está asociada a una alteración del estado oxidativo que afecta el endotelio, teniendo su elevación un rol predictivo del riesgo aterotrombótico^(15,18,19). Además, estudios indican un aumento de susceptibilidad al ACVi en sujetos hipertensos con Hcis elevada⁽²⁰⁾.

La Lp(a) es una lipoproteína de baja densidad que contiene una apolipoproteína llamada apo(a) que es estructuralmente similar al plasminógeno y que compete con éste sobre la red de fibrina, evitando así la formación de plasmina y por ende una adecuada fibrinólisis. Además, el poseer apo B y fosfolípidos oxidados le otorga características aterogénicas, por lo que se considera un factor de riesgo independiente para la patología isquémica cardíaca y cerebrovascular^(16,21,22,23).

El PAI-1 es una glicoproteína de cadena única que se sintetiza principalmente en las células endoteliales y hepáticas, y en menor medida en las células del músculo liso y el tejido adiposo. Su aumento es un marcador de disfunción del endotelio vascular por ser el principal inhibidor del sistema fibrinolítico in vivo. Estudios clínicos han demostrado que en el ACVi sus niveles plasmáticos aumentan significativamente^(17,24).

En cuanto a los marcadores de inflamación, la proteína C reactiva (PCR) está involucrada como componente inflamatorio tanto en el desarrollo de la aterosclerosis como durante el evento isquémico. Su aumento puede considerarse un marcador predictivo de ACVi, que junto a la edad son factores de riesgo independientes para la recurrencia del mismo^(25,26).

Por otra parte, algunos estudios sugieren un posible efecto de variantes genéticas asociadas con la inflamación en el desarrollo de un ACVi. Usando un sistema de score genético Muiño et

al. ⁽²⁷⁾ analizó una serie de variantes inflamatorias para la diferenciación de los subtipos de ACVi y reportó que 3 variantes tenían una asociación significativa con el ACVi cardioembólico ($p < 0.05$): rs1205 ubicado en la región no traducida del gen de la proteína C reactiva (gen PCR); rs1800779 ubicado en la región promotora del gen de la enzima óxido nítrico sintasa-3 (gen NOS3); y la variante intrónica rs2257073 ubicada cercana al gen NSO3 (gen ASB10).

El objetivo del trabajo fue evaluar la frecuencia de parámetros trombofílicos, hipofibrinolíticos, inflamatorios y variantes genéticas en un grupo de pacientes con ACV-i arterial y estudiar la posible asociación de los mismos con algunos de los factores de riesgo vascular estándares y los subtipos etiológicos del evento vascular.

Metodología

Se realizó un estudio observacional y descriptivo de corte transversal a partir de 177 pacientes consecutivos que consultaron en el Departamento de Emergencia del Hospital Maciel, entre los años 2016 y 2018, con diagnóstico clínico-imagenológico sugestivo de ACV-i agudo arterial, basado en el diseño del estudio.

Los criterios de inclusión fueron el presentar un ACV-i de acuerdo a la definición de la OMS ⁽²⁸⁾ con menos de 24 horas de evolución, el tener las muestras de sangre necesarias para el estudio y el haber firmado el paciente o un familiar a cargo el consentimiento informado de participación en el estudio.

Se estudió además un grupo control sin factores de riesgo vascular para evaluar los parámetros inflamatorios (Fg y PCR).

Se contó con un protocolo de recolección de datos con variables afines a la investigación, que incluía datos filiatorios, de la anamnesis, del examen físico, y antecedentes personales y familiares de factores de riesgo vascular estándares.

Se consideraron las siguientes definiciones: HTA y DM según los criterios de la OMS, dislipemia cuando el colesterol es > 5.2 mmol/L o $>$ de 200 mg/dL o cHDL (colesterol de la lipoproteína de alta densidad) < 1.0 mmol/L o < 40 mg/dL o triglicéridos > 1.7 mmol/L o 150 mg/dL; tabaquismo el haber fumado como mínimo un cigarrillo al día en los últimos tres meses; arritmia al trastorno de la frecuencia cardíaca debido a fibrilación auricular y ACV previo como la ocurrencia de un ACV previo al episodio que ocasiona el ingreso al estudio.

Para la clasificación etiológica del ACV-i se empleó el criterio Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST), el cual los clasifica en lacunar, aterotrombótico, cardioembólico, inusual o de causa indeterminada.

Las determinaciones analíticas fueron realizadas en un equipo ACL TOP 500 mediante ensayos cromogénicos (AT y PC), coagulométricos (RPCA e IL) e inmunoquímicos (PS libre). Los anticuerpos ACL fueron determinados por método inmunoquímico (ELISA) y la búsqueda de las variantes genéticas factor V Leiden (G1691A) y factor II (G20210A) como la de las variantes inflamatorias PCR, NOS3 y ASB10 fue realizada mediante real-time PCR y analizadas en un equipo StepOne o Rotor-Gene 6000. Los resultados de las variantes genéticas inflamatorias fueron posteriormente analizados usando la interfase de discriminación alélica. La desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) fue examinada usando un calculador en línea ⁽²⁹⁾.

La Hcis fue determinada por método inmunoquimioluminescente en un equipo Architect i1000; Lp(a) en un equipo BNII por método inmunoquímico; PAI-1 por método inmunoquímico (ELISA); PCR en un equipo Beckman AU 480 por método inmunoquímico y Fg en un equipo ACL TOP 500 por método coagulométrico. Todos estos parámetros fueron evaluados en sangre extraída al ingreso del paciente, excepto para estudios de trombofilia (solo a menores de 45 años) y PAI-1 que fue recolectada lejos del evento agudo.

Se realizó un análisis descriptivo en el que las variables cuantitativas se expresan mediante medidas de tendencia central no paramétricas (mediana), con el rango intercuartílico (RIC) como medida de dispersión. Para el análisis inferencial se utilizaron las pruebas de contraste de hipótesis Chi cuadrado (X^2) o el test exacto de Fisher con un nivel de significancia de $p < 0.05$ para la búsqueda de asociación entre parámetros hipofibrinolíticos y antiinflamatorios con los factores de riesgo vascular estándares, y para las variantes genéticas inflamatorias con el tipo de ACV-i.

Las variables cuantitativas se dicotomizaron en alteradas y no alteradas, calculando la frecuencia de cada caso con su respectivo intervalo de confianza del 95 % (IC95 %). PCR y Lp(a) alteradas fueron definidas en base al valor que supere aquel para el cual hay bajo riesgo

cardiovascular según criterios de la American Heart Association y Canadian Cardiovascular Society (1.5 mg/L y 30 mg/L, respectivamente). El resto de los parámetros en base a que el valor sea mayor o menor según el caso al definido en el kit como valor de referencia, siendo alterados Hcis > 15.4 umol/L, Fg > 498 mg/dL, PAI-1 > 43 ng/mL; PC < 70 %, PS < 74 % en hombres y < 54.7 % en mujer, AT < 83 %; y presencia de RPCA relación < 2, IL relación > 1.2, ACL > 10 GPL/mL para IgG y > 7 MPL/mL para IgM. Con estos criterios se calcularon las razones de probabilidad (OR) contra el grupo control para Fg y PCR. El análisis estadístico fue realizado con el programa SPSS para Windows de IBM, versión 23.

Con el fin de evaluar si existen diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas entre los pacientes ACV-i con la población normal, se utilizó como referencia la base de datos en línea del proyecto ALFA respecto a la población Latinoamericana⁽³⁰⁾.

El presente trabajo contó con la aprobación de los Comités de Ética del Hospital Maciel y de la Universidad involucrados, que siguen las normas éticas establecidas en la Declaración de Helsinki.

Resultados

Fueron excluidos 63 pacientes por falta de confirmación de presentar ACV-i o el mismo no ser agudo, por haber sido tratado antes de la toma de muestras, o porque el paciente no dio su consentimiento de participación en el estudio. Los pacientes que cumplieron los criterios de inclusión al estudio fueron 114 entre 25 - 97 años.

El grupo control de estuvo constituido por 60 voluntarios sanos, 13 hombres y 47 mujeres con edades entre 17 - 85 años.

En la tabla 1 se presentan las características de la población estudiada.

Características	Resultados
Número de pacientes (% hombres)	114 (50)
Mediana de edad, años (RIC)	69 (61 - 79)
Número de pacientes < 45 años (%)	4 (3.5)
Factores de riesgo vasculares estándares modificables	
HTA, % (IC95 %)	81.4 (73.3 - 87.5)
Dislipemia, % (IC95 %)	48.7 (39.7 - 57.8)
DM, % (IC95 %)	32.7 (24.8 - 41.8)
Tabaquismo, % (IC95 %)	28.3 (20.8 - 37.2)
Arritmia, % (IC95 %)	16.1 (10.4 - 24.0)
Sin FRVM, % (IC95 %)	4.4 (1.9 - 9.9)
Factores de riesgo vascular estándar no modificable	
ACV previo, % (IC95 %)	33.0 (25.0 - 42.2)
Tipo de ataque cerebrovascular isquémico	
Lacunar, % (IC95 %)	24.6 (17.6 - 37.2)
Aterotrombótico, % (IC95 %)	16.7 (10.9 - 24.6)
Cardioembólico, % (IC95 %)	26.3 (19.1 - 35.1)
Inusual + Indeterminado, % (IC95 %)	32.4 (24.6 - 41.5)

Tabla 1: Características de la población estudiada de pacientes con ataque cerebrovascular isquémico.

Abreviaturas: RIC- rango intercuartílico, ACV- ataque cerebrovascular, HTA- hipertensión arterial, DM- diabetes mellitus, IC95 % - intervalo de confianza del 95 %.

El estudio de trombofilia como factor de riesgo en los pacientes jóvenes se realizó en 3/4 de ellos. Uno resultó ser heterocigoto para el FVL, otro presentó RPCA e IL positivo, y el tercero resultó ser negativo para los parámetros estudiados.

La Tabla 2 muestra la frecuencia de los valores de hipofibrinólisis alterados en los pacientes ACV-i.

Marcadores hipofibrinolíticos	% (IC95 %)
Hcis (valores considerados alterado > 15.4 umol/L)	30.1 (22.4 - 39.1)
Lp(a) (valores considerados alterado > 30 mg/dL)	32.1 (24.1 - 41.4)
PAI-1 (valores considerados alterados > 43 ng/mL)	40.6 (29.5 - 52.9)

Tabla 2: Frecuencia de valores de marcadores hipofibrinolíticos alterados en pacientes con ataque cerebrovascular isquémico.

Abreviaturas: Hcis- homocisteína, Lp(a)- lipoproteína (a), PAI-1- inhibidor del activador del plasminógeno-1, IC95 % - intervalo de confianza del 95 %.

Respecto a las Hcis alteradas, todas fueron de un nivel moderado (15 - 30 umol/L) de acuerdo a Kim et al. (18). El 85 % de los pacientes ACV-i con Hcis alterada eran \geq 60 años. Considerando dicha edad como punto de corte, las medianas de las Hcis alteradas fueron 16.7 umol/L (RIC: 16.1 - 18.0) y 17.5 umol/L (RIC 16.6 - 20.4) para < 60 años y \geq 60 años respectivamente.

En cuanto al PAI-1, la mediana de los pacientes con resultados no alterados fue de 73 años (RIC: 64.5 - 79.1), mientras que para aquellos con valores alterados fue de 67 años (RIC: 57.5 - 78.0).

La Tabla 3 muestra la frecuencia de valores alterados de los parámetros inflamatorios en pacientes con ACV-i y en los controles, con su correspondiente comparación.

Tabla 3: Frecuencia de valores de marcadores inflamatorios alterados en pacientes con ataque cerebrovascular isquémico y en el grupo control.
Abreviaturas: ACV-i- ataque cerebrovascular isquémico, Fg- fibrinógeno, PCR- proteína C reactiva, IC95 %- intervalo de confianza del 95 %, OR- razón de probabilidad.

Marcadores inflamatorios	ACV-i % (IC95 %)	Controles % (IC95 %)	OR (IC95 %)
Fg (valores considerados alterados > 498 mg/dL)	12.3 (7.5 - 19.6)	1.7 (0.3 - 8.9)	8.3 (1.1 - 64.4)
PCR (valores considerados alterados > 1.5 mg/L)	78.1 (69.6 - 84.7)	61.7 (49.0 - 72.9)	2.2 (1.1 - 4.4)

No se encontró asociación entre los marcadores inflamatorios e hipofibrinolíticos en función del tipo de ACV-i, ($p > 0.05$) (datos no mostrados).

En la tabla 4 se muestra la asociación entre los marcadores inflamatorios e hipofibrinolíticos en función de los factores de riesgo vascular estándares. Respecto a la HTA, solo se observó asociación con la PCR y una tendencia con el Fg. En cuanto a la dislipemia, hubo asociación con Lp(a) y una tendencia con PCR. El tabaquismo presentó una tendencia a la asociación con Hcis. La arritmia mostró asociación con Fg e inversa con la Lp(a).

Tabla 4: Análisis estadístico (χ^2 /Fisher) en búsqueda de asociación entre marcadores hipofibrinolíticos/inflamatorios y los factores de riesgo vascular estándar modificables y no modificables. (* estadísticamente significativo)
Abreviaturas: FRVM- factores de riesgo vascular estándares modificables, FRVNM- factores de riesgo vascular estándares no modificables, HTA- hipertensión arterial, DM- diabetes mellitus, ACV- ataque cerebrovascular, Hcis- homocisteína, Lp(a)- lipoproteína (a), PAI-1- inhibidor del activador del plasminógeno-1, Fg- fibrinógeno, PCR- proteína C reactiva.

FRVM/FRVNM	Valores de p para los marcadores hipofibrinolíticos/inflamatorios				
	Hcis	Lp(a)	PAI-1	Fg	PCR
HTA	0.508	0.488	0.528	0.069	0.010 *
Dislipemia	0.266	0.020a	0.507	0.498	0.099
DM	0.511	0.419	0.380	0.139	0.480
Tabaquismo	0.075	0.291	0.353	0.109	0.368
Arritmia	0.518	0.036a	0.285	0.004a	0.161
ACV previo	0.288	0.544	0.536	0.820	0.173

De los 5 pacientes sin factores de riesgo vascular estándares, uno presento valores de PAI-1, Hcis y PCR alterados, mientras que otro presentaba alteración de los valores de Fg y PCR.

Se corroboró que el grupo de pacientes ACV-i se encontraba en HWE para el estudio de las variantes genéticas rs1205 PCR, rs1800779 NOS3 y rs2257073 ASB10.

En las Tablas 5 y 6 se muestran las frecuencias alélicas y genotípicas, para todos los ACV-i (comparadas a una población de referencia⁽³⁰⁾) y diferenciados por criterio TOAST, respectivamente.

Tabla 5: Frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes genéticas inflamatorias de la población de referencia (30) y de los pacientes ataque cerebrovascular isquémico.
Abreviaturas: FA- frecuencias alélicas, FG- frecuencias genotípicas, PR - población de referencia, ACV-i- ataque cerebrovascular isquémico, rs1205 PCR- variante del gen PCR, rs1800779 NOS3- variante del gen NOS3, rs225707 ASB10- variante del gen ASB10.

rs1205 PCR				rs1800779 NOS3				rs2257073 ASB10			
FA		FG		FA		FG		FA		FG	
PR	ACVi	PR	ACVi	PR	ACVi	PR	ACVi	PR	ACVi	PR	ACVi
C: 0.64	C: 0.40	CC: 0.41	CC: 0.14	A: 0.76	A: 0.63	AA: 0.57	AA: 0.39	C: 0.77	C: 0.72	CC: 0.60	CC: 0.54
T: 0.36	T: 0.60	CT: 0.46	CT: 0.53	G: 0.24	G: 0.37	GA: 0.37	GA: 0.47	T: 0.23	T: 0.28	CT: 0.35	CT: 0.37
		TT: 0.13	TT: 0.33			GG: 0.06	GG: 0.14			TT: 0.05	TT: 0.09

Tipo de ACV-i	rs1205 PCR		rs1800779 NOS3		rs2257073 ASB10	
	FA	FG	FA	FG	FA	FG
Lacunar	C: 0.34 T: 0.66	CC: 0.04 CT: 0.60 TT: 0.36	A: 0.62 G: 0.38	AA: 0.40 AG: 0.44 GG: 0.16	C: 0.71 T: 0.29	CC: 0.50 CT: 0.42 TT: 0.08

Tabla 6: Frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes genéticas inflamatorias discriminadas por tipo de ataque cerebrovascular isquémico

Abreviaturas: FA-frecuencias alélicas, FG-frecuencias genotípicas, ACV-i - ataque cerebrovascular isquémico, rs1205 PCR- variante del gen PCR, rs18007799 NOS3- variante del gen NOS3, rs225707 ASB10- variante del gen ASB10.

Aterotrombótico	C: 0.47	CC: 0.17	A: 0.72	AA: 0.50	C: 0.78	CC: 0.61
	T: 0.53	CT: 0.61	G: 0.28	AG: 0.44	T: 0.22	CT: 0.33
Cardioembólico	C: 0.36	CC: 0.17	A: 0.59	AA: 0.34	C: 0.70	CC: 0.54
	T: 0.64	CT: 0.38	G: 0.41	GA: 0.48	T: 0.30	CT: 0.32
		TT: 0.45		GG: 0.17		TT: 0.14

Las frecuencias alélicas y genotípicas encontradas para la variante rs1205 PCR, sin discriminar por tipo de ACV-i, fueron diferentes a la población normal Latinoamericana, con una mayor frecuencia del alelo T en los pacientes con ACV-i. Por tipo de ACV-i, las frecuencias alélicas para esta variante también fueron diferentes a la población de referencia, con una presencia aumentada del alelo T en los 3 tipos de ACV-i.

Respecto a las variantes rs1800779 NOS3 y rs2257073 ASB10, las frecuencias fueron similares tanto en general como por tipo de ACV-i. La Tabla 7 muestra el resultado del análisis estadístico de asociación entre las variantes estudiadas y el tipo de ACV-i.

Variantes genéticas inflamatorias	Alelo	Valores de p (*) por tipo de ACV-i		
		Lacunar	Aterotrombótico	Cardioembólico
rs1205 PCR	C	0.149	0.682	0.470
	T	0.989	0.257	0.206
rs1800779 NOS3	A	0.730	0.434	0.499
	G	0.972	0.331	0.410
rs2257073 ASB10	C	1.000	0.668	0.426
	T	0.603	0.500	0.922

Discusión

El porcentaje de ACV-i en jóvenes del presente estudio (3.5%) fue menor a referencias nacionales que reportan 5.6-8% e internacionales de alrededor de 10%, pero considerando ACV en su conjunto, incluso con un punto de corte en 50 años^(14,31).

Respecto al estudio de trombofilia de ACV-i en jóvenes, el paciente con FVL tuvo un ACV previo y trombosis a edades tempranas en sitios inusuales, que consolida con la presencia de dicha mutación no previamente estudiada aunque aún existe controversia en la literatura acerca del rol de éste en los ACV-i arteriales⁽¹⁴⁾.

El paciente con RPCA e IL positivos en ausencia de FVL indica una condición trombogénica adquirida, que puede haber sido el causante de su ACV ya que carece de todos los factores de riesgo vascular estándares.

El tercer paciente no presentó ningún parámetro positivo de trombofilia, aunque tenía como factor de riesgo solamente el ser tabaquista y el hecho de que utilizó anticonceptivos orales hasta hace un año. Sin embargo, si bien no fue estudiada en el presente trabajo, de la historia clínica surge que era portadora de una variante para el gen trombofílico de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR).

El paciente que no pudo ser captado para los estudios de trombofilia era tabaquista, alcohólico y tenía antecedentes familiares directos de ACV, siendo uno de los factores de riesgo de ACV-i más importantes según establece Goldstein et al.⁽⁵⁾.

Estos resultados destacan la importancia de considerar a la trombofilia como un factor de riesgo de ACV-i en los jóvenes como refiere M'Barek et al.⁽¹¹⁾. De todas maneras, cabe remarcar que hay divergencias de si los estudios de trombofilia genéticos y adquiridos deben incluirse en el algoritmo diagnóstico del ACV-i del joven⁽¹⁴⁾.

El estudio de Hcis indicó un aumento de este marcador en pacientes con ACV-i. Para un análisis más pormenorizado de estos resultados, además del punto de corte indicado por el kit, se utilizó el propuesto por Selhub et al.⁽³²⁾, el cual discrimina por sexo y edad. Dichos autores reportaron en la población general mayor o igual de 60 años un aumento de Hcis en 43.2 % en los hombres (IC95 % 40.1 - 46.3) y 46.5 % (IC95 % 43.6 - 49.4) en las mujeres, para un punto de corte de 11.4 y 10.4 umol/L, respectivamente. Utilizando dichos criterios y el mismo rango etario en la población ACV-i, se observó una frecuencia de Hcis alterada de 65.8 % (IC95 % 49.9 - 78.8) en hombres y 74.5 % (IC95 % 61.1 - 84.5) en mujeres. Este aumento en Hcis apoya la hipótesis de que es factor de riesgo para ACV-i⁽³³⁾.

De todas formas, existe controversia acerca del tratamiento específico de la hiperhomocisteinemia como prevención primaria o secundaria de ACV-i y en general no es recomendada ⁽¹⁴⁾.

Como establecieron Kim et al. ⁽¹⁸⁾, hay variables confundentes que podrían llevar a su aumento, como las deficiencias de vitamina B12 y ácido fólico, la edad, el ser tabaquista y ciertos medicamentos. Respecto a la edad, no se observó diferencia significativa entre las medianas de hiperhomocisteinemias entre los menores y mayores de 60 años, a pesar de la evidencia existente del aumento normal de Hcis con la edad ⁽³⁴⁾. El ser tabaquista podría excluirse dado que no se encontró asociación con la hiperhomocisteinemia (Tabla 4). Un paciente con riesgo cardiovascular medio a alto según valor Hcis ⁽¹⁸⁾ estaba en tratamiento con fenobarbital que le puede haber inducido la hiperhomocisteinemia, por lo cual dicho resultado no podría ser atribuido solamente al ACV-i. Sin embargo, dado que carecía de factores de riesgo vascular estándares, podría existir una asociación entre ese aumento y el desarrollo del ACV-i. Las deficiencias vitamínicas no pudieron ser analizadas.

Con relación a la Lp(a), no existen datos de la población uruguaya, pero la guía nacional de dislipemias ⁽²²⁾ establece que el 20 % de la población general posee valores por encima del punto de corte para riesgo cardiovascular (>30 mg/dL). Nuestros hallazgos indican que el porcentaje de pacientes con ACV-i que exceden ese punto de corte está por encima del de la población general. Esto sugiere que los pacientes con ACV-i tiene un riesgo cardiovascular aumentado que podría ser evaluado a través de la medida de la concentración de Lp(a). Nuevamente, es controversial que el hallar una Lp(a) elevada lleve a tomar medidas específicas de prevención primaria o secundaria ⁽³⁵⁾.

Con respecto al PAI-1, existen varias variables confundentes tales como la inflamación, la edad, la DM, la dislipemia, la HTA, obesidad, infección y fármacos fibrinolíticos ^(36,37,38,39,40,41). De estos, la inflamación podría alejarse como causa del aumento dado que ningún paciente presentó PCR en rango inflamatorio (> 6 mg/L); DM, dislipemia e HTA también pueden excluirse dado que no presentaron asociación con PAI-1 (Tabla 4); y edad también dado que no se observó diferencia entre las medianas de edad de los valores normales y alterados de PAI-1.

La influencia por obesidad y de posibles infecciones, no pudo ser excluida por falta de dicha información. El efecto de fármacos fibrinolíticos se excluye porque ningún paciente tratado con éstos fue incluido en este estudio. Por lo tanto, el PAI-1 alterado podría indicar un estado hipofibrinolítico que contribuye al desarrollo del ACV-i.

Un hecho que quedó demostrado es que la PCR y el Fg eran significativamente más elevados en pacientes con ACV-i comparados al grupo control, corroborando la relevancia de la inflamación en el evento isquémico ⁽²⁵⁾. Además, se encontró asociación entre PCR y Fg en pacientes con ACV-i.

A los efectos de validar el uso de los parámetros hipofibrinolíticos e inflamatorios como nuevos factores de riesgo para ACV-i se buscó la asociación entre estos y los los factores de riesgo vascular estándares.

Según Han et al. ⁽²⁰⁾, era de esperarse encontrar una asociación entre HTA y Hcis, lo que no ocurrió en este estudio; pero la HTA si presentó asociación con la PCR y se observó una tendencia con el Fg. Esta asociación era esperada dado que la HTA afecta a los vasos, mediado por el estrés nitrooxidativo que lleva a disfunción endotelial ⁽⁴⁰⁾. La dislipemia, especialmente la hipercolesterolemia, asoció con la Lp(a) y mostró una tendencia con la PCR. Si bien la Lp(a) es un factor de riesgo independiente para ACV-i, tal asociación parece razonable dado que ésta transporta 30 % de colesterol ⁽²³⁾. En cuanto a la PCR, de acuerdo con Libby ⁽²⁵⁾, el estado inflamatorio asociado favorece la oxidación del colesterol inhibiendo así su metabolización, por lo que aumenta su concentración plasmática favoreciendo la formación de la placa de ateroma. El tabaquismo mostró una tendencia de asociación con la Hcis pero no asoció con PAI-1 como mencionan Eliason et al. y Omoike et al. ^(42,43). Respecto a la arritmia, se asoció con Lp(a) y Fg. La primera, una asociación inversa, fue consistente con lo reportado por Aronis et al. ⁽⁴⁴⁾ y la segunda con Wu et al. ^(45,46), que reportó que el aumento del Fg promueve significativamente el tromboembolismo en la fibrilación auricular.

En cuanto a los pacientes sin factores de riesgo vascular estándares se hallaron alteraciones en varios de los parámetros inflamatorios e hipofibrinolíticos analizados (PCR, Fg y PAI-1), demostrando la importancia de su evaluación en este tipo de pacientes. A pesar de este hecho, demostrado en la literatura y en este estudio, no hay consenso en la necesidad de una búsqueda sistemática de estos parámetros en el ACV-i ni que su hallazgo se traduzca en una terapéutica específica de ellos.

La no asociación entre los parámetros relacionados al desbalance hemostático y el tipo de ACV-i podría ser debido al bajo número de pacientes en cada subtipo.

A pesar de que el análisis inferencial de asociación entre las frecuencias alélicas de las variantes genéticas y el tipo de ACV-i dieron valores de $p > 0.05$, había un aumento en la frecuencia del alelo T de la variante de PCR rs1205 en los 3 tipos de ACV-i. La mayor frecuencia del alelo T en el tipo cardioembólico coincide con lo reportado por Muiño et al. ⁽²⁶⁾, quien estableció que el poseer ese alelo podría aumentar el score de riesgo genético para el mismo.

De la búsqueda de factores de riesgo que pudiesen ser responsables del desarrollo de un ACV-i y en concordancia con la extensa literatura publicada sobre este tema, surge que la trombofilia debería, en ciertos contextos clínicos, ser estudiada para prevenir la recurrencia, dado que los pacientes jóvenes analizados presentaron al menos uno de dichos parámetros alterados, aunque el número de casos evaluados fue bajo.

Las alteraciones en los valores de Hcis, Lp(a), PAI-1, PCR y Fg, parámetros relacionados a la hipofibrinólisis e inflamación, avalan la hipótesis de una fibrinólisis disminuida y un rol relevante en el proceso inflamatorio que pueden contribuir a un ACV-i. Además, la mayor frecuencia alélica observada en una de las variantes genéticas analizadas complementa los hallazgos anteriormente mencionados.

El estudio de correlación mostró que la mayoría de los factores de riesgo vascular estándares tenía al menos una asociación con los nuevos potenciales factores de riesgo propuestos, apoyando su utilidad. Queda por determinar, si dicha coexistencia debería llevar a un control más intensivo de los primeros o a un tratamiento específico de los segundos.

Consideramos como limitaciones del estudio el no haber podido evaluar los parámetros Hcis, Lp(a), PAI-1 y las variantes genéticas asociadas a la inflamación contra una población de referencia propia, así como el no haber podido valorar todas las variables confundentes de algunos de los parámetros analizados debido a un tema de costos. Otra debilidad fue el no haber realizado una técnica de apareamiento con todas las variables del grupo control (edad, sexo y factores confundentes). Además, el número total de pacientes incluidos en el estudio es relativamente bajo, especialmente en la subpoblación de ACV-i en el joven, como para que los resultados sean determinantes.

Conclusiones

Los resultados hallados, especialmente en los pacientes sin factores de riesgo vascular estándares, apoyan la hipótesis planteada de que tanto la trombofilia en jóvenes, como la hipofibrinólisis y el estado inflamatorio con su contribución genética, pueden predecir el desarrollo de un ACV-i. Dado que esta es un área poco estudiada en nuestro medio, los resultados hallados estimulan la necesidad de continuar el estudio con un diseño optimizado que permita generar un score de riesgo específico analizando factores de riesgo gatilladores no rutinariamente evaluados, y a su vez, dilucidar si éstos son causa o consecuencia del evento.

Bibliografía

- 1- Boehme AK, Esenwa C, Elkind MS. Stroke risk factors, genetics, and prevention. *Circ Res* 2017; 120(3):472-495. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308398
- 2- Feigin VL, Stark BA, Johnson CO, Roth GA, Bisignano C, Abady GG, et al. GBD 2019 Stroke Collaborators. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Neurol* 2021; 20(10): 795-820. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00252-0.
- 3- Camejo C, Legnani C, Gaye A, Arcieri B, Brunett F, Castro L, et al. Unidad de ACV en el Hospital de Clínicas: comportamiento clínico-epidemiológico de los pacientes con ACV (2007-2012). *Arch Med Interna [internet]* 2015; 37(1):30-35. [Acceso:7/12/2016] Disponible en: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-423X2015000100006
- 4- Pino S, Rada D, Hackembruch J, Vazquez C, Gaye A. Stroke mortality trend in Uruguay. 7th International Conference on Neurology and Epidemiology (ICNE), Virtual Conference, March 19-20, 2021. *Neuroepidemiology*. 2021;55 Suppl 1:1-106. doi: 10.1159/000515315. Epub 2021 Mar 16.
- 5- Goldstein LB, Bushnell CD, Adams RJ, Appel LJ, Braun LT, Chaturvedi S, et al. Guidelines for the primary prevention of stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2011 Feb;42(2):517-84. doi: 10.1161/STR.0b013e3181fcb238.

- 6- Mohan KM, Wolfe CD, Rudd AG, Heuschmann PU, Kolominsky-Rabas PL, Grieve AP. Risk and cumulative risk of stroke recurrence: a systematic review and meta-analysis. *Stroke* 2011; 42(5):1489-1494. doi: 10.1161/STROKEAHA.110.602615.
- 7- O'Donnell MJ, Chin SL, Rangarajan S, Xavier D, Liu L, Zhang H, et al. Global and regional effects of potentially modifiable risk factors associated with acute stroke in 32 countries (INTERSTROKE): a case-control study. *Lancet* 2016; 388(10046):761-775. doi: 10.1016/S0140-6736(16)30506-2.
- 8- López EM, Bonino LE, Medeiros R, Lena AM, Vaucher A. Evaluación de los factores de riesgo vasculares convencionales en pacientes con ataque cerebrovascular isquémico en un hospital de Uruguay. *Acta Bioquim Clin Latinoam* [internet] 2021 [Acceso:7/1/2022]; 55(4): 429-438. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572021000500429&lng=es&nrm=iso
- 9- Maino A, Rosendaal FR, Algra A, Peyvandi F, Siegerink B. Hypercoagulability is a stronger risk factor for ischaemic stroke than for myocardial infarction: a systematic review. *PLoS One* 2015;10(8):e0133523. doi: 10.1371/journal.pone.0133523.
- 10- Medeiros R, Sousa B, Rossi S, Afonso C, Bonino L, Pitt A, et al. Identification and relative quantification of 3-nitrotyrosine residues in fibrinogen nitrated in vitro and fibrinogen from ischemic stroke patient plasma using LC-MS/MS. *Free Radic Biol Med* 2021;165:334-347. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.01.049.
- 11- M'barek L, Sakka S, Meghdiche F, Turki D, Maalla K, Dammak M, et al. MTHFR (C677T, A1298C), FV Leiden polymorphisms, and the prothrombin G20210A mutation in arterial ischemic stroke among young Tunisian adults. *Metab Brain Dis* 2021; 36(3):421-428. doi: 10.1007/s11011-020-00663-7.
- 12- Chiasakul T, De Jesus E, Tong J, Chen Y, Crowther M, Garcia D, et al. Inherited thrombophilia and heart the risk of arterial ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *J Am Assoc* 2019;8(19): e012877. doi: 10.1161/JAHA.119.012877.
- 13- Radin M, Schreiber K, Cecchi I, Roccatello D, Cuadrado MJ, Sciascia S. The risk of ischaemic stroke in primary antiphospholipid syndrome patients: a prospective study. *Eur J Neurol* 2018; 25(2):320-325. doi: 10.1111/ene.13499.
- 14- Powers WJ, Rabinstein AA, Ackerson T, Adeoye OM, Bambakidis NC, Becker K, et al. 2018 Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*, 49(3), e46-e99. doi:10.1161/str.000000000000158
- 15- Shi Z, Guan Y, Huo YR, Liu S, Zhang M, Lu H, et al. Elevated total homocysteine levels in acute ischemic stroke are associated with long-term mortality. *Stroke* 2015; 46(9):2419-2425. doi: 10.1161/STROKEAHA.115.009136.
- 16- Vucković BA, Djerić MJ, Ilić TA, Canak VB, Kojić-Damjanov SLj, Zarkov MG, et al. Fibrinolytic parameters, lipid status and lipoprotein(a) in ischemic stroke patients. *Srp Arh Celok Lek* 2010;138(1 Suppl): S12-17. doi: 10.2298/sarh10s1012v.
- 17- Zhuang P, Wo D, Xu ZG, Wei W, Mao HM. Dynamic changes in plasma tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor-1 and beta-thromboglobulin content in ischemic stroke. *J Clin Neurosci* 2015; 22(7):1123-1127. doi: 10.1016/j.jocn.2014.12.027.
- 18- Kim J, Kim H, Roh H, Kwon Y. Causes of hyperhomocysteinemia and its pathological significance. *Arch Pharm Res* 2018; 41(4):372-383. doi: 10.1007/s12272-018-1016-4.
- 19- Malinowska J, Olas B. Homocysteine and its thiolactone-mediated modification of fibrinogen affect blood platelet adhesion. *Platelets* 2012; 23(5):409-412. doi: 10.3109/09537104.2011.625509.
- 20- Han L, Wu Q, Wang C, Hao Y, Zhao J, Zhang L, et al. Homocysteine, ischemic stroke, and coronary heart disease in hypertensive patients: a population-based, prospective cohort study. *Stroke* 2015; 46(7):1777-1786. doi: 10.1161/STROKEAHA.115.009111.
- 21- Nave AH, Lange KS, Leonards CO, Siegerink B, Doehner W, Landmesser U, et al. Lipoprotein (a) as a risk factor for ischemic stroke: a meta-analysis. *Atherosclerosis* 2015; 242(2):496-503. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.08.021.
- 22- Ministerio de Salud Pública. Guía Nacional para el abordaje de las dislipemias en el adulto. Uruguay 2019. [Acceso:7/7/2021] Disponible en: http://www.fnr.gub.uy/sites/default/files/publicaciones/guia_lipidos_msp_fnr.pdf
- 23- Kamstrup PR. Lipoprotein(a) and cardiovascular disease. *Clin Chem* 2021; 67(1):154-166. doi: 10.1093/clinchem/hvaa247.

- 24- Morrow GB, Whyte CS, Mutch NJ. A serpin with a finger in many PAIs: PAI-1's central function in thromboinflammation and cardiovascular disease. *Front Cardiovasc Med* 2021; 8:653655. doi: 10.3389/fcvm.2021.653655.
- 25- Libby P. Inflammation in atherosclerosis-no longer a theory. *Clin Chem* 2021; 67(1):131-142. doi: 10.1093/clinchem/hvaa275.
- 26- Kuwashiro T, Sugimori H, Ago T, Kuroda J, Kamouchi M, Kitazono T. Predictive role of C reactive protein in stroke recurrence after cardioembolic stroke: the Fukuoka stroke registry. *BMJ Open* 2013;3(11): e003678. doi: 10.1136/bmjopen-2013-003678.
- 27- Muiño E, Krupinski J, Carrera C, Gallego-Fabrega C, Montaner J, Fernández-Cadenas I. An inflammatory polymorphisms risk scoring system for the differentiation of ischemic stroke subtypes. *Mediators Inflamm* 2015; 2015:569714. doi: 10.1155/2015/569714.
- 28- Aho K, Harmsen P, Hatano S, Marquardsen J, Smirnov VE, Strasser T. Cerebrovascular disease in the community: results of a WHO collaborative study. *Bull World Health Organ* 1980; 58(1):113-130. PMID: 6966542.
- 29- Court MH. A simple calculator to determine whether observed genotype frequencies are consistent with Hardy-Weinberg equilibrium. [Internet] 2008 [Acceso 1/6/2022]. Disponible en: https://accounts.smccd.edu/case/biol215/docs/HW_calculator.xls
- 30- National Center for Biotechnology Information ALFA project database of genotypes and phenotypes. Allele and genotypic frequencies for the PCR genes rs1205, NOS3 rs1800779 and ABS10 rs2257073 from the "Latin American 2" population. Mar. [internet] NCBI: Mar. 2020 [Acceso: 1/6/2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>
- 31- Higgin J, Urban L, Hackembruch HJ, Gaye A. Análisis de una Cohorte de Pacientes con ACV del Joven: Hospital de Clínicas, Montevideo. *Rev. Urug. Med. Int.* 2018; 3(2): 3-12. doi: 10.26445/rmu.3.2.1.
- 32- Selhub J, Jacques PF, Rosenberg IH, Rogers G, Bowman BA, Gunter EW, et al. Serum total homocysteine concentrations in the third National Health and Nutrition Examination Survey (1991-1994): population reference ranges and contribution of vitamin status to high serum concentrations. *Ann Intern Med* 1999; 131(5):331-339. doi: 10.7326/0003-4819-131-5-199909070-00003.
- 33- He Y, Li Y, Chen Y, Feng L, Nie Z. Homocysteine level and risk of different stroke types: a meta-analysis of prospective observational studies. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2014; 24(11):1158-1165. doi: 10.1016/j.numecd.2014.05.011.
- 34- Pijoán JI, Irigoien I, Aguirre C. Intervalos de referencia poblacional y determinantes de la homocisteína plasmática. *Med Clin (Barc)* 2001; 117:487-491. doi: 10.1016/s0025-7753(01)72153-7.
- 35- Reyes-Soffer G, Ginsberg HN, Berglund L, Duell PB, Heffron SP, Kamstrup PR, et al. Lipoprotein(a): A Genetically Determined, Causal, and Prevalent Risk Factor for Atherosclerotic Cardiovascular Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2022 ;42(1):e48-e60. doi: 10.1161/ATV.000000000000147.
- 36- Altalhi R, Pechlivani N, Ajjan RA. PAI-1 in Diabetes: pathophysiology and role as a therapeutic target. *Int J Mol Sci* 2021; 22(6):3170. doi: 10.3390/ijms22063170.
- 37- Kaikita K, Fogo AB, Ma L, Schoenhard JA, Brown NJ, Vaughan DE. Plasminogen activator inhibitor-1 deficiency prevents hypertension and vascular fibrosis in response to long-term nitric oxide synthase inhibition. *Circulation* 2001; 104(7):839-844. doi: 10.1161/hc3301.092803.
- 38- Alessi MC, Juhan-Vague I. PAI-1 and the metabolic syndrome: links, causes, and consequences. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26(10):2200-2207. doi: 10.1161/01.ATV.0000242905.41404.68.
- 39- Chen R, Yan J, Liu P, Wang Z, Wang C. Plasminogen activator inhibitor links obesity and thrombotic cerebrovascular diseases: The roles of PAI-1 and obesity on stroke. *Metab Brain Dis* 2017; 32(3):667-773. doi: 10.1007/s11011-017-0007-3.
- 40- Agita A, Alsagaff MT. Inflammation, immunity, and hypertension. *Acta Med Indones* 2017; 49:158-165. PMID: 28790231.
- 41- Ruiz L, Muñoz E, Gaye A, Pons R, Ordoqui J, Gonzales C, et al. Complicaciones neurológicas y extra neurológicas en pacientes con ACV internados en el Hospital de Clínicas de Montevideo durante un período de 2 años. *An Facultad Med (Univ Repúb Urug).* 2020; 7(1): e2020v7n1a8. doi: 10.25184/anfamed2020v7n1a8.
- 42- Omoike OE, Paul TK, Ridner SL, Awasthi M, Hariforoosh S, Mamudu HM. Association between smoking status and homocysteine levels and possible effect modification by cholesterol and oestradiol. *Biomarkers* 2020; 25(2):126-130. doi: 10.1080/1354750X.2019.1705395.

- 43- Eliasson M, Asplund K, Evrin PE, Lundblad D. Relationship of cigarette smoking and snuff dipping to plasma fibrinogen, fibrinolytic variables and serum insulin. The Northern Sweden MONICA study. *Atherosclerosis* 1995; 113(1):41-53. doi: 10.1016/0021-9150(94)05425-i.
- 44- Aronis KN, Zhao D, Hoogeveen RC, Alonso A, Ballantyne CM, Guallar E, et al. Associations of Lipoprotein(a) levels with incident atrial fibrillation and ischemic stroke: The ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities) Study. *J Am Heart Assoc* 2017; 6(12): e007372. doi: 10.1161/JAHA.117.007372.
- 45- Wu N, Tong S, Xiang Y, Wu L, Xu B, Zhang Y, et al. Association of hemostatic markers with atrial fibrillation: a meta-analysis and meta-regression. *PLoS One* 2015 ; 10(4):e0124716. doi: 10.1371/journal.pone.0124716.
- 46- Wu N, Chen X, Cai T, Wu L, Xiang Y, Zhang M, et al. Association of inflammatory and hemostatic markers with stroke and thromboembolic events in atrial fibrillation: a systematic review and meta-analysis. *Can J Cardiol* 2015; 31(3):278-286. doi: 10.1016/j.cjca.2014.12.002.

Aporte de cada autor al trabajo

Elizabeth M López: Concepción y diseño del trabajo, análisis e interpretación de los datos, redacción y revisión crítica del manuscrito.

Luis E Bonino: Recolección de datos y realización de los experimentos, análisis e interpretación de los datos, análisis estadístico de los datos, redacción y revisión crítica del manuscrito.

Romina A Medeiros: Redacción y revisión crítica del manuscrito.

Ana M Lena: Redacción y revisión crítica del manuscrito.

Andrea Vaucher: Recolección de datos, redacción y revisión crítica del manuscrito.

Patricia Esperón: Realización de los experimentos, análisis e interpretación de los datos, análisis estadístico de los datos, revisión crítica del manuscrito.

Notas

Elizabeth M López: Bioquímica Clínica. Unidad de Bioquímica Clínica y Hematología.

Luis E Bonino: Bioquímico Clínico. Unidad de Bioquímica Clínica y Hematología.

Romina A Medeiros: Bioquímica Clínica. Unidad de Bioquímica Clínica y Hematología.

Ana M Lena: Química. Unidad de Bioquímica Clínica y Hematología.

Andrea Vaucher: Médico Internista.

Patricia Esperón: Química. Laboratorio de Biología Molecular.

Conflicto de interés: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Financiación del trabajo: Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC), UdelaR. CSIC I+D 2016 N° 345