



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

**UMAE HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA**

**CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI**

**ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO ARG353GLN DEL FACTOR VII CON INFARTO AGUDO  
DEL MIOCARDIO CON ELEVACIÓN DEL SEGMENTO ST EN SUJETOS MEXICANOS JÓVENES.**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO EN LA  
ESPECIALIDAD DE CARDIOLOGÍA**

**PRESENTA:**

**DR. JOAQUÍN AHUMADA PÉREZ**

**TUTORES:**

**M. EN C. EDUARDO ALMEIDA GUTIÉRREZ**

**D. EN C. IRMA ISORDIA SALAS**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

---

DR. MOISES CUTIEL CALDERÓN ABBO

Director General

UMAE Cardiología

Centro Médico Nacional Siglo XXI

---

DR. JESUS SALVADOR VALENCIA SÁNCHEZ

Director de Educación Médica e  
Investigación

UMAE Cardiología

Centro Médico Nacional Siglo XXI

---

DR. JOSE ANTONIO MAGAÑA SERRANO

Jefe de División de Educación Médica  
UMAE Cardiología

Centro Médico Nacional Siglo XXI

---

M. EN C. EDUARDO ALMEIDA GUTIÉRREZ

Médico Adscrito a la Unidad de Cuidados  
Intensivos Cardiovasculares      UMAE  
Cardiología      Centro  
Médico Nacional Siglo XXI

---

D. EN C. IRMA ISORDIA SALAS

Unidad de Aterotrombosis, UMAE Dr.  
Carlos Mac Gregor Sánchez Navarro

## AGRADECIMIENTOS

A mi madre Gloria Pérez Bravo por su apoyo incondicional en todos los proyectos de mi vida, por estar siempre conmigo a pesar de las adversidades y por haberme enseñado a pisar firme aún en caminos difíciles.

A mi padre Joaquín Ahumada por ser mi ejemplo a seguir como persona, porque a pesar de ya no estar físicamente conmigo su recuerdo permanece intacto en mi corazón guiándome en cada paso que doy como lo ha hecho constante desde mi niñez.

A mis hermanos Brisa, Asael y Leo por ser mis compañeros leales en muchos episodios de mi vida y por motivarme para continuar mirando de frente.

A mi tía Ángeles Pérez Bravo porqué ha sido mi segunda madre y gracias a ella he aprendido que la soledad es pasajera.

A mi tío Eugenio Pérez Bravo porqué le prometí terminar con cada meta propuesta siguiendo sus consejos que han sido fundamentales en mi vida.

A mi tutor Eduardo Almeida Gutiérrez por su apoyo inconmesurable para terminar mi tesis, porqué me ha guiado en este proyecto desde el principio hasta el fin y por su valiosa amistad que conservaré siempre.

A mi tutora Irma Isordia Salas porqué sin conocerme aceptó asesorarme confiando en mi, agradezco sus palabras y enseñanzas.

A mis amigos y compañeros de vida: Ivan Rodríguez Chávez, Patricia Murguía Avalos, Linda Navarro Sánchez, Karen Iñiguez Castillo, David Ibarra Quevedo, Marco Vinicio López Corona, Fernando Arthur Aguirre y Carlos Avalos Arredondo, por compartir conmigo tres años de vida excepcionales y porque a pesar de las diferencias hemos permanecido juntos. Agradezco su compañía y ayuda, sus consejos y su sentido de humor para hacerme reír a pesar de la tristeza.

Al Dr. Victor Preve Castro con quién aprendí “mis primeros pasos en cardiología clínica”.

Al Dr. Noe Zamorano Velázquez por su valiosa amistad y por entender que la convivencia es fundamental en la vida de un médico.

A la Dra. Yoloxochilt García por brindarme su ayuda en los momentos más aciagos de mi vida y por enseñarme que antes de médicos somos humanos.

Al Dr. Luis Moreno Ruiz porqué siempre será un ejemplo a seguir.

Al Dr. Marco Antonio Ramos García, Dr. Erick Dávila Zaragoza, Dr. Gustavo García García, Dra. Patricia Corazón Camacho, Dra. Aurora Palao Mendoza, Dr. Jesús Campos Larios y Dr. Juan Soto por creer en mí y ser excelentes médicos.

A mi amigo y hermano Eduardo Gracidas Sandoval.

## RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** La cardiopatía isquémica es la principal causa de morbimortalidad en el mundo entero, los factores de riesgo convencionales no explican por completo la presencia de infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST en sujetos jóvenes. Dentro de las causas predisponentes para cardiopatía isquémica se tienen a los factores genéticos y dentro de ellos los polimorfismos. El polimorfismo ARG353GLN (R353Q) del factor VII se ha asociado con un incremento en las concentraciones plasmáticas del factor VII de la coagulación el cual ha sido identificado en ciertas poblaciones como factor de riesgo coronario independiente. El polimorfismo R353Q consiste en una sola substitución del amino ácido arginina (R) por glutamina (Q) en el codón 353 en el exón 8 del cromosoma 7, el cual regula hasta en un 20% la concentración del FVII. En el presente estudio, se evaluó la posible asociación o no entre el polimorfismo R353Q en el gen que codifica para el FVII de la coagulación y el desarrollo de IAM con elevación del segmento ST (IAMCEST), en sujetos mestizos mexicanos  $\leq 45$  años de edad.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** En un estudio de casos y controles se estudiaron 167 pacientes  $< 45$  años con diagnóstico de IAMCEST (122 hombres y 45 mujeres) admitidos en forma consecutiva al servicio de la UCIC del Hospital de Cardiología del CMN Siglo XXI y 167 sujetos sin IAMCEST, que constituyeron el grupo control (122 hombres y 45 mujeres).

**RESULTADOS:** Se identificó la presencia de los tres diferentes genotipos RR, RQ, QQ, no encontrándose una diferencia estadísticamente significativa en la distribución genotípica entre ambos grupos;  $p=0.69$  con la siguiente distribución: en el de pacientes con IAMCEST fue: RR=(n) 149 (81.9%), RQ=(n) 33 (18.1%) y QQ=0 (0%), en el grupo control RR= (n) 145 (79.7%), RQ= (n) 34 (18.7) y QQ= (n) 3 (1.6%). Debido al bajo porcentaje de homocigotos para el alelo Q en el grupo control y a la ausencia de estos en el grupo de pacientes con IAMCEST, el análisis se realizó de la siguiente manera: (RR) vs. (RQ+QQ), OR 1.15, 95% IC (0.66-2.01),  $p=0.59$ . En relación a la frecuencia alélica no se identificó una diferencia estadísticamente significativa: OR 1.24 (IC 95%=0.74-2.07),  $p=0.38$ , y hubo una distribución alélica de la siguiente manera: en el grupo de pacientes R=(n) 165.5 (90.95%) y Q=(n) 183(54.8%), mientras que en el grupo de controles R=(n) 162 (89.05%) y Q=(n) 40 (10.95%).

**CONCLUSIÓN:** En el presente estudio no se observó diferencia estadísticamente significativa entre la presencia del polimorfismo ARG353GLN (R353Q) entre sujetos mexicanos jóvenes con infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST en comparación con el grupo control por lo que no se puede establecer una asociación causal y/o de protección de dicho polimorfismo genético con el síndrome coronario agudo con elevación del segmento ST para dicha población en estudio por lo que probablemente se requieran más estudios o con un mayor número de sujetos.

## ÍNDICE

<b>Título</b>	<b>Página</b>
Resumen	4
Antecedentes	6 - 12
Justificación	13
Pregunta de Investigación	14
Hipótesis	15
Objetivos	16
Material y Métodos	
Diseño del Estudio	17
Criterios de Inclusión	20
Criterios de Exclusión	21
Tamaño de Muestra	17
Variables Independientes	18
Variables Dependientes	18
Variables Potencialmente confusoras	18 - 20
Análisis Estadístico	23
Consideraciones Éticas	24
Resultados	25 - 28
Conclusiones	39
Discusión	30 - 37
Tablas y Gráficas	25 - 28
Bibliografía	44 - 54
Ánexo 1: recursos	40
Anexo 2: hoja de consentimiento informado	41
Anexo 3: hoja de captura de datos	42 - 43

## **ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO ARG353GLN DEL FACTOR VII CON INFARTO AGUDO DEL MIOCARDIO CON ELEVACIÓN DEL SEGMENTO ST EN SUJETOS MEXICANOS JÓVENES**

### **ANTECEDENTES**

La cardiopatía isquémica es la principal causa de morbimortalidad en el mundo entero<sup>1,2,3</sup>, consiste en una serie de procesos fisiopatológicos que tienen como punto final la pérdida de la relación aporte-demanda de oxígeno y demás nutrientes indispensables para el metabolismo de la célula cardíaca.

México tiene una de las tasas más altas en diabetes mellitus y junto con la cardiopatía isquémica constituyen las dos primeras causas de mortalidad. La mayor incidencia de mortalidad por enfermedad coronaria se observa en grupos con alta productividad y en adultos mayores, con un claro predominio del sexo masculino. Después de los 75 años se observa una incidencia similar para ambos sexos.<sup>3</sup>

La principal manifestación de la cardiopatía isquémica es el Síndrome Coronario Agudo (SCA) que a su vez se subdivide en Infarto Agudo del Miocardio con Elevación del Segmento ST (IAMCEST) y el Síndrome Coronario Agudo Sin Elevación del Segmento ST (SCA SEST) donde se incluyen el Infarto agudo del Miocardio Sin elevación del Segmento ST y la Angina Inestable. Los síndromes coronarios agudos tienen como principal causa a la aterosclerosis coronaria que es una enfermedad crónica y puede cursar con períodos estables e inestables. Durante los períodos inestables junto con la activación de los procesos inflamatorios a nivel de la pared vascular se puede desarrollar un infarto agudo del miocardio.<sup>1</sup>

La mayoría de los casos de IAMCEST tienen su origen en la oclusión de una arteria coronaria. Las oclusiones coronarias y la reducción del flujo coronario suelen producirse por la ruptura de una placa aterosclerótica, con la consiguiente formación de un trombo oclusivo. El riesgo de ruptura de la placa depende de su composición y su vulnerabilidad (tipo de placa) y del grado de estenosis (tamaño de la placa). Los procesos inflamatorios tienen un papel importante en la inestabilidad de la placa y por lo tanto, en la patogenia de los síndromes coronarios agudos por lo que hay aumento de cantidad circulante de los marcadores inflamatorios, como la proteína C reactiva (PCR), la interleucina (IL) 6, fibrinógeno y leucocitos.<sup>2,5</sup>

El infarto agudo se caracteriza por dolor torácico (típico o atípico) sugestivo de isquemia o equivalente isquémico, (síncope, taquicardia ventricular, edema agudo pulmonar, etcétera) en reposo o ejercicio, mayor de 20 minutos, asociado a disnea y actividad simpático-adrenérgica. El IAM se define en relación a características clínicas, electrocardiográficas (ECG), bioquímicas y patológicas). La Organización Mundial de la Salud sobre la base de estudios de prevalencia, definió el IAM mediante la presencia de por lo menos dos de los siguientes criterios: 1) dolor torácico sugestivo de isquemia típico o atípico, 2) elevación de marcadores de macro necrosis (enzimas cardíacas), 3) cambios ECG característicos con presencia de ondas Q patológicas.<sup>1,3,4,6</sup>

De acuerdo a la nueva definición universal del infarto éste se clasifica en cinco grupos:<sup>1</sup>

TIPO 1	Infarto miocárdico espontáneo relacionado a isquemia debida a evento coronario primario como erosión de placa y/o ruptura, fisura o disección.
TIPO 2	Infarto secundario a isquemia debido a incremento en la demanda de oxígeno o disminución en el aporte del mismo como por ejemplo espasmo coronario, embolismo, anemia, arritmias, hipotensión o hipertensión.
TIPO 3	Muerte cardíaca súbita inesperada incluido el paro cardíaco, después de síntomas sugestivos de isquemia miocárdica acompañada por una nueva elevación presumible del segmento ST, bloqueo de rama izquierda de novo, o evidencia de trombo reciente en una angiografía o en la autopsia sin ser posible la toma de muestras de sangre para la medición de biomarcadores cardíacos o si se tomaron no hubo elevación de los mismos por el tiempo transcurrido del evento.
TIPO 4	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 4A Infarto miocárdico relacionado con intervencionismo coronario percutáneo (PCI).</li> <li>• 4B Infarto miocárdico relacionado con trombosis del stent documentada por angiografía o autopsia.</li> </ul>
TIPO 5	Infarto miocárdico relacionado a cirugía de revascularización.

### FACTORES DE RIESGO PARA CARDIOPATÍA ISQUÉMICA

Se entiende como factor de riesgo cardiovascular al elemento o característica biológica, conducta o enfermedad que cuando está presente las posibilidades de contraer una enfermedad o muerte cardiovascular aumentan, como la angina de pecho, infarto de miocardio o muerte súbita. Este término se uso por primera vez por los investigadores del estudio Framingham en 1961.<sup>23</sup>

Los factores de riesgo cardiovascular pueden clasificarse de diferentes maneras como factores mayores como el tabaquismo, hipertensión arterial, diabetes mellitus y dislipidemia (elevación de las lipoproteínas de baja densidad LDL y/o disminución del colesterol de alta densidad HDL). Los factores de riesgo menores son la edad, género, inactividad física, historia familiar de cardiopatía isquémica, raza, factores psicosociales incluidos el estrés. Otra clasificación es la que divide los factores de riesgo cardiovascular en modificables como el tabaquismo, hipercolesterolemia, diabetes mellitus o hipertensión arterial y no modificables como la herencia, edad o sexo.

En el estudio RENASICA I (registro realizado en pacientes con síndrome isquémico coronario agudo de México) la mayor incidencia para cardiopatía isquémica fue en el sexo masculino con una



prevalencia de diabetes, hipertensión arterial, tabaquismo e hipercolesterolemia mayor del 50%. A diferencia de lo observado en el RENASICA I y en otros registros previos en el RENASICA II el IAMCEST fue la causa más frecuente de hospitalización (56%), seguida de angina inestable (AI) e infarto sin elevación del ST.<sup>3,21,22</sup>

Es indiscutible que la historia familiar de cardiopatía isquémica aumenta el riesgo independiente de los demás factores de riesgo, como fue demostrado en el estudio de Framingham, sin embargo la magnitud absoluta del aumento del riesgo es incierta. Se sabe con base a estudios epidemiológicos que aproximadamente la mitad de todos los eventos trombóticos ocurre en pacientes sin los factores de riesgo que han sido estudiado por lo que el desarrollo del conocimiento del genoma humano es de vital importancia para el estudio genético de la cardiopatía isquémica.<sup>23</sup>

Los genes codifican para proteínas que pueden estar involucradas en la aterosclerosis o trombosis. Los factores de riesgo genéticos independientes para aterosclerosis pueden incluir genes responsables del tono vascular, la respuesta a la inflamación y el daño a la pared vascular. Los factores de riesgo para infarto agudo del miocardio pueden incluir a genes que controlan la hemostasia que podrían predecir eventos trombóticos.<sup>15</sup>

Las alteraciones genéticas que afectan la producción, actividad, biodisponibilidad o el metabolismo de factores específicos pueden alterar el balance fisiológico a favor de la trombosis y por ende contribuir al desarrollo de cardiopatía isquémica. Dentro de estas alteraciones genéticas se encuentran los polimorfismos del sistema hemostático.<sup>8,10,13,23</sup> Un polimorfismo es una variación de la secuencia de DNA (alelo), en un gen determinado y dicha variación ocurre en el 5% de la población en general. Los polimorfismos ocasionan alteraciones en las funciones de las proteínas traduccionales. Se ha demostrado que estos polimorfismos se relaciona con la progresión de la placa de ateroma. El factor VII se considera un determinante mayor en la trombosis arterial.<sup>23</sup>

El reconocimiento de que la cardiopatía isquémica a veces afecta a sujetos sin factores de riesgo establecidos y de que la aterosclerosis es un proceso inflamatorio ha estimulado la búsqueda de nuevos factores de riesgo cardiovascular como los marcadores séricos de la inflamación como potenciales indicadores de aterotrombosis, dichos factores de riesgo son conocidos como emergentes y dentro de ellos tenemos a la proteína C reactiva, el amiloide sérico A, interleucina 6, homocisteína, lipoproteína A, fibrinógeno, proteína A del plasma asociada al embarazo y las infecciones crónicas.<sup>5</sup>

## **POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN LA ENFERMEDAD ARTERIAL CORONARIA**

Los avances en la genética humana e investigación genómica con el consiguiente descubrimiento de la secuencia de nucleótidos del genoma humano han permitido obtener beneficios potenciales en la medicina clínica incluyendo el conocimiento de la patogénesis de la enfermedad a nivel molecular y el desarrollo de marcadores genéticos que pueden ayudar a valorar el riesgo de enfermedad.<sup>13</sup>

La enfermedad arterial coronaria es la enfermedad cardíaca más común que se relaciona a múltiples factores genéticos, factores ambientales y la interacción de ambos factores. La identificación de tales factores, tanto genéticos como ambientales, pueden proporcionar información muy valiosa para la prevención y control de la enfermedad arterial coronaria. Los avances en genética han podido identificar los genes causantes de enfermedad y la susceptibilidad de genes para cardiopatía isquémica, infarto agudo del miocardio y evento vascular cerebral.<sup>8,9,16</sup>

Los polimorfismos de nucleótidos simples son sustituciones aisladas de una base que resulta en la mutación de un nucleótido por otro en una secuencia de DNA. De los aproximadamente 10 millones de polimorfismos en el genoma humano solamente una fracción se asocian a una significancia funcional importante y la inducción de características o rasgos complejos. De esta manera dichos polimorfismos pueden contribuir a identificar áreas blanco específicas dentro del genoma que explican el desarrollo de enfermedades.<sup>14</sup>

Los estudios de asociación genética son una serie de análisis de relaciones estadísticamente significativas entre alelos de polimorfismos de nucleótidos simples y las diferencias fenotípicas observadas en un grupo de individuos. El valor de una asociación genética depende del número y calidad de los polimorfismos usados para examinar una población con la variabilidad fenotípica.

En enfermedades complejas como el infarto agudo del miocardio los polimorfismos de nucleótidos simples pueden ser menos importantes comparados con los haplotipos que son un bloque de polimorfismos que se combinan para ejercer una susceptibilidad biológica para la condición en estudio. Hay varios polimorfismos que tienen vínculos claros con la presencia de infarto agudo del miocardio o enfermedad arterial coronaria tales como el polimorfismo ARG353GLN del factor VII de la coagulación. Los polimorfismos y los haplotipos implicados pueden variar en su prevalencia entre diferentes poblaciones. Un polimorfismo asociado con una enfermedad en particular en una población no necesariamente tendrá la misma frecuencia o efectos en otra población.<sup>13,14,15</sup>

La determinación de polimorfismos genéticos y un bloque de haplotipos han contribuido al conocimiento e identificación de variaciones genéticas asociadas a diversas enfermedades incluida la cardiopatía isquémica y el infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST contribuyendo a dilucidar la patogénesis de dichas enfermedades para así establecer un mejor tratamiento e incluso prevenirlas.<sup>8,9,10</sup>

Cuando un locus genético es mapeado, los genes candidatos que son localizados en una región y potencialmente relevantes en la fisiología de la enfermedad son seleccionados la identificación de mutaciones patogénicas causantes de enfermedad (genes causantes de enfermedad o rasgo monogénico) o para la identificación de un polimorfismo de nucleótido simple y haplotipos de tales polimorfismos (genes de susceptibilidad o rasgo complejo).<sup>8</sup>

Los genes causantes de enfermedad se definen como aquellos que son directamente de la patogénesis de la enfermedad cuando tienen mutaciones. Los criterios que identifican los genes causantes de enfermedad son: 1) Identificación de una mutación que co-segrega con todos los

miembros afectados, pero no con los miembros de la familia normales, 2) Identificación de otras mutaciones en el mismo gene en otros pacientes o familias, 3) para Ausencia de las mutaciones en 100-200 sujetos normales y 4) Identificación de efectos funcionales de las mutaciones en el gene. Los genes susceptibles de enfermedad son aquellos que aumentan o disminuyen el riesgo o desarrollo de la enfermedad. Los criterios que identifican los genes susceptibles de enfermedad son: 1) Identificación de polimorfismos de nucleótidos simples o el haplotipo que muestra una frecuencia altamente significativa (susceptibilidad aumentada, riesgo aumentado) o una frecuencia baja (susceptibilidad disminuida, efecto protector contra la enfermedad) en una población de pacientes en relación a una población de sujetos control normales; 2) Replicación de una asociación temprana en una población independiente o por identificación de uno de los alelos del polimorfismo de nucleótido simple o un haplotipo específico de polimorfismo que es preferencialmente transmitido a individuos afectados en una familia y 3) Demostración de efectos funcionales del polimorfismo de nucleótido simple o de un haplotipo en el gene. Los genes de susceptibilidad tienen un valor predictivo para una población de pacientes pero no tienen valor predictivo o diagnóstico para pacientes individuales.<sup>8,10,13</sup>

Los estudios genómicos han demostrado la existencia de muchos genes de susceptibilidad para aterosclerosis y enfermedad arterial coronaria usando estudios de asociación en genes candidatos. Dentro de dichos genes se encuentran los genes para apolipoproteína E (apoE), activador tisular del plasminógeno, fibrinógeno, factor de von Willebrand, glicoproteína plaquetaria IIIa, lipoproteinlipasa, lipasa hepática, hidrolasa del ester del colesterol, factor V, factor VII, enzima convertidora de angiotensina, angiotensinógeno, trombospondinas 1, 2 y 4, conexina 37, inhibidor del activador del plasminógeno 1, metaloproteinasa de matriz 3, metil-enetetrahidrofolato reductasa, sintasa de óxido nítrico inducible y muchos otros genes.<sup>8</sup>

Diversos estudios de asociación genética basados en el enfoque del gene candidato han revelado muchos polimorfismos que están en relación a cardiopatía isquémica incluyendo el infarto agudo del miocardio. Los polimorfismos genéticos que actualmente consideramos más relevantes son :

- A. Genes de factores de coagulación: factor V (FV), II (protrombina), y XIII (FXIII), Inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1).
- B. Genes que intervienen en el metabolismo de la homocisteína: 5,10 metil-enetetrahidrofolato reductasa (MTHFR).
- C. Genes que intervienen en el metabolismo lipídico: apolipoproteínas B (Apo B) y E (Apo E).

Los polimorfismos pueden ser identificados por varios métodos y pueden variar desde mutaciones puntuales simples a través de deleciones y variaciones en los números de secuencias cortas repetidas. La mayoría de los métodos recaen en la reacción de cadena de polimerasa para amplificar pequeñas regiones de DNA específicas que contienen los sitios polimórficos. Los métodos más comunes para identificación de polimorfismos son los siguientes:<sup>15</sup>

1. Análisis del polimorfismo a lo largo del fragmento de restricción: detección basada en la creación o destrucción de un sitio de corte de una enzima de restricción.

2. Análisis microsatelital: detección basada en las diferencias en el número de secuencias repetidas pequeñas que están estrechamente relacionadas con el gen de interés.
3. Análisis del polimorfismo por conformación simple de una hebra: detección basada en el análisis de una hebra simple de DNA a través de un gel desnaturalizante.
4. Electroforesis del gradiente de un gel desnaturalizante: detección basada en las propiedades de disolución alteradas de moléculas en la doble hebra de DNA con cambios en las bases.

### **POLIMORFISMO GENÉTICO ARG353GLN (R353Q) DEL FACTOR VII DE LA COAGULACIÓN Y ENFERMEDAD ARTERIAL CORONARIA**

El factor VII es una factor de la coagulación dependiente de la vitamina K que es convertido a factor VII activado por la trombina y el factor Xa, se secreta en el hígado. Un gen simple en el cromosoma 13 codifica para el factor VII (figura 1). Se han identificado 5 polimorfismos incluyendo una inserción de un decanucleótido en la posición 323 y una sustitución de arginina en la posición 353 por glutamina (R353Q/ARG353GLN), la más recientemente asociada con 20 a 25% de las bajas concentraciones de esta proteína en el plasma. Green y cols. reportaron una fuerte asociación entre un polimorfismo común en el exón 8 del gen del factor VII (polimorfismo R353Q) y las concentraciones del factor VII plasmático.<sup>28</sup> Los otros 3 polimorfismos incluyen 2 polimorfismos promotores en la posición 401 (guanina por timina) y en la posición 402 (guanina por adenina) y un polimorfismo común en la región 4 hipervariable del intron 7.<sup>19</sup> En el polimorfismo del factor VII (cambio de arginina por glutamina en la posición 353, R353Q) el alelo común R353 se asocia con niveles altamente significativos del factor VII en diversos estudios.<sup>11</sup>

La relación de estos polimorfismos con trombosis es incierta. Un estudio largo de casos y controles con 560 casos y 644 controles reveló que los pacientes con el alelo 353 de arginina tuvieron un menor riesgo de infarto miocárdico comparado con pacientes con el alelo de glutamina (OR, 0.8; IC 95%, 0.6 a 1.06). En este estudio el alelo de arginina se asoció con valores incrementados del factor VII plasmático.<sup>24</sup> En otro estudio de casos y controles se incluyeron 453 pacientes con infarto miocárdico y 476 controles, se encontró que aunque el polimorfismo ARG353GLN se relacionó a las concentraciones del factor VII no hubo diferencia en la frecuencia del genotipo entre pacientes y controles.<sup>25</sup> En contraste un estudio italiano pequeño con 165 pacientes con infarto miocárdico y 225 controles demostró un alto riesgo de infarto miocárdico con el alelo 353 de la glutamina y se asoció a un incremento de los valores del factor VII.<sup>26</sup>

En otro estudio se demostró que los alelos Gln y A2 se asocian a una reducción del riesgo de infarto del miocardio a la mitad. Los individuos con el genotipo homocigoto Gln/Gln ó A2/A2 tuvieron niveles del factor VIIa (activado) inferiores en un 70% al de los homocigotos Arg/Arg ó A1/A1. La mayor protección la confiere el genotipo A2A2 que reduce el riesgo en un 70% en relación al genotipo A1A1. Esto explicaría porque algunos pacientes con aterosclerosis coronaria grave no sufren de infarto miocárdico.<sup>16,27</sup>



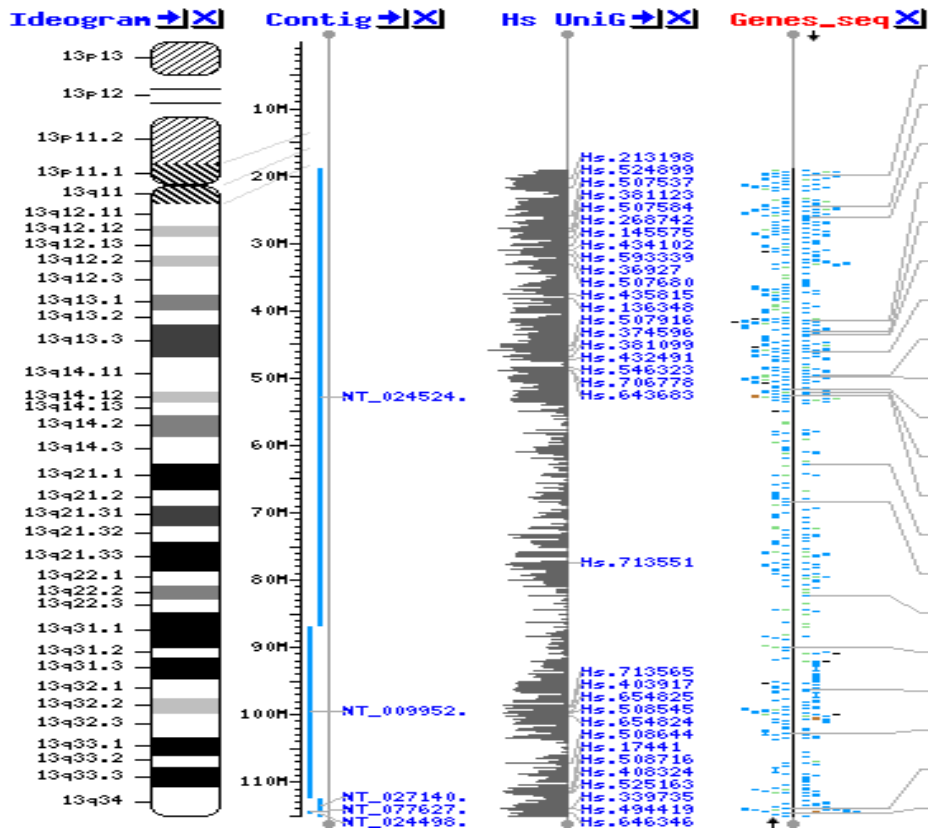


FIGURA 1. Cromosoma 13 en humanos donde es codificado el factor VII de la coagulación.

En un estudio realizado en Centroamérica donde se estudiaron varios polimorfismos incluidos el ARG353GLN se demostró que el genotipo 34LeuLeu del factor XIII presentó un efecto protector significativo mientras que los otros polimorfismos estudiados no mostraron diferencia estadísticamente significativa entre los casos y controles. Los polimorfismos del factor VII y del factor XIII demostraron interacción con el fibrinógeno, según el análisis estadístico aplicado. Se evidenció, la interacción entre factores de riesgo común y ciertos polimorfismos (factor VII; factor XIII) en la patogénesis del infarto miocárdico.<sup>17</sup>

Se sabe también que los polimorfismos genéticos además de poder considerarse como factores de riesgo cardiovascular pueden contribuir al resultado del tratamiento instaurado en pacientes con cardiopatía isquémica. Las estatinas que ejercen una variedad de efectos benéficos al disminuir los niveles séricos de lípidos contribuyendo a la reducción de riesgo de enfermedad cardiovascular también tienen efectos pleiotrópicos donde se incluyen los efectos antitrombóticos. Las estatinas tienen influencia demostrada en la expresión de los factores de coagulación II, V, VII, XII y XIII. El efecto de las estatinas sobre la coagulación para reducir la formación del coágulo o reducir la estabilidad de los coágulos de fibrina puede ser afectada por polimorfismos en genes específicos.<sup>18</sup>

## JUSTIFICACIÓN

Como sabemos, la cardiopatía isquémica es la principal causa de muerte y morbilidad en nuestro país y en el resto del mundo. Tiene muchas implicaciones económicas y sociales ya que tradicionalmente afecta a la población económicamente activa y de la cual dependen más personas. Se relaciona con factores de riesgo dentro de los cuales los factores genéticos han cobrado vital importancia desde el descubrimiento del genoma humano. Diversos estudios han demostrado la importancia de los factores genéticos y la interacción entre múltiples genes y los factores de riesgo ambientales.<sup>13,15,16,17</sup>

El conocer todos los factores de riesgo para una enfermedad permite determinar las estrategias oportunas para su prevención e inclusive para su tratamiento. La eficacia de las drogas e inclusive sus efectos adversos varía en cada individuo por lo que la meta del tratamiento basado en información genómica o genética debe ser capaz de predecir resultados y efectos adversos en cada individuo y por lo tanto aumentar la efectividad y seguridad de dicho fármaco. Por otra parte el conocimiento de la génesis de la enfermedad a nivel molecular y las variantes genéticas que confieren susceptibilidad para la patología permite establecer medidas de prevención y elaboración de nuevos medicamentos por lo que establecer cuáles son las variedades genéticas para cada enfermedad puede ser de vital importancia.

Como en muchas enfermedades, la cardiopatía isquémica también tiene un trasfondo genético donde los polimorfismos juegan un papel importante, dentro de estos polimorfismos tenemos el polimorfismo ARG353GLN del factor VII que a pesar de haberse estudiado los resultados en diferentes estudios varían de acuerdo al diseño del estudio, tipo de población estudiada y los métodos utilizados para su identificación. Sin embargo los estudios encontrados en la literatura no son muchos y en la población mexicana no hay alguno que determine la relación del polimorfismo ARG353GLN del factor VII con el infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST que es el síndrome coronario agudo con mayor número de secuelas, mortalidad e incidencia por lo que consideramos trascendental establecer dicha relación en nuestra población a fin de conocer los alelos condicionantes de mayor o menor riesgo e inclusive los que tienen efecto protector para establecer estrategias de prevención y tratamiento.

## **PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuál es la frecuencia del polimorfismo ARG353GLN del factor VII en sujetos mexicanos jóvenes con infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST y en sujetos mexicanos sanos jóvenes?

¿Cuál es la asociación y magnitud de la misma entre el polimorfismo ARG353GLN del factor VII y la presencia de infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST en sujetos mexicanos jóvenes?

¿Es un factor de protección independiente la presencia del polimorfismo ARG353GLN y el infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST en sujetos mexicanos jóvenes?

## **HIPÓTESIS**

Habrá una frecuencia significativamente mayor del polimorfismo ARG353GLN del factor VII en sujetos mexicanos jóvenes sanos en comparación con sujetos mexicanos jóvenes con infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST.

Habr  al menos 0.8 menos de posibilidades de padecer infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST en sujetos mexicanos jóvenes dada la presencia del polimorfismo ARG353GLN en relación a sujetos que no expresan dicho polimorfismo.

La presencia del polimorfismo ARG353GLN será un factor protector independiente para el desarrollo de infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST en sujetos mexicanos jóvenes.



## **OBJETIVOS**

Determinar la frecuencia del polimorfismo ARG353GLN en sujetos mexicanos jóvenes con infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST y en sujetos mexicanos jóvenes sanos.

Establecer el riesgo (o protección) que otorga el polimorfismo ARG353GLN para infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST en sujetos mexicanos jóvenes.

Determinar si la presencia del polimorfismo ARG353GLN es un factor protector independiente para infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST en sujetos mexicanos jóvenes.

## **DISEÑO DEL ESTUDIO**

### **Casos y controles.**

- Observacional
- Retrospectivo
- Comparativo
- Ambilectivo

### **Definición de caso:**

- Paciente mayor de 18 años y menor de 45 años
- Diagnosticado con infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST (diagnosticado por médico tratante de acuerdo a los criterios establecidos por criterios internacionales)

### **Definición de control:**

- Sujeto mayor de 18 años y menor de 45 años
- Sin patologías conocidas, que hayan sido revisados bioquímicamente previa exploración física para la exclusión de cardiopatía isquémica cardíaca

## **DISEÑO MUESTRAL**

### **Marco muestral:**

Para los casos se hará un muestreo no probabilístico de casos consecutivos de los enfermos que cumplan los criterios de inclusión que sean ingresados al Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Para los controles se hará un muestreo no probabilístico consecutivo de los sujetos que sean seleccionados por el personal médico como donadores de sangre, que cumplan con los criterios de inclusión.

### **Tamaño de la muestra:**

Se calculó el tamaño de la muestra en base a lo demostrado en otras poblaciones (Girelli D, et al.<sup>27</sup>) y de acuerdo a la diferencia de proporciones de las frecuencias alélicas de los heterocigotos RQ y QQ encontrada entre enfermos y sanos; se utilizó la fórmula para la diferencia de proporciones; se consideró un valor alfa de 0.05 y un poder estimado a priori de 0.80 (beta 0.20). El tamaño muestra requerido fue 172 sujetos por grupo.

## **VARIABLES DE ESTUDIO**

De acuerdo al diseño del estudio (casos y controles) el manejo de las variables para éste fin , será de la siguiente manera:

### **VARIABLE INDEPENDIENTE**

#### **1. Polimorfismo ARG353GLN del factor VII de la coagulación**

- a) Definición conceptual: Variación en la secuencia de DNA para el gen que codifica el factor VII con sustitución de arginina por glutamina en la posición 353
- b) Definición operacional: Es la presencia de la variación de la secuencia del DNA en el gen que codifica para el factor VII, con la sustitución de arginina por glutamina en la posición 353 en las variedades homocigotas y heterocigotas
- c) Tipo de variable: Cualitativas
- d) Escala de medición: nominal, dicotómica
- e) Unidades de medición: si/no

### **VARIABLE DEPENDIENTE**

#### **1. Infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST**

- a) Definición conceptual: Es un síndrome coronario agudo debido al desequilibrio entre el aporte-demanda de oxígeno miocárdico que condiciona isquemia tisular de forma aguda y que es debido, generalmente, a aterosclerosis coronaria que condiciona obstrucción total del vaso sanguíneo
- b) Definición operacional: Es la presencia del desequilibrio entre el aporte y la demanda del oxígeno miocárdico que condiciona isquemia tisular de forma aguda y que se manifiesta por dolor anginoso mayor de 20 minutos, elevación de enzimas cardiacas un valor mayor a la percentila 99th (troponina, creatinfosfoquinasa, fracción MB) y cambios electrocardiográficos con elevación del segmento ST en 2 derivaciones contiguas (más de 2 mm en V1 a V3 y más de 1 mm en las demás derivaciones)
- c) Tipo de variable: Cualitativa
- d) Escala de medición: nominal, dicotómica
- e) Unidades de medición: si/no

### **VARIABLES POTENCIALMENTE CONFUSORAS**

#### **1. Hipertensión arterial sistémica:**

- a) Definición conceptual: Elevación de las cifras de tensión arterial sistólica por arriba de 140 mmHG y diastólica por arriba de 90 mmHG en mediciones repetidas y en diversas horas del día
- b) Definición opracional: Es la presencia del diagnóstico previo o durante la revisión clínica de las cifras de tensión arterial sistólica igual o mayor de 140 mmHg o diastólicas igual o mayor de 90 mmHg en mediciones repetidas y en diversas horas del día, o bien la presencia de cifras tensionales normales pero bajo tratamiento antihipertensivo

- c) Tipo de variable: Cualitativa
- d) Escala de medición: Nominal, dicotómica
- e) Unidades de medición: Si/no

**2. Diabetes mellitus tipo 2:**

- a) Definición conceptual: Elevación de las cifras de glucosa en sangre igual o mayor a 126 mg/dl en el ayuno de al menos 6 horas y en más de 2 mediciones, o bien 200 mg/dl o más en cualquier hora del día en presencia de síntomas
- b) Definición operacional: Es la presencia del diagnóstico previo o durante la revisión de cifras de glucosa en sangre igual o mayor a 126 mg/dl en el ayuno de al menos 6 horas y en más de 2 mediciones, o bien 200 mg/dl o más en cualquier hora del día en presencia de síntomas; o bien cifras de glucosa normales pero ante la presencia de tratamiento hipoglucemiante oral o insulina
- c) Tipo de variable: Cualitativa
- d) Escala de medición: Nominal, dicotómica
- e) Unidades de medición: Si/no

**3. Dislipidemia:**

- a) Definición Conceptual: elevación de los niveles séricos de colesterol total arriba de 200 mg/dl, de triglicéridos arriba de 160mg/dl, LDL mayor de 100mg/dl o HDL menor de 45 mg/dl en hombres y de 40 mg/dL en mujeres
- b) Definición Operacional: es la presencia del diagnóstico previo de dislipidemia o durante la revisión de cifras de colesterol total arriba de 200mg/dL o de triglicéridos arriba de 160mg/dl, LDL mayor de 100mg/dl o HDL menor de 40 mg/dl en hombres y de 50 mg/dL en mujeres; o cifras normales pero bajo efecto de medicación hipolipemiente
- c) Tipo de Variable: cualitativa
- d) Escala de Medición: nominal, dicotómica
- e) Unidades de Medición: si/no

**4. Tabaquismo:**

- a) Definición conceptual: Consumo en cualquier época de la vida de un cigarro/día al menos durante un año; o la exposición pasiva al humo de tabaco diariamente al menos durante un año
- b) Definición operacional: Es la presencia o antecedente de haber consumido antes o en la actualidad cigarros en cantidad de uno al día por lo menos durante un año, o el antecedente de exposición pasiva al humo producido por su combustión al menos durante un año
- c) Tipo de variable: Cualitativa
- d) Escala de medición: nominal, dicotómica
- e) Unidades de medición: Si/no

**5. Sobrepeso:**

- a) Definición conceptual: Es la presencia de peso corporal mayor al esperado de acuerdo al resto de las características antropométricas

- b) Definición operacional: Es la presencia del peso corporal secundario al acumulo del tejido adiposo que confiere un índice de masa corporal mayor a 25 pero menor a 30 m<sup>2</sup>/SC
- c) Tipo de variable: Cualitativa
- d) Escala de medición: Nominal, dicotómica
- e) Unidades de medición: Si/no

**6. Obesidad:**

- a) Definición conceptual: Es la presencia de peso corporal secundario al acumulo de tejido adiposo mayor al esperado con un índice de masa corporal mayor a 30 m<sup>2</sup>/SC
- b) Definición operacional: Es la presencia de peso corporal secundario al acumulo de tejido adiposo que le confiere un índice de masa corporal mayor de 30 m<sup>2</sup>/SC
- c) Tipo de variable: Cualitativa
- d) Escala de medición: Nominal, dicotómica
- e) Unidades de medición: Si/no

**CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

**A) CASOS**

- Sexo hombre o mujer
- Edad mayor a 18 años y menor de 45 años
- Pacientes con diagnóstico de síndrome coronario agudo tipo infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST mediante criterios clínicos, electrocardiográficos y enzimáticos de acuerdo a la definición universal de infarto del miocardio y los criterios internacionales.
- Que tengan al menos tres generaciones previas raza mexicana. Debido a que no se trata de un estudio genético profundo no es necesario tener un *pedrigree* genético y por ello la selección de los sujetos participantes (casos y controles) puede hacerse en base a los antecedentes generacionales de etnia
- Que acepten participar en el estudio previa explicación del mismo firmando la hoja de consentimiento informado

**B) CONTROLES**

- Sexo hombre o mujer
- Edad mayor de 18 años y menor de 45 años
- Que no tengan alguna patología conocida o que no estén tomando medicación crónica para alguna enfermedad
- Que tengan al menos tres generaciones previas raza mexicana. Debido a que no se trata de un estudio genético profundo no es necesario tener un *pedrigree* genético y por ello la selección de los sujetos participantes (casos y controles) puede hacerse en base a los antecedentes generacionales de etnia
- Que acepten participar en el estudio previa explicación del mismo firmando la hoja de consentimiento informado

### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN DE CASOS**

- Que durante el estudio se encuentren criterios para descartar la presencia del infarto.
- La presencia de alguna valvulopatía cardíaca
- La presencia de alguna cardiopatía congénita
- Que durante la revisión de expedientes clínicos no se cumplan los diagnósticos ya establecidos para infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST

### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN DE CONTROLES**

- El diagnóstico de infarto del miocardio.

### **PAREAMIENTO**

Para tener mejor control sobre variables que pueden ser confusoras, se realizó pareamiento por género y edad.

## PROCEDIMIENTO CLÍNICO

Se incluyeron todos los sujetos que ingresaron a la UMAE Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI. Por rutina, a todos los pacientes que se ingresan se les realiza historia clínica completa donde se registran los antecedentes y exploración física; también se toma electrocardiograma y las determinaciones de laboratorio necesarias.

Por el diseño del estudio, el investigador no influyó sobre las decisiones clínicas o terapéuticas.

## PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO

Extracción de la muestra sanguínea: Se extrajo de la vena antecubital 10 ml de sangre total en tubos conteniendo EDTA. Este se centrifugó a 2500 g por 10 minutos. Posteriormente el plasma se retiró cuidadosamente tratando de no perturbar la capa de células mononucleares (buffy coat) la cual fue transferida con una pipeta de plástico estéril a un tubo de plástico eppendorf estéril de 1.5 ml libre enzimas (RNasas y DNasas) y será utilizado para la obtención de ADN.

Extracción de ADN: Se utilizó el equipo comercial (Qiagen QIAamp DNAMini Kit) de acuerdo a las instrucciones establecidas por la compañía. Una vez extraído el ADN se procedió a su conservación en un refrigerador a  $-70^{\circ}\text{C}$ , hasta que se utilizó para la amplificación de los segmentos correspondientes.

Genotipificación del factor VII de la coagulación. Posterior a la extracción de ADN, se llevó la amplificación mediante la técnica de PCR. Se utilizaron los siguientes oligonucleótidos: sentido (5'-GGGAGACTCCCCAAATATCAC-3') y el contrasentido (5'-ACG CAG CCT TGGCTTTCTCTC-3') bajo el siguiente protocolo térmico: desnaturalización inicial a  $94^{\circ}\text{C}$  por 5 min., seguida de 35 ciclos de los siguientes segmentos, desnaturalización a  $94^{\circ}\text{C}$  por 1 min., alineación a  $56^{\circ}\text{C}$  por 1 min., y un ciclo final a  $72^{\circ}\text{C}$  por 5 min. La reacción con un volumen final de 50  $\mu\text{l}$  contendrá 200ng de ADN, 50 pmol de cada oligonucleótido, 200  $\mu\text{mol/L}$  de cada dNTP, 1.5 mmol/L de  $\text{MgCl}_2$  1 U de Taq DNA polimerasa y 1X de su correspondiente buffer de PCR.

Identificación de fragmentos polimórficos: El producto de PCR amplificado se sometió a la acción de la enzima *MspI* a  $37^{\circ}\text{C}$ . Los genotipos serán identificados mediante electroforesis de los productos de la acción enzimática mediante la tinción de un gel con bromuro de etidio. Los sujetos positivos homocigotos para el alelo R el patrón de bandas será visualizado de la siguiente manera (206pb, 67pb, 39pb), mientras que los positivos homocigotos para el alelo Q (273pb, 39pb).

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se resumen con medidas de tendencia central y dispersión para las variables cuantitativas; mientras que las variables cualitativas en número absoluto y proporción

La distribución de los datos cuantitativos continuos se probó con prueba de Shapiro Wilk, y se realizó comparación de medias con pruebas de t de Student para grupos independientes; para los datos que tuvieron se distribución no semejante a lo normal se realizaron pruebas no paramétricas (U de Mann Whitney). Se realizó *Equilibrio de Hardy-Weinberg* Se analizaron y compararon las proporciones de la frecuencia de polimorfismo en el grupo de enfermos y sanos con  $X^2$  y en caso de encontrarse frecuencias esperadas igual o menor que 5 se hizo prueba de hipótesis con Prueba Exacta de Fisher. El nivel alfa es de 0.05 y beta de 0.20, poder estimado a priori de 0.80. Se calculó de Odds Ratio con Intervalo de Confianza al 95%.

Para demostrar la independencia del polimorfismo ARG353GLUT como protector para síndrome coronario agudo tipo infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST, se realizó Regresión Logística Binaria, y se ajustó para las variables que teóricamente sean potencialmente confusoras y para aquellas que se encuentren asociadas estadísticamente con la variable predictora y de desenlace (el criterio estadístico de ingreso de las variables fue un valor de p igual o menor que 0.20 y su salida del modelo con p igual o mayor que 0.05).



## **CONSIDERACIONES ÉTICAS**

Como se trata de un estudio observacional no existe una maniobra impuesta por el investigador.

Los procedimientos que se harán son solamente una obtención de sangre venosa periférica mediante punción de una vena antecubital superficial, y el riesgo del estudio se considera como mínimo de acuerdo a la ley general de salud.

Se habló con los pacientes para firmar una carta de consentimiento informado (ver más adelante), explicando que los resultados genéticos serán otorgados solamente a ellos mismos siempre y cuando así lo soliciten y que esta información sea bajo consejo de expertos en genética y apoyo psicológico en caso de ser necesario y bajo un estricto régimen de confidencialidad.

También se les explicó que de aceptarlo, el material genético aislado será almacenado en una genoteca.

## RESULTADOS

Se estudiaron 167 pacientes <45 años con diagnóstico de IAMCEST (122 hombres y 45 mujeres) admitidos en forma consecutiva al servicio de la UCIC del Hospital de Cardiología del CMN Siglo XXI y 167 sujetos sin IAMCEST, que constituyeron el grupo control (122 hombres y 45 mujeres).

No se encontraron diferencias estadísticas significativas respecto a la edad y género debido a que los grupos fueron pareados para dichas variables.

El índice de masa corporal registrado en el grupo control fue de  $28.7 \pm 1.7$ , mientras que en el grupo de IAMCEST fue de  $29.5 \pm 1.2$ , sin diferencias estadísticas ( $p=0.50$ ).

En relación a otros factores de riesgo, el porcentaje de tabaquismo en el grupo control fue del 26.6% mientras que en el grupo de IAMCEST fue de 71.26% ( $p<0.0001$ ). El porcentaje de sujetos hipertensos en el grupo control fue de 14.4% mientras que en el grupo de IAMCEST fue del 35.9% obteniendo una diferencia significativa de ( $p<0.0001$ ). En la variable de Diabetes Mellitus se registró un porcentaje del 13.8% en el grupo control y del 28.8% en el grupo de IAMCEST con un valor de ( $p<0.0001$ ). Para la dislipidemia, en el grupo control se obtuvo un porcentaje del 20.4% mientras que en el grupo de IAMCEST fue del 55.0% con una diferencia ( $p<0.0001$ ). El porcentaje de antecedentes heredo familiares para enfermedad arterial coronaria (EAC) fue del 15.5% en el grupo control y de 40.7% en el grupo de IAMCEST con una diferencia de  $p<0.0001$  (Tabla 1). La localización más frecuente del infarto correspondió a la cara posteroinferior (Tabla 2).

**Tabla 1. Características clínicas y demográficas de pacientes con IAMCEST y controles.**

	<i>Pacientes con IAMCEST n = 182</i>	<i>Controles n= 182</i>	<i>Valor de p</i>
Edad, años	$39.2 \pm 5.0$	$38.3 \pm 6.0$	NS <sup>a</sup>
Sexo, masculino (%)	145 (79.7)	145 (79.7)	NS <sup>b</sup>
femenino (%)	37 (20.3)	37 (20.3)	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	$29.5 \pm 1.2$	$28.7 \pm 1.7$	NS <sup>a</sup>
Tabaquismo n (%)	142 (78.0)	52 (26.6)	<0.0001 <sup>b</sup>
Dislipidemia n (%)	121 (67.0)	42 (23.1)	<0.0001 <sup>b</sup>
Hipertensión n (%)	84 (46.2)	34 (18.7)	<0.0001 <sup>b</sup>
HF de EAC n (%)	72 (39.6)	28 (15.4)	<0.0001 <sup>b</sup>
Diabetes Mellitus n (%)	63 (34.6)	35 (19.2)	<0.0001 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Prueba t de student para variables continuas  
proporciones

<sup>b</sup> $\chi^2$  o Prueba exacta de Fisher para

HF de EAC= Historia familiar de Enfermedad Arterial Coronaria

IMC = Índice de masa corporal

**Tabla 2. Localización del infarto (%)**

<b>*Localización</b>	<b>Pacientes con IAMCEST n = 182</b>	<b>Controles n= 182</b>
<b>Pared anterior</b>	33.6 %	--
<b>Pared posteroinferior</b>	64.8 %	--
<b>Pared posterolateral</b>	1.6 %	--

En relación a los factores de riesgo modificables, se realizó un análisis multivariado para poder demostrar su independencia como riesgo. Se identificaron los factores de riesgo convencionales: tabaquismo con un riesgo relativo ajustado de 7.4 con un IC del 6.32-17.9,  $p < 0.001$ ; antecedentes heredo familiares con un riesgo relativo ajustado de 4.2 con un IC del 2.04-8.91,  $p < 0.001$ ; dislipidemia con un riesgo relativo ajustado de 3.4 con un IC del 1.60-5.68,  $p < 0.001$  y la presencia de hipertensión arterial con un riesgo relativo ajustado de 1.26 con un IC del 1.0-2.71,  $p < 0.001$ . Todos estos resultados se resumen en la Tabla 3.

**Tabla 3. Análisis multivariado. Razón de Momios (OR) ajustada para factores de riesgo en sujetos  $\leq$  45 años en el IAMCEST.**

<b>Variable</b>	<b>OR (IC del 95%)</b>	<b>P</b>
<b>Tabaquismo</b>	7.4 (6.32-17.9)	$< 0.001$
<b>AHF de EAC</b>	4.2 (2.04-8.91)	$< 0.001$
<b>Dislipidemia</b>	3.4 (1.60-5.68)	$< 0.001$
<b>Diabetes Mellitus</b>	0.97 (0.34-3.02)	$< 0.8$
<b>Hipertensión</b>	1.26 (1.0-2.71)	$< 0.001$

IC: Intervalo de confianza      AHF: Antecedentes Heredo Familiares      EAC: Enfermedad Arterial Coronaria

Respecto a la distribución genotípica y frecuencia alélica para la determinación del polimorfismo R353Q del factor VII de la coagulación obtuvimos los siguientes datos: Se identificó la presencia de los tres diferentes genotipos RR, RQ, QQ, no encontrándose una diferencia estadísticamente significativa en la distribución genotípica entre ambos grupos;

p=0.69 con la siguiente distribución: en el de pacientes con IAMCEST fue: RR=(n) 149 (81.9%),RQ=(n) 33 (18.1%) y QQ=0 (0%), en el grupo control RR= (n) 145 (79.7%), RQ= (n) 34 (18.7) y QQ= (n) 3 (1.6%), (Tabla 4). Debido al bajo porcentaje de homocigotos para el alelo Q en el grupo control y a la ausencia de estos en el grupo de pacientes con IAMCEST, el análisis se realizo de la siguiente manera: (RR) vs. (RQ+QQ), OR 1.15, 95% IC (0.66-2.01), p=0.59.

En relación a la frecuencia alélica no se identificó una diferencia estadísticamente significativa: OR 1.24 (IC 95%=0.74-2.07), p=0.38, y una distribución alélica de la siguiente manera: en el grupo de pacientes R=(n) 165.5 (90.95%) y Q=(n) 183(54.8%), mientras que en el grupo de controles R=(n) 162 (89.05%) y Q=(n) (10.95%). Los resultados se resumen en la Tabla 4.

**Tabla 4. Distribución genotípica y frecuencia alélica del polimorfismo R353Q en el gen que codifica para el FVII de la coagulación entre los grupos de pacientes con IAMCEST y controles.**

	<i>Pacientes con IAMCEST n= 182 (%)</i>	<i>Controles n= 182(%)</i>	<i>Valor de p</i>
<b>Genotipo</b>			
<b>RR n (%)</b>	149 (81.9)	145 (79.7)	0.59*
<b>RQ n (%)</b>	33 (18.1)	34 (18.7)	
<b>QQ n (%)</b>	0 ( 0 )	3 ( 1.6)	
<b>Frecuencia alélica</b>			
<b>R</b>	331 (90.95)	324 (89.05)	0.38*
<b>Q</b>	33 ( 9.05)	40 (10.95)	

\* Prueba de  $\chi^2$

**Tabla 5. Análisis de Regresión Logística Múltiple usando IAMCEST como la variable dependiente**

<i>Factor de Riesgo</i>	<i>Adj OR 95%CI</i>	<i>Valor de P</i>
Diabetes Mellitus	1.69 (0.9-3.2)	NS
Hipertensión	2.0 (1.1-3.5)	0.03
Tabaquismo	5.0 (3.0-8.2)	<0.001
Dislipidemia	3.4 (2.0-6.3)	<0.001
Historia Familiar de EAC	3.7 (2.0-4.6)	0.02

## DISCUSIÓN

La enfermedad arterial coronaria (EAC) representa la primera causa de morbi-mortalidad en todo el mundo. El INEGI reportó a la EAC como la principal causa de defunción en México en el 2007. La complicación aterotrombótica más importante es el infarto agudo del miocardio (IAM). El IAM se presenta en individuos menores de 45 años hasta en un 10% del total de los casos en nuestro país. Aproximadamente, el 90% de los casos de IAM en individuos jóvenes se presenta con elevación del segmento ST (IAMCEST), siendo esta la de peor pronóstico. Se ha establecido que la aterosclerosis participa en forma primordial en el desarrollo de la EAC, considerando de gran importancia el sistema fibrinolítico, plaquetas y endotelio. Sin embargo, en la última década, se ha visto incrementado el estudio de la vía de la coagulación como un mecanismo patogénico para el desarrollo EAC e IAM, por lo que actualmente se considera relevante el estudio de la misma para explicar la fisiopatología de la enfermedad aterotrombótica coronaria. La etiología de la EAC es multifactorial y destacan factores de riesgo tradicionales como la hipertensión, tabaquismo, dislipidemia, sedentarismo y diabetes mellitus, así como factores genéticos (diversos polimorfismos) entre los que destacan el R353Q en el gen del FVII de la coagulación.

El FVII de la coagulación (FVIIc) es una glicoproteína dependiente de vitamina K que tiene un papel importante en la iniciación de la coagulación mediante la unión al factor tisular (vía extrínseca de la coagulación). La concentración plasmática del FVII presenta diferencias entre los individuos, así como entre diversas poblaciones en todo el mundo. Diversos estudios han demostrado una asociación entre el incremento de la actividad del FVII de la coagulación como un factor independiente para enfermedad arterial coronaria en Caucásicos y Japoneses. La concentración del FVII esta regulada por factores genéticos y ambientales como la edad, obesidad, y hábitos alimenticios (lípidos circulantes, especialmente triglicéridos, colesterol y fosfolípidos), consumo de anticonceptivos orales y menopausia. Sin embargo, se ha demostrado que los factores genéticos tiene una influencia importante sobre la concentración plasmática del FVII, considerándose hasta de un 20-70% de su variación en algunos estudios. El más frecuente estudiado es el R353Q, cuya asociación con la concentración del FVII ha sido establecida por Green en 1991 en población Caucásica con aproximadamente un 20% de variación del FVII, siendo mayor en los sujetos homocigotos para el alelo R. Además, Saha y cols, demostraron una influencia del polimorfismo de un 5% -11% entre la población Asiática, cuya asociación era dependiente del género. Además, Shanker y cols, demostraron una variabilidad en un 18% en la actividad plasmática del FVII debida a la influencia genética del polimorfismo R353Q. En el estudio Framingham se demostró una variabilidad hasta en un 7.7% de la concentración antigénica asociada con la variabilidad genética del polimorfismo, siendo las menores concentraciones en los sujetos portadores del alelo Q. El polimorfismo R353Q consiste en una sola substitución del amino ácido arginina (R) por glutamina (Q) en el codón 353 en el exón 8 del cromosoma 7, el cual regula hasta en un 20% la concentración del FVII. En el estudio Northwick Park Heart Study (NPHS) se reportó una asociación entre la concentración del FVII y el IAM con desenlace fatal.<sup>42</sup> En el estudio PROCAM se demostró una asociación entre la actividad de FVII como factor de riesgo para enfermedad arterial coronaria

en presencia de incremento de fibrinógeno lípidos en sujetos con antecedente de tabaquismo<sup>43</sup>.

En algunas otras poblaciones se ha identificado como un factor protector para el desarrollo de angina<sup>44</sup> o infarto agudo del miocardio en sujetos menores de 45 años<sup>45</sup>. Además, se ha demostrado una disminución del riesgo para procedimientos de cateterismo cardiaco en sujetos portadores del Alelo 353Gln<sup>46</sup>.

En algunas otras poblaciones se ha identificado como un factor protector para el desarrollo de angina<sup>44</sup> o infarto agudo del miocardio en sujetos menores de 45 años<sup>45</sup>. Además, se ha demostrado una disminución del riesgo para procedimientos de cateterismo cardiaco en sujetos portadores del Alelo 353Gln.<sup>46</sup>

En el presente estudio, se evaluó la posible asociación o no entre el polimorfismo R353Q en el gen que codifica para el FVII de la coagulación y el desarrollo de IAM con elevación del segmento ST (IAMCEST), en sujetos mestizos mexicanos  $\leq 45$  años de edad así como su posible participación como factor protector para el desarrollo de dicha enfermedad. Los resultados del presente estudio no demostraron una asociación como factor de riesgo para IAMCEST en los sujetos de estudio y son acordes a los previamente demostrados por Peyvandi y cols.,<sup>47</sup> en mujeres jóvenes y por Lane y cols.<sup>48</sup>. Aunque se requieren de más estudios confirmatorios, podemos postular por primera vez una probable participación como factor protector del alelo Gln353. Resultados similares han sido encontrados por Ogawa y cols.,<sup>28</sup> en población Japonesa y por Pegorano y cols, en población India<sup>50</sup>. Sin embargo, se requieren de más estudios para poder definir el mecanismo protector además de los que han sido postulados como una correlación con bajas concentraciones plasmáticas del FVII de la coagulación como son los sistemas reguladores a través del alelo 353Gln y de la concentración sérica de lípidos.<sup>51,52</sup>

El IAMCEST es un fenómeno complejo cuya etiología es multifactorial y multigénica, motivo por el cual se han determinado otros genes asociados al sistema fibrinolítico, receptores plaquetarios y en la enzima sintasa del oxido nítrico, los cuales han demostrado ser factor de riesgo para el desarrollo de IAMCEST en la misma población de estudio.

Se examinaron otros polimorfismos en la misma población de estudio (sujetos con IAMCEST  $< 45$  años) presentes en los genes de proteínas con actividad enzimática del sistema fibrinolítico como la inserción/delección 4G/5G presente en el gen del Inhibidor del Activador del Plasminógeno tipo-1 (PAI-1) obteniéndose los siguientes resultados. En el grupo de casos encontramos que el genotipo más frecuente fue el heterocigoto 4G/5G (50.4%), seguido del homocigoto para 5G (42.5%), siendo el menor para el homocigoto 4G (7.1%). La frecuencia alélica en el grupo de IAMCEST fue para el alelo 4G (32.3%) y (67.7%) para el alelo 5G.

En el grupo control el porcentaje del genotipo 4G/4G fue (13.4%), 4G/5G (30.0%) y para el 5G/5G (56.6%). La frecuencia del alelo 5G fue de 71.6% en el grupo control. Se identificó una diferencia con significación estadística en la distribución genotípica ( $p < 0.002$ ). Pero no se identificó una diferencia con significancia estadística en la frecuencia alélica entre los

pacientes con IAMCEST y el grupo control ( $p=0.46$ ). En el análisis univariado se identificó riesgo para el desarrollo de IAMCEST en los sujetos portadores del alelo 4G (4G/4G y 4G/5G) comparado con los homocigotos para el alelo 5G (5G/5G) con un OR 1.77 (IC 95% 1.04-3.67). No se encontró significación estadística entre las medias del porcentaje de Fracción de Expulsión del Ventrículo Izquierdo  $p=0.58$ . Los niveles de Creatininfosfocinasa (CPK), encontramos una media del valor  $956\pm 767$  U/L en los sujetos portadores del alelo 5G, mientras que para los portadores del alelo 4G obtuvimos una media de  $1.756\pm 1.661$  U/L con una significación estadística de  $p=0.01$ . Los niveles de Troponina I (TnI) obtuvimos una media de  $8.5\pm 8.4$  ng/dl en los sujetos portadores del alelo 5G, mientras que los sujetos portadores del alelo 4G obtuvieron una media de  $15.6\pm 13.08$  ng/dl obteniendo una significación estadística  $p=0.05$ . En relación al estado inflamatorio. Los niveles de fibrinógeno fueron mayores en los sujetos portadores del alelo 4G  $585\pm 187$  mg/dl, mientras que los individuos con el alelo 5G el  $471\pm 133$  mg/dl con una significación estadística de  $p=0.02$ . La cifra de leucocitos para los sujetos del grupo 4G  $10.754\pm 2.232$  y para los del grupo 5G fue de  $10.436\pm 3.113$  con un valor de  $p=0.64$ . En relación a la reperusión, se efectuaron un total de 38 procedimientos de angioplastia coronaria transluminal percutánea (ACTP) de los cuales 24 se llevaron a cabo en sujetos portadores del alelo 5G, siendo consideradas 21 de ellas exitosas (87.5%), mientras que se efectuaron 14 en sujetos portadores del alelo 4G siendo realizadas 8 en forma exitosa (57.1%), lo que representa una diferencia con significancia estadística de  $p=0.05$ . En el análisis multivariado de regresión logística cuatro variables mantuvieron su independencia como factores de riesgo para IAMCEST: el ser portador del alelo 4G (4G/4G+4G/5G), tabaquismo, el antecedente de enfermedad cardiovascular e hipertensión arterial. Los sujetos homocigotos para 4G mostraron concentraciones mayores que los sujetos homocigotos para el alelo 5G. Las máximas concentraciones de PAI-1 se identificaron en los portadores homocigotos para el alelo 4G ( $74.8\pm 1.7$  ng/100mL), mientras que para los heterocigotos 4G/5G ( $51.2\pm 10.9$  ng/mL) y las más bajas para los heterocigotos del alelo 5G ( $39.2\pm 7.74$  ng/mL), mostrando una diferenciación significancia estadística  $p<0.001$ .

Se realizó un análisis de asociación de los factores de riesgo con los niveles de PAI-1 identificando el tercer tercil de mayor riesgo en comparación con los dos terciles inferiores siendo diferente con significancia estadística con la presencia de hipertensión  $p=0.05$ , tabaquismo  $p=0.02$ , y alelo 4G  $p=0.01$ . En un análisis de regresión logística obtuvieron significación estadística para alelo 4G OR 5.52 (IC95% 2.08-17.05,  $p=0.001$ ) y para tabaquismo OR 5.05 (IC95% 1.82-12.24,  $p=0.002$ ).

También se han demostrado variabilidad en las concentraciones plasmáticas de PAI-1 en los diferentes grupos étnicos en todo el mundo<sup>5, 7, 14</sup> siendo en algunas razas determinadas por la presencia del polimorfismo 4G/5G<sup>14</sup>, mientras que en otras son influenciadas por factores ambientales como el tabaquismo<sup>34</sup>, componentes del síndrome metabólico como la dislipidemia, obesidad y las concentraciones de insulina<sup>35</sup>, o la interacción de ambos<sup>36, 37</sup>, representando un incremento del riesgo para el desarrollo de enfermedad cardiovascular. Festa y cols,<sup>25</sup> demostraron previamente que las diferencias étnicas en la distribución del polimorfismo 4G/5G son determinantes en las concentraciones plasmáticas circulantes de PAI-1. En el presente estudio, los sujetos homocigotos para el alelo 4G (4G/4G), obtuvieron las concentraciones plasmáticas más altas de PAI-1, mientras que las intermedias en los sujetos heterocigotos (4G/5G) y las menores para los homocigotos del alelo 5G (5G/5G). Por lo que la

interacción con otros factores de riesgo tradicionales es necesaria para el desarrollo de IAMCEST. De ahí la importancia de identificar esta combinación como una estrategia de prevención primaria, desde etapas tempranas de la vida. El tabaquismo en pacientes jóvenes portadores del alelo 4G puede tener mayor impacto en la frecuencia del IAM, por lo que las compañías de abstenerse de fumar en este grupo de pacientes deberían intensificarse y podrían planearse el realizar estudios de escrutinio en estos pacientes.

En nuestro estudio las concentraciones plasmáticas de PAI-1 6 semanas después fueron más elevadas en los sujetos con alelo 4G, tal como ha sido reportado por Serrano Ríos M y cols<sup>38</sup>, en pacientes con Síndrome Metabólico. Dicho incremento se ha asociado con IAM y aunque desciende en forma progresiva, persisten elevados hasta 6 meses como lo demostraron Panahloo A y cols.,<sup>39</sup> por lo que esto coincide con lo propuesto por Sobel et al<sup>40</sup> en que la sobreexpresión de PAI-1 produce una disminución del contenido de fibras lisas musculares en la placa aterosclerosa, originando una disminución en el colágeno y proteínas de la matriz extracelular, con decremento en la resistencia en el ateroma, produciendo así el desarrollo de una placa vulnerable, ruptura de la misma y con ello la presencia de IAM. Shindo y cols.,<sup>41</sup> demostraron un incremento significativo en la expresión de PAI-1 en el ateroma de pacientes con IM comparado con los pacientes con AP estable, por lo que los niveles incrementados de PAI-1 pueden ser parte de los factores desencadenantes para el desarrollo de IAM. Por otra parte el incremento en las concentraciones de PAI-1, favorece un estado de hipofibrinólisis mediante la inhibición del activador del plasminógeno tisular (t-pa) y con ello una disminución en la transformación de plasminógeno a plasmina, esta última enzima clave en la regulación del sistema fibrinolítico<sup>4</sup>. De esta manera podríamos hipotetizar que la presencia del alelo 4G se asocia a los niveles altos de PAI-1 y con ello dos mecanismos favorecen la presencia de Infarto: placa vulnerable y disminución de la fibrinólisis, cobrando interés en pacientes jóvenes como una explicación de los mecanismos fisiopatológicos del IAMCEST.

También se ha explorado el polimorfismo G894T en el gen de la enzima sintasa endotelial del oxido nítrico. El oxido nítrico posee propiedades anti-aterotrombóticas, por lo que una disminución en su concentración favorece el desarrollo del proceso aterogénico (60). Debido a lo anterior, el gen que codifica para la enzima del oxido nítrico endotelial (eNOS) se ha identificado como un gene involucrado en el desarrollo de la enfermedad arterial coronaria. Diversos estudios han demostrado una correlación entre la presencia del polimorfismo G894T y el desarrollo de enfermedad cardiovascular en diferentes poblaciones (35,40-42,49,50,54,61). Sin embargo, solo pocos estudios se han llevado a cabo en individuos jóvenes, en los cuales el componente genético se ha demostrado es más relevante (35,40). En nuestro conocimiento, este es el primer estudio que analiza la posible asociación entre la presencia de IAMCEST en individuos jóvenes en México. En el estudio se identificó que el genotipo TT es un factor de riesgo independiente para el desarrollo prematuro de IAMCEST en los pacientes < de 45 años Mestizos-Mexicanos y más importante el genotipo TT permaneció como riesgo independiente para IAMCEST después de ajustarlo con otros factores de riesgo como diabetes, hipertensión, tabaquismo, dislipidemia e historia familiar para enfermedad cardiovascular. Nuestros resultados son acordes con previos reportes de estudios realizados en sujetos jóvenes, en los cuales se ha demostrado una asociación entre los portadores del genotipo TT y el desarrollo de enfermedad arterial coronaria (40,62). En un estudio de casos y controles pareados por edad y sexo, Antoniades y cols (63), identificaron un incremento en el riesgo para



IAM en sujetos portadores del alelo T, y dicho alelo se asoció con la presencia de disfunción endotelial e incremento en la concentración del factor de von Willebrand (FvW) e Interleucina 6 (IL-6). En dicho estudio, los niveles de otra molécula inflamatoria como es el fibrinógeno fueron mas altos en los portadores de por lo menos un Alelo T, mientras que no hubo diferencias estadísticas entre la concentración de la cuenta leucocitaria entre ambos grupos.

También, el genotipo TT se ha asociado con el desarrollo de enfermedad arterial coronaria en poblaciones Turca (40) y Brasileña (62). Además, en un reciente meta análisis en el cual se incluyeron 26 estudios involucrando 23,028 sujetos, el alelo G894T se asoció con un incremento en el riesgo para enfermedad isquémica coronaria (41). Sin embargo, nuestros hallazgos, están en desacuerdo con previos estudios que no han podido demostrar una asociación entre el polimorfismo G894T en individuos jóvenes con EAC. En la población Canadiense, Nassar y cols, (60) no identificó asociación entre el polimorfismo G897T y el desarrollo de IAM o angor pectoris. Debemos resaltar, que Nassar y cols, analizaron dos grupos con EAC: uno de ellos con 50 individuos <50 años de edad y el segundo grupo con 149 sujetos >65 años de edad, y se incluyeron pacientes con IAM y angina pectoris. Además, no se analizó una posible interacción entre el afecto adicional entre la presencia del polimorfismo y los factores de riesgo tradicionales.

En otro estudio, Brscic y cols- (64), demostraron que el polimorfismo Glu 298 Asp no representa un factor que incremente el riesgo para IAM, sin embargo este estudio incluye pacientes con y sin elevación del ST. En resumen, ellos muestran que el fumar, la dislipidemia, y la historia familiar de cardiopatía isquémica fueron más frecuentes asociados a pacientes jóvenes, mientras que la diabetes y la hipertensión fueron más frecuentes en los individuos adultos mayores. Por lo tanto, la interacción entre Glu298Asp con los factores de riesgo tradicionales y su influencia en el desarrollo de cardiopatía isquémica debería ser diferente. En el presente estudio los factores de riesgo modificables como tabaquismo, dislipidemia, historia familiar de cardiopatía isquémica e hipertensión arterial, representan factores de riesgo independientes para el infarto agudo al miocardio con elevación del segmento ST.

Algunos estudios han demostrado una fuerte asociación entre el polimorfismo del gene Glu298Asp y el perfil específico del alto riesgo coronario, produciendo un incremento en el riesgo de sufrir cardiopatía isquémica o infarto agudo al miocardio. El alelo Asp de eNOS ha sido asociado con cardiopatía isquémica en el subgrupo de alto riesgo que incluye individuos diabéticos (42). También Tamemoto y cols. (65) demostraron que el polimorfismo Glu298Asp se asocia con el desarrollo de enfermedad isquémica coronaria y diabetes mellitus en la población japonesa. Gulec y cols. (39) demostraron la asociación del alelo t Asp298 con el daño colateral desarrollado en pacientes con diabetes mellitus y estenosis coronaria. En contraste, otros estudios de portadores del polimorfismo en población joven ha fallado en mostrar un incremento en el riesgo de CAD en individuos in con diabetes. En el presente estudio, no se encontró una asociación independiente entre diabetes mellitus e infarto al miocardio con elevación del segmento ST. La diferencia probablemente es debida a una baja frecuencia de factores de riesgo modificables comparada con los vistos en pacientes de mayor edad. Además, algunos investigadores han descrito un alelo que influye en la cardiopatía isquémica en fumadores. Wang y cols (66) reportaron que el riesgo de enfermedad

isquémica coronaria en los fumadores se asocia al polimorfismo eNOS4a/b en el intrón 4 del gen de eNOS. En este estudio, nosotros encontramos un incremento del riesgo de infarto agudo al miocardio con elevación del segmento ST en los portadores de al menos uno de los alelos de Asp y el hábito de fumar. Los resultados del presente estudio son similares a otros estudios previamente reportados en donde existe una asociación entre el polimorfismo Glu298Asp del gen de la eNOS y el desarrollo de la enfermedad cardiovascular.

En contraste, otros estudios no han demostrado que el genotipo 298Asp sea un factor predisponente de aterosclerosis carotídea ó síndromes coronarios agudos(48, 60, 62). Estudios similares en Finlandia (67), Australia (68), Grecia (53) y Korea (69), no encontraron diferencias en la distribución genotípica ó en la frecuencia alélica, entre los pacientes y los controles para el polimorfismo Glu298Asp. Esta discrepancia entre los resultados de los estudios pueden deberse a las diferencias de grupo étnico, edad, tamaño de muestra, los factores genéticos subyacentes y los factores ambientales.

Finalmente, nosotros observamos una distribución genotípica similar a la observada por Rosas-Vargas y cols. (58) en 126 voluntarios Mexicanos-Mestizos: Los homocigotos para el alelo Glu fueron 74.6%, heterocigotos (23.8%), y (1.6%) para el homocigoto para el alelo Asp. Aunque la prevalencia del polimorfismo Glu298Asp difiere entre diferentes grupos étnicos, los subgrupos étnicos se pueden exhibir diferentes tipos de portadores ó susceptibilidad ambiental para enfermedades específicas lo cual puede explicarse por las diferencias étnicas y regionales en el riesgo para infarto agudo al miocardio con elevación del segmento ST. Basados en el hecho de que la enfermedad cardiovascular es una enfermedad multifactorial debe esperarse que un polimorfismo común pueda tener un cierto impacto en enfermedad cardiovascular junto con otros factores de riesgo coronario como también se ha demostrado no solo en el presente estudio sino también en otros polimorfismos y en el análisis de otras variaciones genéticas como lo muestra el presente estudio (70).

Diversas investigaciones realizadas en las últimas décadas, han demostrado la participación de la homocisteína como factor de riesgo independiente para el desarrollo de enfermedad aterotrombótica (Welch,1998; Wald, 2002). Estudios realizados en pacientes con alteraciones en los genes que codifican para las enzimas que participan en el metabolismo de la homocisteína, han permitido identificar el desarrollo de enfermedad arterial coronaria, la cual frecuentemente resulta en un primer evento de infarto miocárdico en la segunda o tercera década de la vida (Austin, 2004). Se ha demostrado un incremento en el riesgo para el desarrollo de esta enfermedad arterial coronaria hasta de 24 veces mayor en pacientes con hiperhomocisteinemia (sin presentar alteraciones genéticas en el metabolismo de dicha molécula), en comparación con el grupo control (Gauthier, 2003). En otro estudio prospectivo se demostró un incremento tres veces mayor para el desarrollo de infarto miocárdico en varones, los cuales presentaron un incremento del 12% en los niveles plasmáticos de homocisteína (Nygard, 1997). Se han descrito algunos mecanismos mediante los cuales la homocisteína favorece el desarrollo de enfermedades arteriales, los cuales sugieren que la homocisteína es protrombótica (Clarke, 1991). Dichos mecanismos son: producción de daño endotelial (Malinow, 1994), decremento de la vasodilatación dependiente del endotelio

(Harker, 1976), disminución en los efectos del óxido nítrico (Tawakol, 1997), incremento en la adhesión plaquetaria (Upchurch, 1997) y aumento del estrés oxidativo (Guo, 2003).

Además, un estudio reciente informó un incremento en la síntesis de colágeno por las células musculares lisas cultivadas con homocisteína (Blom, 1995), lo cual apoya el papel proaterogénico de la homocisteína. En condiciones normales el endotelio exhibe funciones antiaterogénicas a través de la secreción de sustancias vasoactivas como el óxido nítrico y la prostaciclina, sin embargo, existen evidencias de que las funciones del endotelio se ven disminuidas debido a la acción de ciertas sustancias como el cigarro, colesterol, glucosa y homocisteína en un proceso denominado disfunción endotelial.

La disfunción endotelial es la etapa inicial en el desarrollo de la placa aterosclerosa y del proceso aterotrombótico que culmina en el evento isquémico agudo, denominado Infarto Agudo del Miocardio (IAM).

En un estudio realizado en México, por nuestro grupo de trabajo, se evaluó la posible asociación entre el polimorfismo C677T en el gen que codifica para la enzima 5,10 MTHFR y el desarrollo de IAM con elevación del segmento ST (IAMCEST), en sujetos mestizos mexicanos  $\leq 45$  años de edad. Este es el primer estudio realizado en México donde se demuestra que el genotipo C677T localizado en el gen de la enzima 5,10 MTHFR no representa un factor de riesgo para el IAMCEST en pacientes jóvenes. Nuestros resultados no identificaron una diferencia significativa entre la distribución genotípica,  $p = 0.69$  y la frecuencia alélica, OR 1.14 (IC95% = 0.83-1.57),  $p = 0.40$ . Lo anterior demuestra que en nuestra población de estudio en sujetos con IAMCEST  $\leq 45$  años, la presencia del genotipo TT o ser portador de por lo menos un alelo T (heterocigotos CT), no representó un factor de riesgo para el desarrollo del IAMCEST.

Nuestros resultados están acordes en los datos previamente publicados por Yilmaz (2006), quien no encontró ninguna asociación entre el polimorfismo C677T y el riesgo de enfermedades arteriales coronarias en población Turca. Schmitz (1996), también muestra que el homocigoto 677TT no se encontró asociado como factor de riesgo para el infarto miocárdico en estadounidenses. Aunque están en desacuerdo con otros trabajos en donde se ha demostrado una asociación significativa entre el genotipo TT y el desarrollo de EAC. Kluijtmans LA (2001), demostró que los tres genotipos de C677T de la MTHFR confirieron diferentes niveles de riesgo aterotrombótico. Brown KS (2004), demostró una fuerte interacción entre el genotipo 677 TT de la MTHFR y el hábito tabáquico con un elevado nivel de homocisteína. Rallidis LS (2008), también encontró como factor de riesgo independiente la presencia del homocigoto TT en el polimorfismo C677T de la enzima MTHFR con el desarrollo prematuro del infarto al miocardio sin lesiones ateroscleróticas identificadas por angiografía. Sin embargo no se pudo corroborar una asociación en sujetos jóvenes con lesiones. Alluri (2005), encontró que la presencia del alelo T fue un factor de riesgo importante para infarto en población india en pacientes jóvenes. Muy recientemente, Goracy (2009), también demuestra que la presencia del alelo T es un factor de riesgo independiente para infarto en población polaca.

Si bien, este genotipo no representa un factor de riesgo para el IAMCEST en población joven, existen estudios previos realizados en población mexicana encaminados a determinar la asociación de la variante 677T con la presencia de defectos del tubo neural (Mutchinick, 1999), preeclampsia (Dávalos, 2000) y cáncer de colon (Zuñiga, 2007) en donde tampoco se ha

detectado como factor de riesgo. Sin embargo, desde el punto de vista epidemiológico, nuestros estudios están acorde a lo publicado por Mutchinick (1999), en donde la prevalencia genotípica (CC 17.6%, CT 47.6%, TT 34.8%) y frecuencia alélica (C 41.4% y T 58.6%) son muy similares a las obtenidas en este trabajo, lo cual nos demuestra la alta prevalencia del polimorfismo en nuestra población. La frecuencia alélica 677T muestra un amplio rango de variación alrededor del mundo. Estudios previos realizados acerca del polimorfismo C677T se han hecho en mayor cantidad en otras poblaciones y en donde la frecuencia alélica entre europeos es de 24%-40% (van der Put, 1997) de 26-37% en población japonesa (Papapetrou, 1996; Sohda, 1997) y del 11% en población afroamericana (Stevenson, 1997).

Diversas publicaciones han mostrado variaciones étnicas y regionales para las frecuencias alélicas y genotípicas de esta variante. Según estos estudios el alelo 677T presenta frecuencias altas en población italiana (43,8%), en los hispanos de California (41,7%) y mexicanos (58,6%) (Botto, 2000).

En México, la variación 677T es muy frecuente cuando se compara con otras poblaciones: en mestizos mexicanos (44%), en huicholes nativos (56%) y purépechas (57%) (Dávalos, 2000) observándose particularmente más alta entre la población nativa. Además como se muestra en la tabla 5, la variante C677T del gen de la MTHFR en México es una de las frecuencias más altas alrededor del mundo.

La variación en la frecuencia alélica entre las diferentes zonas de México refleja la heterogeneidad étnica de la población, donde el grado de mestizaje es variable. Esto es debido a que la población estudiada mestiza mexicana, es el resultado de una mezcla de español, indio y negro. Además existe la contribución de genes amerindios en el perfil genético de los mestizos mexicanos, lo cual podría explicar las diferencias genéticas y alélicas de nuestra población con respecto a otras. Por tal motivo, esta elevada prevalencia podría explicarse debido al origen étnico entre nuestra población de estudio. En el mestizo mexicano y la población nativa, la variante 677T como ya se mencionó es de las más altas (> 44%) en individuos sanos (Dávalos, 2005). La detección de este polimorfismo y la controversia de la asociación de éste con la enfermedad arterial, podría ser explicado en parte por la etiología multifactorial y genética del infarto.

También las plaquetas tienen una participación importante en el desarrollo del trombo arterial, por ello se analizó la participación del polimorfismo PLA1/A2 en el gen de la glicoproteína plaquetaria IIIa, la cual es parte del complejo IIb/IIIa y funciona como receptor para el fibrinógeno participando en la adhesión y agregación plaquetaria. En un estudio similar de casos y controles utilizando la misma población de pacientes obtuvimos los siguientes resultados: Los factores de riesgo fueron más frecuentes en el grupo de IAM CEST como sigue: tabaquismo 13.3% contra 65.87% ( $p < 0.001$ ), hipertensión arterial sistémica 9.4% contra 43.65% ( $p < 0.001$ ), Diabetes Mellitus 8.7% contra 46.03% ( $p < 0.001$ ), y dislipidemia 8.6% contra 47.62% ( $p < 0.001$ ). Al igual que los antecedentes heredo familiares para enfermedad arterial coronaria 8.6% contra 42.06% ( $p < 0.001$ ). El infarto de localización inferior fue el más frecuente (59.8%). Se identificó una diferencia estadísticamente significativa (OR=3.12, IC 95% 1.25-7.99,  $p=0.006$ ) en la distribución genotípica entre el grupo de pacientes con IAM CEST con respecto al control como sigue: en la distribución genotípica A1/A1 fue 82.7% contra 93.7%,

para A1/A2 fue 17.3% contra 6.3%, y para A2/A2 en ambos grupos fue de 0%. En relación a la frecuencia alélica también encontramos una diferencia estadísticamente significativa con mayor frecuencia de A2 en los pacientes con IAM CEST (8.25% contra 3.15%), OR=2.92 (IC 95%,1.21-7.28), p=0.008, mientras que el A1 91.75% contra 96.85% del grupo control.

El Infarto Agudo del Miocardio (IAM) es una enfermedad resultado de la interacción entre factores genéticos y ambientales<sup>39</sup>. Tradicionalmente se han considerado factores de riesgo ambientales o también denominados modificables al tabaquismo, diabetes, hipertensión arterial, sedentarismo, dislipidemia, obesidad e incremento en la concentración de fibrinógeno. Sin embargo, en la última década se han identificado variantes genéticas denominadas polimorfismos las cuales se asocian al desarrollo de IAM<sup>40-42</sup>. Entre los polimorfismos más importantes que han sido estudiados y se consideran en la actualidad como riesgo para IAM tenemos el localizado en la glicoproteína transmembranal plaquetaria, la cual es receptor para la molécula de fibrinógeno y el factor de VonWillebran (FvW) denominado IIIa, es responsable de su unión con esas proteínas y a un endotelio disfuncional. La adhesión y agregación plaquetaria tienen una participación importante en la fisiopatología de la formación de los procesos tromboticos como es el caso del IAM, razón por la cual se ha estudiado la posible asociación entre el polimorfismo A1/A2 y el desarrollo temprano de IAM en sujetos jóvenes en diversas poblaciones en todo el mundo<sup>44-45</sup>.

En este estudio se analizaron 127 pacientes con diagnóstico de IAM con elevación ST menores de 45 años y 127 sujetos aparentemente sanos para evaluar la presencia del polimorfismo A1/A2 como posible factor de riesgo entre nuestra población. Se identificó por primera vez en nuestra población al alelo genotipo A1/A2 como factor de riesgo para el desarrollo de IAM CEST en sujetos jóvenes [OR=2.92 (IC=1.21-7.28), p=0.008]. Nuestros resultados son acordes a lo publicado por Bojersen y cols., en el cual se demostró una asociación entre el alelo P1A2 y el IAM en sujetos jóvenes<sup>37</sup>. Sin embargo, difiere de lo publicado por Herrmann y cols, en donde no pudieron demostrar una asociación entre la presencia del polimorfismo y el IAM<sup>47</sup>.

Al igual que otros estudios relacionados los factores de riesgo tienen un impacto aditivo con los polimorfismos de la glicoproteína IIIa P1A1/A2, por lo que el estudio de estos factores genéticos y el control de los factores de riesgo modificables podrían en un futuro ser una de las herramientas en la prevención de los pacientes con IAM CEST, especialmente en pacientes jóvenes. A diferencia con otras poblaciones a nivel mundial de origen caucásico<sup>46</sup>, en nuestro grupo de estudio no identificamos sujetos homocigotos para el alelo A2 (P1A2/A2), por lo que esto puede ser debido a la representación mestiza de nuestra población. Es una línea de investigación adicional ver la presencia del polimorfismo estudiado en los pacientes con IAM CEST que ha sido sometidos a angioplastia primaria y colocación de Stent, con o sin liberación de fármacos, especialmente en la actualidad que se han identificado algunos pacientes no respondedores al manejo antiplaquetario. Una limitante de este estudio es que no se realizó agregometría plaquetaria en cada uno de los pacientes, sin embargo se ha demostrado previamente y en múltiples ocasiones, que la variante del alelo P1A2 se asocia con un incremento en la adhesión y agregación plaquetaria<sup>48</sup>. Esto es debido a que el cambio conformacional en el receptor produce un incremento en la unión con la molécula de fibrinógeno y el factor de von Willebrand, los cuales son indispensables para su unión interplaquetaria y al endotelio Por lo tanto podemos hipotetizar que en este tipo de pacientes

portadores del alelo A2, cursan con un incremento en la participación plaquetaria en la formación del trombo.

Se demostró por primera vez en nuestro país, que el alelo A2 representa factor de riesgo para el IAMCEST en sujetos jóvenes menores de 45 años. Los antecedentes de tabaquismo, diabetes e hipertensión y heredofamiliares de enfermedad aterotrombótica coronaria también representan factores de riesgo para IAMCEST. En la población estudiada no se identificó el genotipo homocigoto para el alelo A2 (A2/A2), lo cual no indica diferencias en la distribución genotípica entre los diversos grupos étnicos en el mundo, estando ausente en la población Mestiza Mexicana, por lo que probablemente se requiera de más estudios o con un número mayor de sujetos incluidos. Se demostró por primera vez en nuestro país, que el alelo A2 representa factor de riesgo para el IAMCEST en sujetos jóvenes al igual que los factores de riesgo tradicionales.

## CONCLUSIONES

- El polimorfismo Arg353Gln en el factor VII de la coagulación no representa factor de riesgo para el desarrollo del Infarto Agudo del Miocardio con elevación del segmento ST (IAMCEST) en sujetos jóvenes Mexicanos menores de 45 años.
- Se identificaron factores independientes para el desarrollo de IAMCEST en menores de 45 años al tabaquismo, hipertensión arterial, antecedente heredo familiar para enfermedad arterial trombotica, dislipidemia. La diabetes mellitus no representó factor de riesgo independiente.
- Se requieren de más estudios con un número mayor de pacientes para poder confirmar el probable factor protector del alelo 353Gln en sujetos jóvenes Mexicanos con IAMCEST.
- La enfermedad arterial coronaria (Infarto agudo del miocardio) es una enfermedad multicausal y multigénica.
- Actualmente hemos determinado 3 polimorfismos asociados al desarrollo del Infarto Agudo del Miocardio con elevación del segmento ST en jóvenes Mexicanos menores de 45 años como son: 4G/5G del Inhibidor del Activador del Plasminógeno tipo 1 (PAI-1), el Glu298Asp de la enzima sintasa del oxido nítrico endotelial y el PLA1/A2 en la glicoproteína plaquetaria IIIa.

## **ANEXO 1**

### **RECURSOS**

<b>Recursos físicos</b>	<b>Recursos humanos</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Expediente clínico</li><li>• Electrocardiógrafo</li><li>• Kit para determinación de paraclínicos incluyendo enzimas cardíacas</li><li>• Kit de PCR y equipo comercial (Qiagen QIAamp DNAMini kit)</li><li>• Hoja de recolección de datos</li><li>• Material de oficina</li><li>• Copiadora</li><li>• Computadora e impresora personal</li><li>• Línea telefónica</li><li>• Paquete estadístico</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Investigador principal</li><li>• Tutores</li><li>• Cardiólogos clínicos</li><li>• Personal del laboratorio</li></ul>





INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

---

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

**PACIENTE:** \_\_\_\_\_  
**NoAFILIACIÓN:** \_\_\_\_\_ **FOLIO:** \_\_\_\_\_ **FECHA:** \_\_/\_\_/\_\_

**TÍTULO DEL PROYECTO: "ASOCIACION DEL POLIMORFISMO GENÉTICO ARG353GLN DEL FACTOR VII CON INFARTO AGUDO DEL MIOCARDIO CON ELEVACION DEL SEGMENTO ST EN SUJETOS MEXICANOS JÓVENES"**

**DESCRIPCIÓN:** El presente estudio tiene la finalidad de analizar la relación que existe entre una modificación genética presente en su organismo (polimorfismo) y la presencia de infarto agudo del miocardio

De la sangre obtenida se identificará la presencia de una modificación genética, dado que dicha modificación podría intervenir de cierta manera en su enfermedad.

**PROCEDIMIENTO:** Se le hará un breve interrogatorio y se le extraerán 5 a 10 ml de sangre de su brazo dentro de su estancia hospitalaria, dicha muestra será procesada y enviada a un laboratorio especializado para su análisis.

**GARANTÍAS:** 1) El manejo de su información será confidencial y de uso exclusivo para investigación y/o docencia; 2) El trato hacia su persona será con respeto; 3) Cualquier duda sobre el estudio podrá serle aclarada cuando lo solicite.

**RIESGOS:** Son mínimos y sólo se limitan al pequeño dolor cuando le extraiga la sangre e inclusive puede haber pequeños "moretones" que desaparecerán en unos cuantos días. Le recordamos que no se le inyectará ni se le dará de tomar ninguna clase de medicamentos para fines del presente estudio.

**BENEFICIOS:** Con los resultados de dicho estudio obtendremos información importante con respecto a la relación que existe entre una modificación genética (polimorfismo) y la presencia de infarto agudo del miocardio.

\_\_\_\_\_  
**NOMBRE Y FIRMA DEL PACIENTE**

\_\_\_\_\_  
**NOMBRE Y FIRMA DEL TESTIGO**

\_\_\_\_\_  
**NOMBRE Y FIRMA DEL TESTIGO**

**MÉDICO RESPONSABLE DEL ESTUDIO**

**Dr. Ahumada Pérez Joaquín.** Médico residente del Hospital de Cardiología, CMNSXXI, IMSS.

**ANEXO 3**

**"ASOCIACION DEL POLIMORFISMO GENÉTICO ARG353GLN DEL FACTOR VII CON INFARTO AGUDO DEL MIOCARDIO CON ELEVACION DEL SEGMENTO ST EN SUJETOS MEXICANOS JÓVENES"**

**HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

FECHA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

FOLIO: \_\_\_\_\_

APELLIDO PATERNO

APELLIDO MATERNO

NOMBRES

Número de afiliación: \_\_\_\_\_

Genero : ( ) Hombre ( ) Mujer    Edad: \_\_\_\_    I.M.C.: \_\_\_\_    Teléfono: \_\_\_\_\_  
 Cel: \_\_\_\_\_

GENOTIPO: ( ) Normal ( ) Homocigoto Arg/Arg o A1/A1 ( ) Homocigoto Gln/Gln o A2/A2 ( ) Heterocigoto

Factores de riesgo cardiovascular	Historia cardiovascular
<b>Diabetes mellitus:</b> ( ) Si ( ) No    Tiempo de evolución: ( ) No tratada ( ) Tratada con insulina ( ) Tratada sin insulina	Enfermedad coronaria conocida: ( ) Si ( ) No IAM previo: ( ) Si ( ) No
<b>HAS:</b> ( ) Si ( ) No ( ) Control ( ) No control	( ) SEST ( ) CEST
<b>Tabaquismo:</b> ( ) Si, actual ( ) Dejó de fumar ( ) No	Angina inestable: ( ) Si ( ) No
<b>Dislipidemia:</b> ( ) Si ( ) No ( ) Tratada ( ) No tratada	Angina estable: ( ) Si ( ) No
Uso crónico de estatinas: ( ) Si ( ) No	ICP previa: ( ) Si ( ) No

<b>Síndrome coronario agudo:</b> ( ) IAM CEST ( ) IAM SEST  Complicado: ( ) Si ( ) No  Tipo complicación:  <b>Fecha del evento isquémico:</b>	<b>Cambios electrocardiográficos:</b>  <b>Ecocardiograma:</b>  FEVI:  Movilidad:  Tipo disfunción diastólica:	<b>Trombólisis:</b> ( ) Si ( ) No  Tiempo de inicio:  <b>Criterios reperfusión:</b> ( ) Si ( ) No  <b>Cateterismo:</b> ( ) Si ( ) No  Fecha:
--	---	---

**CATETERISMO**

Intervención: ( ) Si ( ) No Éxito: ( ) Si ( ) No	Stent medicado: ( ) Si ( ) No Stent no medicado: ( ) Si ( ) No Tipo de stent:	Número de stents: Longitud de stent:
ICP primaria: ( ) Si ( ) No ICP rescate: ( ) Si ( ) No Vasos lesionados: ( ) DA ( ) CD ( ) CX ( ) RI	Enfermedad tronco: ( ) Si ( ) No Múltiples vasos: ( ) Si ( ) No Sin lesiones: ( ) Si ( ) No Número de vasos lesionados: FEVI:	Trombos: ( ) Si ( ) No Ectasia: ( ) Si ( ) No Flujo lento: ( ) Si ( ) No Puente muscular: ( ) Si ( ) No Calcio: ( ) Si ( ) No
<b>Resultado angiográfico:</b>   Reestenosis: ( ) Si ( ) No	Complicaciones: ( ) Si ( ) No TV o FV: ( ) Si ( ) No BAV completo: ( ) Si ( ) No Otras arritmias: Otros trastornos conducción:	No reflujo: ( ) Si ( ) No Diseción: ( ) Si ( ) No Espasmo: ( ) Si ( ) No Perforación: ( ) Si ( ) No Muerte: ( ) Si ( ) No

**PARACLÍNICOS (unidades convencionales)**

	Ingreso	Egreso		Ingreso	Egreso
Hemoglobina			Colesterol		
Leucocitos			Triglicéridos		
Plaquetas			HDL		
HbA1c%			LDL		
Fibrinógeno			AST		
Glucosa			ALT		
Urea			CPK		
Creatinina			MB		
Ácido úrico			MIO		
PCR			TPI		
BNP			DD		

## **BIBLIOGRAFÍA**

- 1.** THYGESEN K, ALPERT J, WHITE H on behalf of the Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal Definition of myocardial infarction. *European Heart Journal* (2007) 28, 2525-2538.
- 2.** GRUPO DE TRABAJO DE LA SOCIEDAD EUROPEA DE CARDIOLOGÍA (ESC). Manejo del infarto agudo de miocardio en pacientes con elevación persistente del segmento ST. *Rev Esp Cardiol*. 2009;62(3):e1-e47.
- 3.** GARCÍA A, JERJES C, MARTÍNEZ C, LLAMAS G, CARDONA E, BARRAGÁN R et al. Guías clínicas para el manejo del infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST. *Arch Mex Cardiol*. Vol. 76, Supl.3/julio-septiembre 2006:S3, 12-120.
- 4.** KUSHNER F, HAND M, SMITH S, KING S, ANDERSON J, ANTMAN E et al. 2009 Focused Updates: ACC/AHA Guidelines for the management of patients with ST elevation myocardial infarction and ACC/AHA/SCAI Guidelines on percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2009;120:2271-2306.
- 5.** BOERSMA E, MERCADO N, POLDERMANS D, GARDIEN M, VOS J, SIMOONS M. Acute myocardial infarction. *Lancet* 2003; 361: 847-58.
- 6.** A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2007 Focused Update of the ACC/AHA, 2004 Guidelines for the management of patients with ST elevation myocardial infarction.
- 7.** FOX K, BIRKHEAD J, WILCOX R, KNIGHT C, BARTH J. British Cardiac Society Working Group on the definition of myocardial infarction. *Heart* 2004;90:603-609.
- 8.** WANG Q. *Curr Atheroscler Rep*. Advances in the Genetic Basis of Coronary Artery Disease. 2005 May ; 7(3): 235–241.
- 9.** MARTINELLI N, TRABETTI E, PINOTTI M, OLIVIERI O, SANDRI M, et al (2008) Combined Effect of Hemostatic Gene Polymorphisms and the Risk of Myocardial Infarction in Patients with Advanced Coronary Atherosclerosis. *PLoS ONE* 3(2): e1523.doi:10.1371/journal.pone.0001523.
- 10.** FALLIN D and MATTEINI M. Genetic Epidemiology in Aging Research. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2009. Vol. 64A, No. 1, 47 – 60.
- 11.** HENRY J, BOLLA M, OSMOND C, FALL C, BARKER D, HUMPHRIES E. The effects of genotype and infant weight on adult plasma levels of fibrinogen, factor VII, and LDL cholesterol are additive. *J Med Genet* 1997;34:553-558.
- 12.** YANG Q, KATHIRESANS , LIN JP , TOFLER G and J O'DONNELL C. Genome-wide association and linkage analyses of hemostatic factors and hematological phenotypes in the Framingham Heart Study. *BMC Medical Genetics* 2007, 8(Suppl 1):S12.

- 13.** YAMADA Y, ICHIHARA S and NISHIDA T. Molecular genetics of myocardial infarction. *Genomic Med.* (2008) 2:7–22.
- 14.** JEFFERSON B and TOPOL E. Molecular Mechanisms of Myocardial Infarction. *Curr Probl Cardiol* 2005; 30:333-74.
- 15.** FOY C and GRANT P. Genes and the development of vascular disease. *Postgrad Med* 1997; 73: 271-278.
- 16.** LAO JI. Polimorfismos genéticos a considerar en la evaluación del riesgo vascular. *Medicina Antienvejecimiento*. No.4, pp:55-63, 2004.
- 17.** SALAZAR L, CHAVES L, CARTIN M, SCHUSTER G, WULFF K, SCHRÖDER W and HERRMANN F. Common polymorphisms and cardiovascular factors in patients with myocardial infarction of Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 54(1): 1-11. Epub 2006 Mar 31.
- 18.** MAITLAND-VAN DER ZEEA AM, PETERSA B, LYNCHB A, BOERWINKLEC E, ARNETTD D, CHENG S, DAVIS B, LEIENDECKER-FOSTERB C, FORDC C, and ECKFELDT J. The effect of nine common polymorphisms in coagulation factor genes (F2, F5, F7, F12 and F13) on the effectiveness of statins: the GenHAT study. *Pharmacogenet Genomics*. 2009 May ; 19(5): 338–344.
- 19.** SYKES TC, FEGAN C and MOSQUERA D. Thrombophilia, polymorphisms, and vascular disease. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 2000; **53**:300–306.
- 20.** MORGAN T, XIAO L, LYONS P, KASSEBAUM B, KRUMHOLZ H and SPERTUS J. Investigation of 89 candidate gene variants for effects on all-cause mortality following acute coronary syndrome. *BMC Medical Genetics* 2008, **9**:66 doi:10.1186/1471-2350-9-66.
- 21.** Grupo Cooperativo RENASICA. Sociedad Mexicana de Cardiología: El Registro Nacional de los Síndromes Isquémicos Coronarios Agudo (RENASICA). *Arch Cardiol Méx* 2002; 72 Supl: S45-S64.
- 22.** GARCIA-CASTILLO A, JERJES-SANCHEZ C, MARTINEZ BP, AZPIRI-LOPEZ JR, AUTREY CA, MARTINEZ SC, RAMOS CMA, LLAMAS G, MARTINEZ SJ: RENASICA II. *A Mexican registry of acute coronary syndromes*. *Arch Cardiol Mex* 2005; 75: S18-S30.
- 23.** RUESGA E, JÁUREGUI R, SATURNO G et al. *Cardiología*. Editorial El Manual Moderno, 2005: 463-599.
- 24.** DOGGEN CJ, MANGER CV, BERTINA RM, *et al.* A genetic propensity to high factor VII is not associated with the risk of myocardial infarction in men. *Thromb Haemost* 1998; 80: 281–5.
- 25.** LANE A, GREEN F, SCARABIN PY, *et al.* A Factor VII Arg/Gln353 polymorphism determines factor VII coagulant activity in patients with myocardial infarction (MI) and control subjects in Belfast and in France but is not a strong indicator of MI risk in the ECTIM study. *Atherosclerosis* 1996; 119:119–27.

- 26.** IACOVIELLO L, DI CASTELNUOVO A, DE KNIJFF P, *et al.* Polymorphisms in the coagulation factor VII gene and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998; 338:79–85.
- 27.** GIRELLI D, RUSSO C, FERRARESI P, OLIVIERI O, PINOTTI M, FRISO S, *et al.* Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000;343: 774-80.
- 28.** OGAWA W, ABE S, BIRO S, SAIGO M, KIHARA T, SETOYAMA S *et al.* R353Q Polymorphism, Activated Factor VII, and Risk of Premature Myocardial Infarction in Japanese Men. *Circ J* 2004; **68**: 520–525.
- 29.** YUSUF S, HAWKEN S, OUNPUU S, DANS T, AVEZUM A, LANAS F, MCQUEEN M, BUDAJ A, PAIS P, VARIGOS J, LISHENG L; INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004;364 (9438):937-952.
- 30.** INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA, GEOGRAFÍA E INFORMÁTICA. Censo Nacional de Población y Vivienda 2007 (México). Available at: <http://www.inegi.org.mx>
- 31.** LIBBY P. Molecular and cellular mechanisms of the thrombotic complications of atherosclerosis. *J Lipid Res*. 2009;50 Suppl:S352-357.
- 32.** MORANGE PE, BICKEL C, NICAUD V, SCHNABEL R, RUPPRECHT HJ, PEETZ D, LACKNER KJ, CAMBIEN F, BLANKENBERG S, TIRET L; AtheroGene Investigators. Haemostatic factors and the risk of cardiovascular death in patients with coronary artery disease: the AtheroGene study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 2793-2799.
- 33.** KRAUS WE. Genetic approaches for the investigation of genes associated with coronary heart disease. *Am Heart J*. 2000;140:S27-35.
- 34.** RAO LV, RAPAPORT SI. Activation of factor VII bound to tissue factor: a key early step in the tissue factor pathway of blood coagulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988;85:6687-6691.
- 35.** CAMPO G, VALGIMIGLI M, FERRARESI P, MALAGUTTI P, BARONI M, ARCOZZI C, GEMMATI D, PERCOCO G, PARRINELLO G, FERRARI R, BERNARDI F. Tissue factor and coagulation factor VII levels during acute myocardial infarction: association with genotype and adverse events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26:2800-2806.
- 36.** KARIO K, MATSUO T, SAKATA T, MIYATA T. Factor VII hyperactivity and ischaemic heart disease. *Lancet*. 1994;343:233-237.
- 37.** BALLEISEN L, ASSMANN G, BAILEY J, EPPING PH, SCHULTE H, VAN DE LOO J. Epidemiological study on factor VII, factor VIII and fibrinogen in an industrial population--II. Baseline data on the relation to blood pressure, blood glucose, uric acid, and lipid fractions. *Thromb Haemost*. 1985;54:721-723.
- 38.** BALLEISEN L, BAILEY J, EPPING PH, SCHULTE H, VAN DE LOO J. Epidemiological study on factor VII, factor VIII and fibrinogen in an industrial population: I. Baseline data on the relation to age,

gender, body-weight, smoking, alcohol, pill-using, and menopause. *Thromb Haemost.* 1985;54:475-479.

**39.** GREEN F, KELLEHER C, WILKES H, TEMPLE A, MEADE T, HUMPHRIES S. A common genetic polymorphism associated with lower coagulation factor VII levels in healthy individuals. *Arterioscler Thromb.* 1991;11:540-546.

**40.** FENG D, TOFLER GH, LARSON MG, O'DONNELL CJ, LIPINSKA I, SCHMITZ C, SUTHERLAND PA, JOHNSTONE MT, MULLER JE, D'AGOSTINO RB, LEVY D, LINDPAINTNER K. Factor VII gene polymorphism, factor VII levels, and prevalent cardiovascular disease: the Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:593-600.

**41.** SHANKER J, PERUMAL G, MAITRA A, RAO VS, NATESHA BK, JOHN S, HEBBAGODI S, KAKKAR VV. Genotype-phenotype relationship of F7 R353Q polymorphism and plasma factor VII coagulant activity in Asian Indian families predisposed to coronary artery disease. *J Genet.* 2009;88:291-297.

**42.** MEADE TW, MELLOWS S, BROZOVIC M, MILLER GJ, CHAKRABARTI RR, NORTH WR, HAINES AP, STIRLING Y, IMESON JD, THOMPSON SG. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet.* 1986;2:533-537.

**43.** HEINRICH J, BALLEISEN L, SCHULTE H, ASSMANN G, VAN DE LOO J. Fibrinogen and factor VII in the prediction of coronary risk. Results from the PROCAM study in healthy men. *Arterioscler Thromb.* 1994 ;14:54-59.

**44.** JEFFERY S, POLONIECKI J, LEATHAM E, BEVAN D, IRESON N, TALBOT S, COLE D, KASKI JC. A protective contribution of the Q allele of the R353Q polymorphism of the Factor VII gene in individuals with chronic stable angina? *Int J Cardiol.* 2005;100:395-399.

**45.** BOZZINI C, GIRELLI D, BERNARDI F, FERRARESI P, OLIVIERI O, PINOTTI M, MARTINELLI N, MANZATO F, FRISO S, VILLA G, PIZZOLO F, BELTRAME F, CORROCHER R. Influence of polymorphisms in the factor VII gene promoter on activated factor VII levels and on the risk of myocardial infarction in advanced coronary atherosclerosis. *Thromb Haemost.* 2004;92:541-549.

**46.** MROZIKIEWICZ PM, CASCORBI I, ZIEMER S, LAULE M, MEISEL C, STANGL V, RUTSCH W, WERNECKE K, BAUMANN G, ROOTS I, STANGL K. Reduced procedural risk for coronary catheter interventions in carriers of the coagulation factor VII-Gln353 gene. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36:1520-1525.

**47.** PEYVANDI F, BERNARDINELLI L, MARTINI CH, CELLI P, MANNUCCI PM. Factor VII gene polymorphisms are not associated with myocardial infarction in young women. *J Thromb Haemost.* 2005;3:803-804.

**48.** LANE A, GREEN F, SCARABIN PY, NICAUD V, BARA L, HUMPHRIES S, EVANS A, LUC G, CAMBOU JP, ARVEILER D, CAMBIEN F. Factor VII Arg/Gln353 polymorphism determines factor VII coagulant activity in patients with myocardial infarction (MI) and control subjects in Belfast and in France but is not a strong indicator of MI risk in the ECTIM study. *Atherosclerosis.* 1996;119:119-127.



- 49.** FENG DL, LINDPAINTER K, LARSON MG, RAO VS, O'DONNELL CJ, LIPINSKA I, SCHMITZ C, SUTHERLAND PA, SILBERSHATZ H, D'AGOSTINO RB, MULLER JE, MYERS RH, LEVY D, TOFLER GH. Increased platelet aggregability associated with platelet GPIIIa/PIA2 polymorphism The Framingham offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999; 19: 1142-47.
- 50.** PEGORARO RJ, RANJITH N, ROM L. Coagulation gene polymorphisms as risk factors for myocardial infarction in young Indian Asians. *Cardiovasc J S Afr.* 2005;16:152-7.
- 51.** LINDMAN AS, PEDERSEN JI, ARNESEN H, HJERKINN EM, VEIERØD MB, PRYDZ H, SELJEFLOT I. Coagulation factor VII, R353Q polymorphism, and serum choline-containing phospholipids in males at high risk for coronary heart disease. *Thromb Res.* 2004;113:57-65.
- 52.** MARTINELLI N, TRABETTI E, PINOTTI M, OLIVIERI O, SANDRI M, FRISO S, PIZZOLO F, BOZZINI C, CARUSO PP, CAVALLARI U, CHENG S, PIGNATTI PF, BERNARDI F, CORROCHER R, GIRELLI D. Combined effect of hemostatic gene polymorphisms and the risk of myocardial infarction in patients with advanced coronary atherosclerosis. *PLoS One.* 2008;3:1523.
- 53.** NORDT TK, LOHRMANN J, BODE C. REGULATION OF PAI-1 EXPRESSION BY GENETIC POLYMORPHISM. Impact on atherogenesis. *Thromb Res.* 2001;103: S1-5.
- 54.** DAWSON S, HAMSTEN A, WIMAN B, HENNEY A, HUMPHRIES S. Genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-1 locus is associated with altered levels of plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity. *Arterioscler Thromb.* 1991;11:183-190.
- 55.** YE S, GREEN FR, SCARABIN PY, NICAUD V, BARA L, DAWSON SJ ET AL. The 4G/5G genetic polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 gene is associated with differences in plasma PAI-1 activity but not with risk of myocardial infarction in the ECTIM study. *Etude CasTemoins de l'infarctus du Myocarde.* *Thromb Haemost.* 1995;74:837-841.
- 56.** ELIASSON M, ASPLUND K, ERVIN 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;113:41-53.
- 57.** HENRY M, TREGOUET DA, ALESSI MC, AILLAUD MF, VISVIKIS S, SIEST G ET AL. Metabolic determinants are much more important than genetic polymorphism in determining the PAI-1 and antigen plasma concentrations: a family study with part of the Stanislas Cohort. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18:84-91.
- 58.** BURZOTTA F, DI CASTELNUOVO A, AMORE C, D' ORAZION A, DONATI MB ET AL. The role of 4G/5G polymorphism in the regulation of plasma levels of PAI-1; a model of interaction between genetic and environmental factors. *Cardiologia.* 1998;43:83-88.
- 59.** BONCORAGLIO GB, BODINI A, BRAMBILA C, CARRIERO MR, CIUSANI E, PARATI EA. An Effect of the PAI-1 4G/4G polymorphism on cholesterol levels may explain conflicting association with myocardial infarction and stroke. *Cerebrovasc Dis.* 2006;22:191-195.

- 60.** SERRANO RÍOS M. The 4G/4G PAI-1 genotype is associated with elevated plasma PAI-1 levels regardless of variables of the metabolic syndrome and smoking status. A population-based study in Spanish population. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2007; 9:134-136.
- 61.** PANAHLUO A, MOHAMED-ALI V, GRAY RP, HUMPHRIES SE, YUDKIN JS. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) activity post myocardial infarction: the role of acute reactants, insulin-like molecules and promoter (4G/5G) polymorphism in the PAI-1 gene. *Atherosclerosis*. 2003; 168:297-304.
- 62.** SOBEL BE, TAATJES DJ, SCHNEIDER DJ. Intramural plasminogen activator inhibitor type-1 and coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:1979-89.
- 63.** SHINDO J, ISHIBASHI T, KIJIMA M, NAKAZATO K, NAGATA K, YOKOYAMA K. Increased plasminogen activator inhibitor-1 and apolipoprotein (a) in coronary atherectomy specimens in acute coronary syndromes. *Coron Artery Dis*. 2001;2:573-579.
- 64.** KHOLER HP, GRANT PJ. Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2000;342:1792-801.
- 65.** NASSAR BA, BEVIN LD, JOHNSTONE DE, O'NEILL BJ, BATA IR, KIRKLAND SA, TITLE LM. Relationship of the Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene and early-onset coronary artery disease. *Am Heart J* 2001;142:586-589.
- 66.** GARDEMANN A, LOHRE J, CAYCI S et al. The Allele of the missense Glu298Asp endothelial nitric oxide synthase polymorphism is associated with coronary heart disease in younger individuals with atherosclerotic risk profile. *Atherosclerosis*. 2002;160:167-175.
- 67.** ISORDIA-SALAS I, LEAÑOS-MIRANDA A, BORRAYO-SÁNCHEZ G. The Glu298ASP polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with premature ST elevation myocardial infarction in Mexican population. *Clin Chim Acta*. 2010;411:553-557.
- 68.** CASAS JP, BAUTISTA LE, HUMPHRIES SE, HINGORANI AD. Endothelial nitric oxide synthase genotype and heart disease. Meta-analysis of 26 studies involving 23 038 subjects. *Circulation* 2004;109:1359-1365.
- 69.** HIBI K, ISHIGAMI T, TAMURA K, MIZUSHIMA S, NYUI N, FUJITA T, OCHIAI H, KOSUGE M, WATANABE Y, YOSHII Y, KIHARA M, KIMURA K, ISHII M, UMEMURA S. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and acute myocardial infarction. *Hypertension*. 1998;32:521-526.
- 70.** SHIMASAKI Y, YASUE H, YOSHIMURA M, NAKAYAMA M, KUGIYAMA K, OGAWA H, HARADA E, MASUDA T, KOYAMA W, SAITO Y, MIYAMOTO Y, OGAWA H, NAKAO K. Association of the missense Glu298Asp variant of the endothelial nitric oxide synthase gene with myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:1506-1510.
- 71.** SUZUKI T, OKUMURA K, SONE T, KOSOKABE T, TSUBOI H, KONDO J, MAKI H, KAMIYA H, TOMIDA T, IMAI H, MATSUI H, HAYAKAWA T. The Glu298Asp polymorphism in endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary in-stent restenosis. *Int J Cardiol*. 2002; 39: 919-922.

- 72.** COLOMBO MG, PARADOSI U, ANDREASSI MG. et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms and Risk of Coronary Artery Disease. *Clinical Chemistry*. 2003;49(3):389-395.
- 73.** COLOMBO MG, ANDREASSI MG, PARADOSSI U, BOTTO N, MANFREDI S, MASETTI S, ROSSI G, CLERICO A, BIAGINI A. Evidence for association of a common variant of the endothelial nitric oxide synthase gene (Glu298-->Asp polymorphism) to the presence, extent, and severity of coronary artery disease. *Heart* 2002;87:525-528.
- 74.** SAMPAIO MF, HIRATA MH, HIRATA RD, SANTOS FC, PICCIOTTI R, LUCHESSI AD, DE QUATELI DOI S, ARMAGANIJAN D, BATLOUNI M. AMI is associated with polymorphisms in the NOS3 and FGB but not in PAI-1 genes in young adults. *Clin Chim Acta* 2007;377:154-162.
- 75.** BRSCIC E, BERGERONE S, GAGNOR A, COLAJANNI E, MATULLO G, SCAGLIONE L, CASSADER M, GASCHINO G, DI LEO M, BRUSCA A, PAGANO GF, PIAZZA A, TREVI GP. Acute myocardial infarction in young adults: prognostic role of angiotensin-converting enzyme, angiotensin II type I receptor, apolipoprotein E, endothelial constitutive nitric oxide synthase, and glycoprotein IIIa genetic polymorphisms at medium-term follow-up. *Am Heart J* 2000;139:979-984.
- 76.** TAMEMOTO H, ISHIKAWA SE, KAWAKAMI M. Association of the Glu298Asp polymorphism of the eNOS Gene with ischemic heart disease in Japanese diabetic subjects. *Diabetes Res Clin Pract* 2008;80:275-279.
- 77.** GULEC S, KARABULUT H, OZDEMIR AO, OZDOL C, TURHAN S, ALTIN T, TUTAR E, GENÇ Y, EROL C. Glu298Asp polymorphism of the eNOS gene is associated with coronary collateral development study. *Atherosclerosis* 2008;198:354-359.
- 78.** WANG CL, HSU LA, KO YL, LEE YH. Lack of association between the Glu298Asp variant of the endothelial nitric oxide synthase gene and the risk of coronary artery disease among Taiwanese. *J Formos Med Assoc.* 2001, 100:736-740.
- 79.** KARVONEN J, KAUMA H, KERVINEN K, RANTALA M, IKÄHEIMO M, PÄIVÄNSALO M, SAVOLAINEN MJ, KESÄNIEMI YA. Endothelial nitric oxide synthase gene Glu298Asp polymorphism and blood pressure, left ventricular mass and carotid artery atherosclerosis in a population-based cohort. *J Intern Med* 2002;251:102-110.
- 80.** GRANATH B, TAYLOR RR, VAN BOCKXMEER FM, MAMOTTE CD. Lack of evidence for association between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and coronary artery disease in the Australian Caucasian population. *J Cardiovasc Risk* 2001;8:235-241.
- 81.** VASILAKOU M, VOTTEAS V, KASPIAN C, PANTAZOPOULOS N. ET.AL. Lack of association between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of premature coronary artery disease in the Greek population. *Acta Cardiol*, 2008;63(5):609-14.
- 82.** KIM IJ, BAE J, LIM SW, CHA DH, CHO HJ, KIM S, YANG DH, HWANG SG, OH D, KIM NK. Influence of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms (-786T>C, 4a4b, 894G>T) in Korean patients with coronary artery disease. *Thromb Res.* 2007; 119:579-585.

- 83.** ROSAS-VARGAS H, FLORES-SEGURA A, GUIZADA-CLAURE B, et al. Endotelial nitric oxide synthasa gene polymorphism in the indian and Mestizo populations of Mexico. *Hum Biol.* 2003;75:91-96.
- 84.** ISORDIA-SALAS I, LEAÑOS-MIRANDA A, SAINZ IM, REYES-MALDONADO E, BORRAYO-SÁNCHEZ G. Association of the plasminogen activator inhibitor-1 gene 4G/5G polymorphism with ST elevation acute myocardial infarction in young patients. *Rev Esp Cardiol* 2009;62:365-372.
- 85.** WELCH GN, LOSCALZO J. HOMOCYSTEINE AND ATHEROTHROMBOSIS. *N Engl J Med.* 1998;338:1042-50.
- 86.** WALD DS, LAW M, MORRIS JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from meta-analysis. *BMJ.* 2002;325:1202.
- 87.** AUSTIN RC, LENTZ SR, WERSTUCK. Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease. *Cell Death Differ.* 2004; 11Suppl 1: S56-64.
- 88.** GAUTHIER GM, KEEVIL JG, MCBRIDE PE. The association of homocysteine and coronary artery disease. *Clin. Cardiol.* 2003; 26: 563-568.
- 89.** NYGARD O, NORDREHAUG JE, REFSUM H, UELAND PM, FARSTAD M, VOLLSET SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med.* 1997 ;337:230-236.
- 90.** CLARKE R, DALY L, ROBINSON K, NAUGHTEN E, CAHALANE S, FOWLER B, GRAHAM I. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med.* 1991;324:1149-1155.
- 91.** MALINOW MR, STAMPFER MJ. Role of plasma homocyst(e)ine in arterial occlusive disease. *Lin Chem.* 1994;40:857-858.
- 92.** HARKER LA, ROSS R, SLICHTER SJ, SCOTT CR. Homocystine-induced arteriosclerosis. The role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis. *J Clin Invest.* 1976;58:731-41.
- 93.** TAWAKOL A, OMLAND T, GERHARD M, WU JT, Creager MA. Hyperhomocysteinemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation in humans. *Circulation.* 1997;95:1119-1121.
- 94.** UPCHURCH GR JR, WELCH GN, FABIAN AJ, FREEDMAN JE, JOHNSON JL, KEANEY JF JR, LOSCALZO J. Homocyst(e)ine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J Biol Chem.* 1997;272:17012-17017.
- 95.** GUO X, DUDMAN NP. Homocysteine alters monocyte-endothelial interaction in vitro. *Chin Med J (Engl).* 2003;116:34-38.
- 96.** BLOM HJ, KLEINVELD HA, BOERS GH, DEMACKER PN, HAK-LEMMERS HL, TE POELE-POTHOFF MT, TRIJBELS JM. Lipid peroxidation and susceptibility of low-density lipoprotein to in vitro oxidation in hyperhomocysteinemia. *Eur J Clin Invest* 1995; 25: 149-54.

- 97.** YILMAZ H, ISBIR S, AGACHAN B, ERGEN A, FARSAK B, ISBIR T. C677T mutation of methylenetetrahydrofolate reductase gene and serum homocysteine levels in Turkish patients with coronary artery disease. *Cell Biochem Funct.* 2006;24:87-90.
- 98.** SCHMITZ C, LINDPAINNER K, VERHOEF P, GAZIANO JM, BURING J. Genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase and myocardial infarction. A case-control study. *Circulation.* 1996;94:1812-1814.
- 99.** KLUIJTMANS LA, WHITEHEAD AS. Methylenetetrahydrofolate reductase genotypes and predisposition to atherothrombotic disease; evidence that all three MTHFR C677T genotypes confer different levels of risk. *Eur Heart J.* 2001;22:294-299.
- 100.** BROWN KS, KLUIJTMANS LA, YOUNG IS, MURRAY L, MCMASTER D, WOODSIDE JV, YARNELL JW, BOREHAM CA, MCNULTY H, STRAIN JJ, MCPARTLIN J, SCOTT JM, MITCHELL LE, WHITEHEAD AS. The 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism interacts with smoking to increase homocysteine. *Atherosclerosis.* 2004;174:315-322.
- 101.** RALLIDIS LS, GIALERAKI A, KOMPOROZOS C, VAVOULIS P, PAVLAKIS G, TRAVLOU A, LEKAKIS I, KREMASTINOS DT. Role of methylenetetrahydrofolate reductase 677C->T polymorphism in the development of premature myocardial infarction. *Atherosclerosis.* 2008;200:115-120.
- 102.** ALLURI RV, MOHAN V, KOMANDUR S, CHAWDA K, CHAUDHURI JR, HASAN Q. MTHFR C677T gene mutation as a risk factor for arterial stroke: a hospital based study. *Eur J Neurol* 2005;12:40-44.
- 103.** GORACY I, CYRYŁOWSKI L, KACZMARCZYK M, FABIAN A, KOZIARSKA D, GORACY J, CIECHANOWICZ A. C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene and the risk of ischemic stroke in Polish subjects. *J Appl Genet.* 2009;50:63-67.
- 104.** MUTCHINICK OM, LÓPEZ MA, LUNA L, WAXMAN J, BABINSKY VE. High prevalence of the thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase variant in Mexico: a country with a very high prevalence of neural tube defects. *Mol Genet Metab.* 1999;68:461-467.
- 105.** DÁVALOS IP, OLIVARES N, CASTILLO MT, CANTÚ JM, IBARRA B, SANDOVAL L, MORÁN MC, GALLEGOS MP, CHAKRABORTY R, RIVAS F. The C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in Mexican mestizo neural-tube defect parents, control mestizo and native populations. *Ann Genet.* 2000;43:89-92.
- 106.** ZÚÑIGA-NORIEGA JR, VELAZCO-CAMPOS MDEL R, AGUIRRE-RODRÍGUEZ A, VILLARREAL LM, GARZA-GONZÁLEZ E, MALDONADO-GARZA HJ, BOSQUES-PADILLA FJ. [C677T polymorphism of the MTHFR gene and the risk of developing distal gastric cancer in a Mexican population]. *Rev Gastroenterol Mex.* 2007;72:355-8.
- 107.** VAN DER PUT NM, ESKES TK, BLOM HJ. Is the common 677C->T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene a risk factor for neural tube defects? A meta-analysis. *QJM.* 1997 Feb;90(2):111-115.

- 108.** PAPAPETROU C, LYNCH SA, BURN J, EDWARDS YH. Methylenetetrahydrofolate reductase and neural tube defects. *Lancet*. 1996;348-358.
- 109.** SOHDA S, ARINAMI T, HAMADA H, YAMADA N, HAMAGUCHI H, KUBO T. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and pre-eclampsia. *J Med Genet*. 1997;34:525-526.
- 110.** STEVENSON RE, SCHWARTZ CE, DU YZ, ADAMS MJ JR. Differences in methylenetetrahydrofolate reductase genotype frequencies, between Whites and Blacks. *Am J Hum Genet*. 1997 ;60:229-30.
- 111.** BOTTO LD, YANG Q. 5, 10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: A HuGE review. *Am J Epidemiol*. 2000; 151: 862-77.
- 112.** DÁVALOS IP, MORAN MC, MARTÍNEZ-ABUNDIS E, GONZÁLEZ-ORTIZ M, FLORES-MARTÍNEZ SE, MACHORRO V, SANDOVAL L, FIGUERA LE, MENA JP, OLIVA JM, TLACUILO-PARRA JA, SÁNCHEZ-CORONA J, SALAZAR-PÁRAMO M. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and Factor V Leiden variant in Mexican women with preeclampsia/eclampsia. *Blood Cells Mol Dis*. 2005; 35:66-69.
- 113.** LIBBY P, THEROUX P. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation*; 2005;111: 3481-3488.
- 114.** YAMADA Y, ICHIHARA S, NISHIDA T. Molecular genetics of myocardial infarction. *Genomic Med* 2008;2:7-22.
- 115.** VOETSCH B, LOSCALZO J. Genetic determinants of arterial thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:216-229.
- 116.** RISSANEN AM, NIKKILA EA. Coronary artery disease and its risk factors in families of young men with angina pectoris and in controls. *Br Heart J* 1997;39:875-883.
- 117.** BENZE G, HEINRICH J, SCHUTLE H, RUST S, NOWAK-GOTTL U, TATARU MC, KOHLER E, ASSMANN G, JUNKER R. Association of the GPIa C807T and GPIIIa PIA1/A2 polymorphisms with premature myocardial infarction in men. *Eur Heart J* 2002; 23: 325-330.
- 118.** BENZE G, HEINRICH J, SCHULTE H, RUST S, NOWAK – GÖTTL U, TATARU MC, KÖHLER E, ASSMANN G, JUNKER R. Association of the GPIa C807 T and GPIIIa PIA1/A2 polymorphism with premature myocardial infarction in men. *Eur Heart J* 2002; 23: 325 – 330.
- 119.** BOJESEN S., JUUL K., SCHNOHR P., TYBIAERG-HANSEN A., B.ØRGE G. NORDESTGAARD et al. Platelet glycoprotein IIb/IIIa PIA2/PIA2 homozygosity associated with risk of Platelet glycoprotein IIb/IIIa PIA2/PIA2 homozygosity associated with risk of Copenhagen City Heart Study *J Am Coll Cardiol*. 2003;42;661-667.
- 120.** HERRMANN SM, POIRIER O, MARQUES-VIDAL P, EVANS A, ARVEILER D, LUC G, EMMERICH J, CAMBIEN F. The Leu33/Pro Polymorphism (PIA1/PIA2) of the Glycoprotein IIIa (GPIIIa) Receptor is not Related to Myocardial Infarction in the ECTIM Study. *Thromb Haemost* 1997; 77: 1179 – 1181.

**121.** ANDERSON JL, KING GJ, BAIR TL, ELMER SP, MUHLESTEIN JB, HABASHI J, CARLQUIST JF. Associations Between a Polymorphism in the Gene Encoding Glycoprotein IIIa and Myocardial Infarction or Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 727 – 733.