



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Tesis para obtener el grado de Especialista en Cardiología presenta:

DR. CARLOS CABRERA RAMÍREZ

ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO C677T DEL GEN DE LA ENZIMA 5,10 MTHFR (METILENO TETRAHIDROFOLATO REDUCTASA) Y DEL POLIMORFISMO 4G/5G EN EL GEN DEL INHIBIDOR DEL ACTIVADOR DEL PLASMINÓGENO-1 (PAI-1) EN PACIENTES CON CARDIOPATÍA ISQUÉMICA SIN LESIONES CORONARIAS

TUTORES:

M. en C. Dr. Eduardo Almeida Gutiérrez

Cardiólogo adscrito a la Unidad de Cuidados Intensivos Cardiovasculares
Hospital de Cardiología Centro Médico Siglo XXI. IMSS.
Universidad Nacional Autónoma de México

D. en C. Dra. Irma Isordia Salas

Investigador Titular B, Sistema Nacional de Investigadores Nivel II,
adscrito a la Unidad de Investigación Médica en
Hemostasia, Trombosis y Aterogénesis
Hospital General Regional Carlos McGregor Sánchez Navarro. IMSS.
Universidad Nacional Autónoma de México.

México, Distrito Federal, 15 de agosto de 2011.



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.

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DR. MOISÉS CUTIEL CALDERÓN ABBO

Director General
UMAE, Hospital de Cardiología
Centro Médico Nacional Siglo XXI

DR. MARTÍN HORACIO GARRIDO GARDUÑO

Director Médico
Profesor titular Del Curso de Cardiología
UMAE, Hospital de Cardiología
Centro Médico Nacional Siglo XXI

DR. JESÚS SALVADOR VALENCIA SÁNCHEZ

Director de Educación e Investigación en Salud
UMAE, Hospital de Cardiología
Centro Médico Nacional Siglo XXI

M en C. EDUARDO ALMEIDA GUTIÉRREZ

Unidad de Cuidados Intensivos Cardiovasculares
UMAE, Hospital de Cardiología
Centro Médico Nacional Siglo XXI

D en C. IRMA ISORDIA SALAS

Investigador Titular B, Sistema Nacional de Investigadores Nivel II,
adscrito a la Unidad de Investigación Médica en
Hemostasia, Trombosis y Aterogénesis
Hospital General Regional Carlos McGregor Sánchez Navarro. IMSS.
Universidad Nacional Autónoma de México.

DEDICATORIA

- A mi esposa Lorena, quien me sostiene cuando tambaleo hasta recuperar las fuerzas y continuar, por enseñarme y aprender conmigo, por tu amor y tu presencia, gracias mi amor.
- A mi hija Keila, quien ilumina permanentemente mi camino con sus sonrisas y sus travesuras.
- A mis padres (Carlos y Carmen) por darme la vida, por su ejemplo, dirección y sabiduría.
- Al Dr. Eduardo Almeida y a la Dra. Irma Isordia por la paciencia y el apoyo incondicional que me brindaron para que esta tesis saliera adelante.
- A mis familiares que partieron este año a una vida eterna y que desde el cielo guían nuestras vidas (Delfino, Josefina, Juan, Santiago, Francisco, Celso)

ÍNDICE	PÁGINAS
Antecedentes -----	7
Justificación -----	35
Preguntas de investigación -----	36
Hipótesis -----	37
Objetivos -----	38
Material y métodos -----	39
Diseño del estudio -----	40
Definición de casos -----	41
Definición de controles-----	41
Diseño muestral -----	42
Variables dependientes/independientes -----	43
Variables potencialmente confusoras -----	44
Descripción general del estudio-----	47
Análisis estadístico -----	52
Consideraciones éticas -----	53
Recursos -----	54
Cronograma de actividades -----	55
Anexos -----	56
Resultados-----	59
Discusión -----	62
Conclusiones -----	66
Tablas-----	67
Gráficas-----	75
Bibliografía -----	79

Resumen

Antecedentes:

La enfermedad arterial coronaria un problema de salud mundial y la primera causa de morbimortalidad. En nuestro País constituyó el 19.6% de los fallecimientos en el 2007. La manifestación clínica con más impacto social y biológico de esta enfermedad es sin duda el infarto agudo del miocardio. Mas del 90% de los pacientes con cardiopatía isquémica tienen lesiones aterosclerosas en las arterias coronarias epicárdicas, factores como estados de hipercuagulabilidad, espasmo coronario, embolismo coronario y la inflamación, por sí misma o en combinación podrían jugar un rol en la patogénesis del infarto miocárdico sobre todo en pacientes jóvenes. Poco se ha estudiado a cerca de los factores de riesgo que se relacionan a la disfunción endotelial manifestada por la presencia de flujo lento coronario, y lo escrito está en relación a los factores de riesgo clásicos, sin embargo en el mundo existen poco estudios de asociación con factores genéticos y en la población mexicana no existe alguno.

Objetivos: determinar la asociación del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10 MTHFR (metileno tetrahidrofolato reductasa) y del polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) en pacientes con cardiopatía isquémica sin lesiones coronarias.

Material y Métodos: Es un estudio de casos y controles observacional, longitudinal-retrospectivo analítico, ambilectivo. Se estudiaron a 101 sujetos con edad ≥ 18 años, cualquier género, cardiopatía isquémica demostrada por cuadro clínico y métodos inductores de isquemia con angiografía que demostró coronarias sin lesiones y con flujo coronario lento (flujo TIMI $< III$) en el Hospital de Cardiología de CMN SXXI de enero 2009 a Diciembre 2010; se incluyeron 120 controles sanos sin manifestaciones clínicas de cardiopatía isquémica. Se realizó genotipificación del polimorfismo C677T

del gen de la enzima 5,10 MTHFR (metileno tetrahidrofolato reductasa) y del polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) mediante técnica de reacción en cadena de la polimerasa-polimorfismos en la longitud del fragmento de restricción.

Resultados: La media de edad en isquémicos fué 59.2 años (\pm 45.5 – 72.7 años) vs. grupo control 50.01 (\pm 39.11 – 60.9 años), $p = <0.01$. Los factores de riesgos entre el grupo de isquémicos y controles fueron: tabaquismo (51.5% vs 20.8% OR 4.03 IC 95% 2.23-7.2, $p = <0.001$, hipertensos (89.2 % vs. 7.5%, OR 33.8 IC 95% 15-75, $p <0.001$, diabéticos (30.7% vs. 4.2 %, OR 10.18 IC 95% 3.7-27.4, $p <0.001$) y dislipidémicos (39.6 % vs. 25.8%, OR 1.88 IC 95% 1.06-3, $p = 0.02$. Genotipos PAI-1 isquémicos vs controles: 4G/4G= 9.9% vs. 22.5%, $p = 0.03$; 4G/5G= 44.6% vs. 41.7%, $p = \text{NS}$, 5G/5G= 45.5% vs. 35.8%, $p = 0.03$. Genotipos C677T: CC= 20.8% vs 23.3%, $p = 0.90$, CT 45.5% vs. 44.22%, $p = 0.90$, TT 33.4% vs. 32.5%, $p = 0.90$, sin encontrarse diferencia estadísticamente significativa en este último.

Conclusiones: podemos sugerir, que la variante 4G/4G del polimorfismo del PAI-1 representa un factor de protección este grupo de pacientes ya que se encuentra con menor frecuencia que los sujetos sanos. Mientras que la variante heterocigota 4G/5G y el polimorfismo (C677T) del gen de la 5,10 MTHFR, no se asocian a riesgo de cardiopatía isquémica no aterosclerosa.

Antecedentes

La cardiopatía isquémica constituye la principal causa de morbimortalidad en la mayor parte del mundo ⁽¹⁾.

La mayoría de los enfermos con cardiopatía isquémica tienen una etiología aterosclerosa, sin embargo, existen otras causas importantes de cardiopatía isquémica diferentes al proceso de la aterosclerosis; como la disfunción endotelial, ectasia coronaria, traumatismos, estados protrombóticos y enfermedades autoinmunes ^(2,3).

Los adultos jóvenes son una pequeña proporción de pacientes que sufren un infarto agudo del miocardio ⁽⁴⁾. Se estima que los pacientes jóvenes representan entre el 5 al 10% de todos los infartos miocárdicos ^(4,5). Los sobrevivientes del infarto agudo del miocardio se caracterizan por tener alta proporción de tabaquismo e historia de enfermedad arterial coronaria y baja proporción de diabetes mellitus e hipertensión ^(6,7). Otra característica distintiva de los pacientes jóvenes con infarto del miocardio es la alta proporción de arterias coronarias angiográficamente sin obstrucción aterosclerosa ⁽⁶⁾. Los mecanismos patogénicos exactos del infarto agudo del miocardio en pacientes jóvenes con arterias coronarias normales son poco conocidos. Es probable que sea resultado de múltiples mecanismos patogénicos ⁽⁸⁾. Se ha propuesto que la formación de trombos debido a ruptura de la placa vulnerable no obstructiva o debido a la erosión de la capa endotelial es el principal mecanismo. Además los estados de hipercoagulabilidad, espasmo coronario, embolismo coronario y la inflamación, por sí misma en combinación podrían jugar un rol en la patogénesis del infarto miocárdico en pacientes jóvenes ^(9,10).

Las células endoteliales (CE) son células altamente especializadas capaces de adaptar su estado funcional a estímulos diversos, por lo que el endotelio ejerce diversas funciones ateroprotectoras: regula la coagulación, la trombosis y el sistema fibrinolítico, modula la actividad de las células musculares de la capa media (tono

vascular/proliferación) y controla el tránsito de macromoléculas y células inflamatorias a la pared.

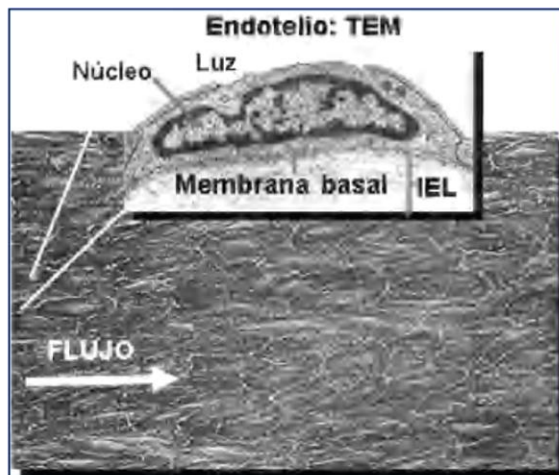


Figura 1. Imagen del endotelio vascular mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y de transmisión (TEM). El endotelio se apoya en la membrana basal y en la lámina elástica interna (IEL) y se alinea con la dirección del flujo sanguíneo. Las células endoteliales forman una monocapa de células conectada por uniones intercelulares específicas. Tomada de Badimón; Rev Esp Cardiol Supl. 2006;6:21A-30.

Cuando estas funciones son perturbadas (disfunción endotelial) se favorece el desarrollo de lesiones ateroscleróticas. Entre los estímulos fisiopatológicos que pueden causar disfunción endotelial destacan los valores de lípidos plasmáticos, en particular las lipoproteínas de baja (LDL) y muy baja densidad (VLDL). Las LDL se han involucrado en el aumento de permeabilidad y de adhesión celular, así como en la alteración de la producción de moléculas vasoactivas (óxido nítrico [NO], prostaciclina [PGI₂]), mientras que las VLDL parecen afectar sobre todo a la secreción de componentes del sistema fibrinolítico (activador del plasminógeno tisular [t-PA] y su inhibidor [PAI-I]).

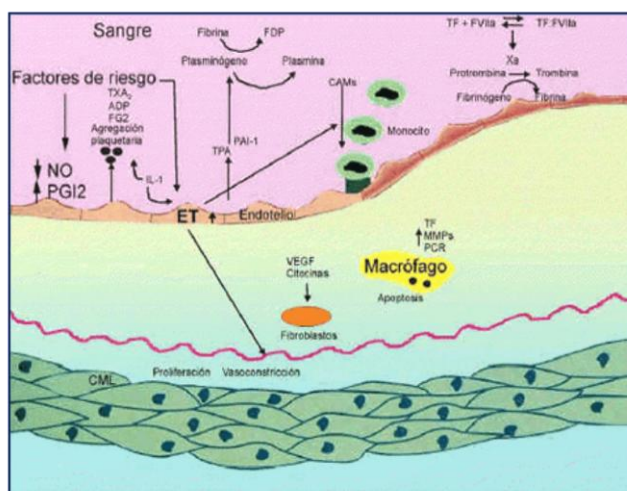


Figura 2. Disfunción endotelial avanzada. En la disfunción endotelial se produce vasoconstricción, las células endoteliales incrementan la expresión de VCAM e ICAM-1 que facilita la adhesión de monocitos y plaquetas a los vasos. Los mediadores inflamatorios causan apoptosis de las células endoteliales y las células musculares lisas, y producen proteinasas como las MMP-2 reguladas por las lipoproteínas oxidadas y las citocinas. Las MMP-2 contribuyen a activar la agregación plaquetaria, junto con los gránulos liberados por las propias plaquetas (TXA₂, ADP y FG₂). Las células apoptóticas liberan FT activado que desencadena la cascada de la coagulación. El FT interactúa con el FVII, activa el FX, que activa la conversión de protrombina a trombina. Finalmente, se genera fibrina que, junto con las plaquetas activadas, crean la estabilidad suficiente para la formación del trombo mural. El FT activado por los factores de riesgo sistémicos contribuye a la actividad procoagulante de las lesiones ateroscleróticas y a la formación del trombo. Sambola; Rev Esp Cardiol 2003; 56: 1001 – 1009.

La microvasculatura coronaria juega un papel pivote en determinar el aporte de oxígeno y de nutrientes al miocardio esto al regular la conductancia del flujo coronario y el transporte de las sustancias. Se ha analizado de manera directa la microvasculatura coronaria con esto se ha proporcionado una gran cantidad de conocimientos sobre la fisiología y las características farmacológicas de la circulación coronaria. Por lo tanto, muchos mediadores neurohormonales, afectan de manera directa el control microvascular coronario dependiente de endotelio (22).

Recientemente, el fenómeno de flujo lento ha cobrado más importancia y varios autores sugieren que se entienda como una entidad aparte. En un artículo publicado por Jun Li y colaboradores (11), se le catalogó como “*Síndrome de flujos coronarios lentos*” para diferenciarlo como una enfermedad separada (11).

El concepto de flujo lento coronario fué descrito en 1972, por Tambe en 6 pacientes con dolor precordial, esta entidad indica un fenómeno de flujo lento coronario en ausencia de alguna etiología. Este fenómeno es frecuentemente detectado durante

la angiografía coronaria de rutina, mientras es, aparentemente bastante diferente de la formas de flujo lento coronario con otras causas evidentes. El flujo lento coronario debe ser distinguido de la ocurrencia de flujo lento coronario en el contexto de terapia de reperfusión como angioplastia o trombolisis que está asociado con una fisiopatología e implicaciones clínicas diferentes. En general, el flujo lento coronario se observa en 1% de los pacientes con angiografía (12).

El flujo lento pancoronario es un hallazgo angiográfico, caracterizado por el retraso en la opacificación de la vasculatura distal y el aclaramiento lento del material de contraste a pesar de la presencia de arterias epicárdicas coronarias normales. Aunque los estudios de biopsia miocárdica han revelado la presencia de enfermedad microvascular en algunos pacientes que exhiben flujo lento coronario (13,14). La patología subyacente aún no está bien definida. El sistema de los vasos coronarios normales consiste de vasos epicárdicos largos que normalmente ofrecen una mínima resistencia intrínseca al flujo coronario y vasos intramiocárdicos pequeños (microcirculación), porque de estos pequeños diámetros y buen desarrollo de la media, depende la mayor fuente de resistencia vascular coronario (15).

Previamente, Beltrame et al (16), reportaron la presencia de un incremento en la resistencia de los vasos coronarios en pacientes con flujo lento coronario. Además, se ha reportado una mejoría en pacientes con flujo lento coronario usando Mibefradil (bloqueador de canales de calcio T) (17).

Se han realizado diferentes estudios con el fin de determinar la fisiopatología de esta enfermedad, la cual es aún desconocida, el estudio de Mosseri (14) y el de Mangieri (13) con especímenes de biopsias del ventrículo derecho e izquierdo, en el que mostró fibrosis, hipertrofia y anormalidades en los vasos sanguíneos pequeños consistentes en engrosamiento endotelial debido a edema celular, picnosis nuclear, daño capilar y diámetro luminal reducido.

Otros autores han notado espasmo microvascular dinámico, que se cree, es producido por la liberación intermitente de ciertos autacoides vasoactivos como el

neuropéptido Y, la endotelina 1 y el tromboxano A2 que median la vasoconstricción coronaria⁽¹⁶⁾. Recientemente se ha incriminado al óxido nítrico como el responsable de la disfunción microvascular. Sezgin y colaboradores ⁽²¹⁾, mostraron disfunción endotelial a través del método de medición de la vasodilatación mediada por flujo de la arteria braquial, respuesta mediada por el óxido nítrico.

Recientemente, se ha demostrado que en el flujo lento coronario tienen un incremento de los niveles plasmáticos solubles de las moléculas de adhesión, comparado con sujetos control con flujo coronario normal y sugieren que la activación endotelial microvascular coronario o la inflamación podrían jugar un rol en el desarrollo del flujo lento coronario ⁽²³⁾, además, Erbay et al ⁽²⁴⁾ y Barutcu et al ⁽²⁵⁾ han reportado que los pacientes con flujo lento coronario tienen niveles plasmáticos altos de homocisteína comparado con los sujetos control.

Yamashita et al ⁽²⁶⁾ demostraron una relación inversa entre el incremento de la homocisteína y la reserva de la velocidad del flujo coronario. Estos hallazgos han sido atribuidos al efecto deletéreo de la homocisteína en la microcirculación coronaria a través del estrés oxidativo ⁽²⁷⁾, se ha sugerido que la homocisteína es probablemente el principal agente microvasculopático y el principal en el deterioro estructural y funcional de la microcirculación coronaria. Todo esto ha sugerido una combinación entre obstrucción estructural y funcional en la microcirculación en pacientes con flujo lento coronario. En su reciente publicación, Binak et al. ⁽²⁸⁾ evaluaron la relación entre la tolerancia a la glucosa y el flujo lento coronario. En su estudio prospectivo, ellos examinaron 28 pacientes con flujo lento coronario con un grupo de 30 sujetos sanos con flujo coronario normal. El número de pacientes que reunieron el criterio de intolerancia a la glucosa se demostró de manera significativa en el grupo de pacientes con flujo lento coronario [(57%) vs (23%) respectivamente, $p=0.002$], ellos han sugerido que la intolerancia a la glucosa puede ser un factor etiológico independiente para el fenómeno del flujo lento coronario.



Figura 3. Funciones del endotelio en condiciones normales.

La diabetes mellitus es un factor de riesgo mayor para la enfermedad arterial coronaria (32). La diabetes tiene un efecto deletéreo en la función vascular, así incrementa el potencial para la vasoconstricción y la trombosis. Hay evidencia consistente que la disfunción vascular causada por la diabetes precede clínicamente a la enfermedad arterial coronaria (33, 34).

La disfunción endotelial y la inflamación subclínica son elementos claves en el desarrollo de las enfermedades cardiovasculares ateroscleróticas y son fuertemente relacionados con la resistencia a la insulina (35). Además que predicen el desarrollo de la diabetes tipo 2 (36). Algunos de los marcadores que indirectamente nos indican disfunción endotelial, son la PCRhs (proteína C reactiva de alta sensibilidad) relacionada con un estado proinflamatorio. Interesantemente, se ha considerado como predictor en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y diabetes mellitus tipo 2 (37,38). La interleucina 6 una citocina derivada del tejido adiposo se encuentra incrementada (39).

La elevación de las moléculas de adhesión circulante representa un estadio inicial en la aterosclerosis. Estas moléculas son producidas por lesión de las células endoteliales, activación y la adhesión de los leucocitos circulantes al endotelio ⁽⁴⁰⁾. Los niveles elevados de ICAMs (moléculas de adhesión intercelular), predicen el desarrollo de la diabetes tipo 2 ⁽³⁶⁾. El tejido adiposo de los individuos obesos, usualmente expresa un incremento de las proteínas proinflamatorias como el FNF (factor de necrosis tumoral) ^(34,42). Un incremento en el número de macrófagos en el tejido adiposo está positivamente asociado con el tamaño de la célula grasa ⁽⁴³⁾. Estos macrófagos están relacionados con citocinas proinflamatorias como interleucina 6 e interleucina 1 ^(40,41) otras proteínas proinflamatorias secretados por el tejido adiposo incluyen la sintetasa del ON (óxido nítrico), factor de crecimiento transformante -1, PCR (proteína c reactiva), sICAM (moléculas de adhesión intercelular) y proteína 1 quimioatrayente de los monocitos, o bien algunas proteínas como PAI-1 (inhibidor del activador del plasminógeno tisular), factor tisular (factor VII) ^(36,44). En las células endoteliales disfuncionales secretan una gran cantidad de tPA (activador del plasminógeno tisular), porque una gran cantidad circulan como complejos tPA/PAI-1 (activador del plasminógeno tisular/ inhibidor del plasminogeno tisular tipo 1).

El estudio de Beltrame, demostró que con frecuencia estos pacientes consultan por dolor precordial en reposo del tipo del síndrome coronario agudo (angina inestable o infarto agudo del miocardio) ⁽⁴⁵⁾. Lam y colaboradores ⁽⁴⁶⁾, demostraron que estos pacientes presentan evidencia objetiva de isquemia miocárdica por gammagrafía con talio ⁽⁴⁶⁾.

Uno de los estudios que más casos incluyó, se realizó por Carlos E. Uribe et al, siendo éste un estudio retrospectivo de 140 pacientes, encontrando una mayor frecuencia en hombres (75%), hipertensos (50.7%) y dislipidémicos (59%). El tabaquismo en el 36% de los pacientes. La presentación clínica inicial más frecuente, fue el síndrome coronario agudo con 60%, seguido por dolor torácico inespecífico en 35%. Un porcentaje importante (52%) de pacientes, presentaron hospitalizaciones previas por la misma causa (dolor torácico). La mayoría de los pacientes (74%) no presentaban enfermedad coronaria significativa (definida como >50%), lo que

concuenda con otras series antes publicadas y podría sugerir que esta entidad se trata de un síndrome aparte de la enfermedad coronaria, con un comportamiento diferente (47).

El tratamiento de los pacientes con flujos lentos coronarios no está aún bien determinado, siendo inefectivo en la mayoría de los casos, la terapia antianginosa típica es de poca ayuda, y los nitratos son inefectivos (17). El dipiridamol es uno de los tratamientos más efectivos en el síndrome de flujos lentos. Como es de esperarse, la nitroglicerina no produjo ningún efecto. Demirkol y colaboradores (49), también observaron mejoría en la perfusión miocárdica con la infusión de dipiridamol, usando perfusión miocárdica con SPECT.

Kurtoglu y colaboradores (50), evaluaron la terapia oral con dipiridamol a largo plazo y observaron que el flujo retornó a lo normal en la mayoría de los vasos evaluados. Esto se acompañó de mejoría en el dolor torácico en dos terceras partes de los pacientes evaluados.

El flujo lento coronario se ha visto en pacientes con ectasia coronaria (51), lo cual está de acuerdo con la ecuación de Hagen-Poiseuille, en la que se postula que la resistencia del flujo dentro de un tubo es inversamente proporcional al diámetro de éste.

La importancia de la hemostasia en la patogénesis del infarto agudo del miocardio ha sido firmemente establecido por hallazgos patológicos y angiográficos de trombosis coronaria y por el conocimiento de los niveles plasmáticos de las proteínas envueltas en los mecanismos hemostáticos (como fibrinógeno, factor VII, antígeno activador del plasminógeno tisular) están asociados con susceptibilidad o protección contra el infarto, especialmente en pacientes jóvenes (52, 53). Además, los antecedentes familiares de infarto miocárdico están bien establecidos como factor de riesgo cardiovascular en jóvenes (54, 55). Esto puede significar que hay un componente genético importante en estos pacientes.

Existen pocos estudios sobre el papel de la homocisteína en el desarrollo del infarto miocárdico prematuro (56,58).

La homocisteína es un aminoácido azufrado originado metabólicamente de la metionina, aminoácido esencial que, aparte de ser precursor y componente de péptidos y proteínas, desempeña una importante función metabólica al participar en un sistema de transferencia de grupos metilos. En la figura 4, se representa la secuencia de reacciones de este sistema. La metionina, luego de ser activada, cede su grupo metilo en una reacción catalizada por una metil-transferasa, y da lugar a la S-adenosilhomocisteína, la cual por hidrólisis de la adenosina se obtiene homocisteína libre.

La homocisteína es metabolizada fundamentalmente a través de 2 posibles vías: la remetilación y la transulfuración (117, 118,119).



Fig. 4 Metabolismo de la homocisteína

La vía de remetilación permite la recuperación de metionina (fig.4). Se trata de una reacción catalizada por la homocisteína metil-transferasa (también denominada metionina sintasa) y representa un punto metabólico con peculiaridades que le confieren singular importancia:

1. Posee características de ciclo metabólico con la participación de varios cofactores y enzimas.
2. Se produce una interesante interrelación entre cofactores derivados de vitaminas del complejo B, la vitamina B12, que en forma de metilcobalamina es el donante directo del grupo metilo a la homocisteína; la folacina, que en forma de N5-metiltetrahidrofolato sirve de fuente del grupo metilo para la formación de la metilcobalamina; y la vitamina B6, en la forma de fosfato de piridoxal (PLP), como cofactor en el proceso de regeneración del N5-metiltetrahidrofolato.

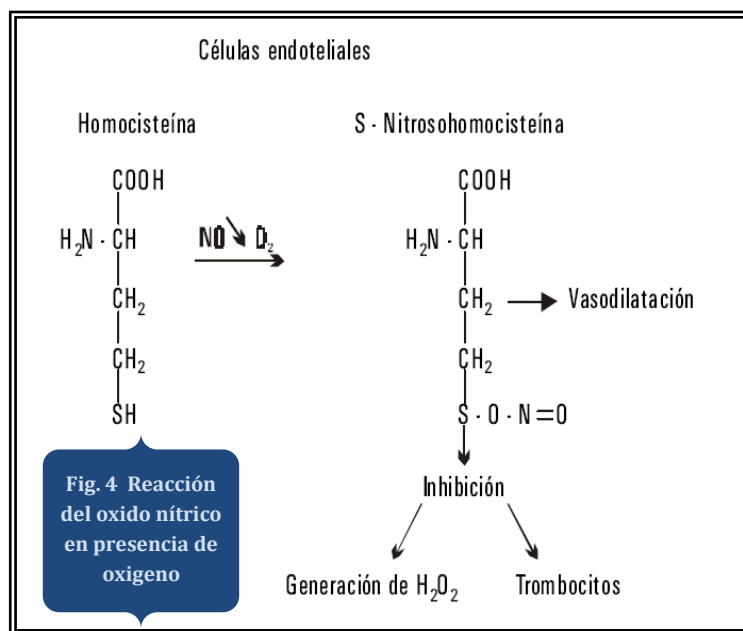
La vía de transulfuración representa la alternativa en el caso de que la metionina esté en relativo exceso en el organismo y no se requiera su recuperación, y permite la síntesis del aminoácido cisteína. En la figura 4, se representa la secuencia de reacciones de esta vía. Su reacción clave es la catalizada por la cistationina-sintasa, que tiene como grupo prostético al fosfato de piridoxal (PLP), derivado de la vitamina B6.

El grupo tiol le confiere a este metabolito la posibilidad de múltiples interacciones y por tanto diversos destinos (fig. 4). Por oxidación 2 moléculas de homocisteína se condensan mediante la formación de un puente disulfuro, y se obtiene así la homocistina.

La formación de puentes disulfuro puede ocurrir con otros metabolitos que posean grupo tiol, esto pasa fundamentalmente con la cisteína, y se obtienen disulfuros mixtos de homocisteína con cisteína libre o con restos de cisteína de péptidos y proteínas. A esta última variante se le conoce como homocisteína ligada a proteína

(117,118) la forma predominante de la homocisteína circulante (120). Otra posibilidad es que por pérdida de una molécula de agua se obtenga la tiolactona de homocisteína (118).

Aparte de estos destinos metabólicos descritos, resulta de interés una vía específica en células endoteliales que implica al óxido nítrico (122). Este interesante mensajero químico en presencia de oxígeno reacciona con el grupo sulfhidrido de la homocisteína y forma la S-nitroso homocisteína, y así se bloquean las posibles reacciones de ese grupo (Fig. 5)



Daño oxidativo de la homocisteína

Durante la autoxidación de homocisteína se generan potentes especies reactivas del oxígeno, como son el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno y el anión hidroxilo (117,118,122,123,121), los que a su vez pueden provocar disfunción endotelial, con el consiguiente daño de la pared vascular y sus graves consecuencias (regulación vasomotora alterada, cambio del fenotipo antitrombótico, activación y agregación plaquetaria, activación de la elastasa, aumento de la deposición de Ca^{2+} en la íntima arterial) y

peroxidación de los lípidos de las lipoproteínas plasmáticas, fundamentalmente de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), con la formación de hidroxicolesteroles altamente aterogénicos, la degradación de ácidos grasos poliinsaturados, la formación de lisolectina y la modificación aldehídica de los restos de lisina de la Apo B100, con los consiguientes efectos citotóxicos y aterogénicos (124,125).

Los niveles elevados de homocisteína demuestran un incremento en el riesgo de:

- Aterosclerosis que trae consigo Infarto agudo del miocardio o evento vascular cerebral.
- Trombosis venosa.

En 1962, se informó que personas con una rara condición genética llamada cistinuria eran propensas a desarrollar graves enfermedades cardiovasculares en la adolescencia y a los 20 años. En esta condición, una enzima defectuosa causaba una acumulación de homocisteína en sangre, resultando en niveles altos. Estudios en niños con homocistinuria llevó al descubrimiento de que los niveles altos de homocisteína eran factor de riesgo para desarrollar aterosclerosis y trombosis tanto arterial como venosa.

La evidencia sugiere que el acoplamiento de la eNOS juega un papel clave en mantener el equilibrio redox (reducción-oxidación) vascular (93). La evidencia sugiere que la presencia del alelo T está asociado con niveles plasmáticos menores de 5MTHF y mayores de homocisteína total (94), comparado con otros genotipos. La expresión de MTHFR puede variar en diferentes tipos celulares (95).

El hallazgo de que la homocisteína vascular afecta la generación de superóxido en arterias humanas por la modulación de la actividad NADPH-oxidasa es consistente con observaciones previas en cultivos celulares, se ha demostrado que la incubación de monocitos con homocisteína incrementa la actividad de la oxidasa de NADPH porque afecta la fosforilación enzimática de las subunidades de p47 phox y p67 phox,

umentan su traslocación a las membranas celulares ^(96,97). Sin embargo el efecto de la homocisteína vascular en la actividad de la oxidasa de NADPH no lleva necesariamente a disminución del óxido nítrico y disfunción endotelial.

Recientemente, Marcucci et al. ⁽¹⁰⁰⁾ reportaron que la homocisteína tenía una correlación positiva con el factor tisular y el inhibidor del factor tisular, y fué asociado con un incremento en la activación de la cascada de la coagulación en enfermedades cardiacas isquémicas.

Los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad cardiaca isquémica inducidos por la homocisteína se consideran que incluye: disfunción endotelial, activación plaquetaria, desórdenes de la hemostasia, sin embargo pocos estudios han evaluado la asociación entre homocisteína y el sistema hemostático ^(100, 101, 102). Muchos investigadores han reportado que el infarto miocárdico en pacientes jóvenes se presentan con menos lesiones ateromatosas por arteriografía que en pacientes de edad avanzada. Los factores no ateroscleróticos como la hipercuagulabilidad, podrían contribuir a la patogénesis en jóvenes con infarto miocárdico ^(98,99) por lo tanto, en un principio los pacientes con infartos miocárdicos, son los sujetos de estudio más adecuados para evaluar la asociación entre homocisteína y el sistema homeostático. (Fig. 5)



Figura 5: La homocisteína induce disfunción endotelial al bloquear la síntesis de óxido nítrico. Además, al oxidarse libera radicales libres que lesionan las membranas de las células endoteliales.

El incremento de la homocisteína plasmática se ha reportado que es un factor de riesgo cardiovascular en pacientes jóvenes (74, 105). Recientemente Nikfardjam et al. (58) demostraron que el infarto miocárdico se asocia con hiperhomocisteinemia en 97 pacientes con cardiopatía isquémica prematura, incluyendo 57 con infarto miocárdico previo. Foody et al. (105) encontraron que la combinación de hiperhomocisteinemia e hiperlipoproteinemia asociado con enfermedad cardíaca isquémica prematura en mujeres.

La función anormal en la hemostasia es importante en la patogénesis de la enfermedad cardíaca isquémica en hiperhomocisteinemia (100, 101,106).

La homocisteína promueve la actividad procoagulante por inducción de la expresión del factor tisular en las células endoteliales y los macrófagos in vitro (107, 108).

Por lo tanto la homocisteína induce elevación del factor tisular el cual podría contribuir a la activación extrínseca de la cascada de la coagulación y pueden contribuir a la patogénesis del infarto miocárdico. Aunque el mecanismo inducido por la homocisteína en la elevación del factor tisular permanece incierto, la expresión del factor tisular podría causar un daño directo de endotelio mediado por homocisteína (109).

Función de la enzima metileno tetrahidrofolato reductasa (MTHFR)

Al principio de 1970, Kutzbach y Stokstad purificaron la MTHFR en el mamífero (129) .

La enzima MTHFR juega un papel fundamental en el ciclo de los folatos, es la principal actora en la regulación de la concentración de metionina y homocisteína dependiente de folatos (130).

La enzima 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa (FADH (2)) es una flavoproteína, miembro de la familia MTHFR (EC 1.5.1.20). Y consiste en dos subunidades idénticas de aproximadamente 70 kDa (131). La enzima contiene una región catalítica N-terminal con los siguientes factores determinantes:

1. De la unión del binucleótido flavin-adenina (referida como “5,10- metilentetrahidrofolato reductasa (FADH₂)” 1.7.99.5 (132)
2. Para la unión del fosfato dinucleótido nicotinamida-adenina (referido como “metilentetrahidrofolato reductasa ([NAD(P)H] 1.5.1.20 (133)
3. Para la unión de 5,10-metilentetrahidrofolato. El elemento C-terminal se une de su inhibidor S-adenosilmetionina (134).

Aplicaciones clínicas de los polimorfismos

La palabra polimorfismo proviene del griego y significa que posee varias formas diferentes, el polimorfismo genético es la variación estructural o funcional encontrada entre miembros de una misma especie (24), el cual se presenta en lo general, en regiones genéticas que codifican para regiones estructurales básicas de las proteínas, dicha variación ocurre en más del 5% de la población general; estos polimorfismos ocasionan alteraciones en las funciones de las proteínas traduccionales.

Hoy los antecedentes genéticos de una persona son considerados importantes en todos los aspectos de la medicina clínica, que van de la susceptibilidad a las enfermedades, la patogénesis y los resultados clínicos a la diversidad en la respuesta

al tratamiento (farmacogenómica). La nueva vista panorámica del genoma humano ha estimulado una búsqueda masiva de información genómica relevante, incluyendo polimorfismos de nucleótido único (SNP) que consisten en sustituciones de nucleótidos por otro en una secuencia del DNA.

La mayoría de los polimorfismos no tienen efecto sobre el fenotipo (caen en regiones no codificantes y son completamente neutrales).

La presencia del polimorfismo en el gen de MTHFR, una sustitución C3T en los pares de bases 677 que producen un cambio de alanina a valina, como se muestra en la figura 6, fué identificado por Frosst et al ⁽⁶⁵⁾ en 1995.

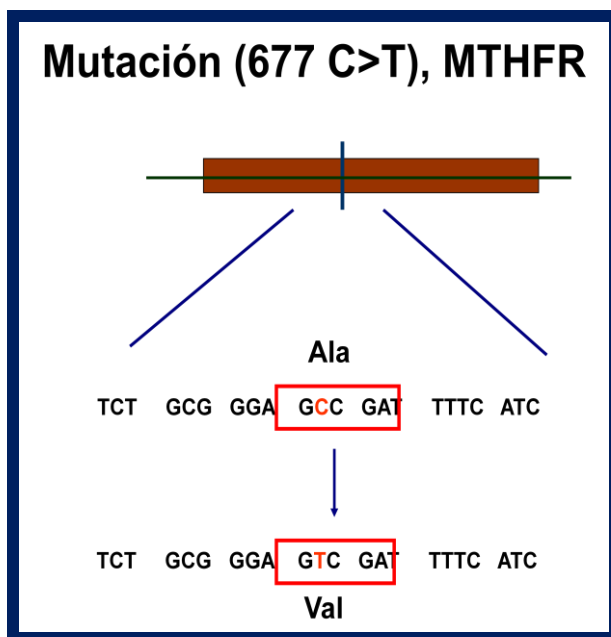


Fig. 6 Mutación (677 C>T), MTHFR

Las variaciones en la función de la MTHFR dada por la presencia del polimorfismo en el gen que codifica para esta enzima se localizan en el brazo corto del cromosoma 1 en la posición 36.3 desde el par de base 11,769,246 hasta el par de base 11,788,568 sobre el cromosoma 1 ⁽¹²⁷⁾ y se relaciona con múltiples patologías que afectan al ser humano desde la embriogénesis y a lo largo de toda la vida (Fig. 7)

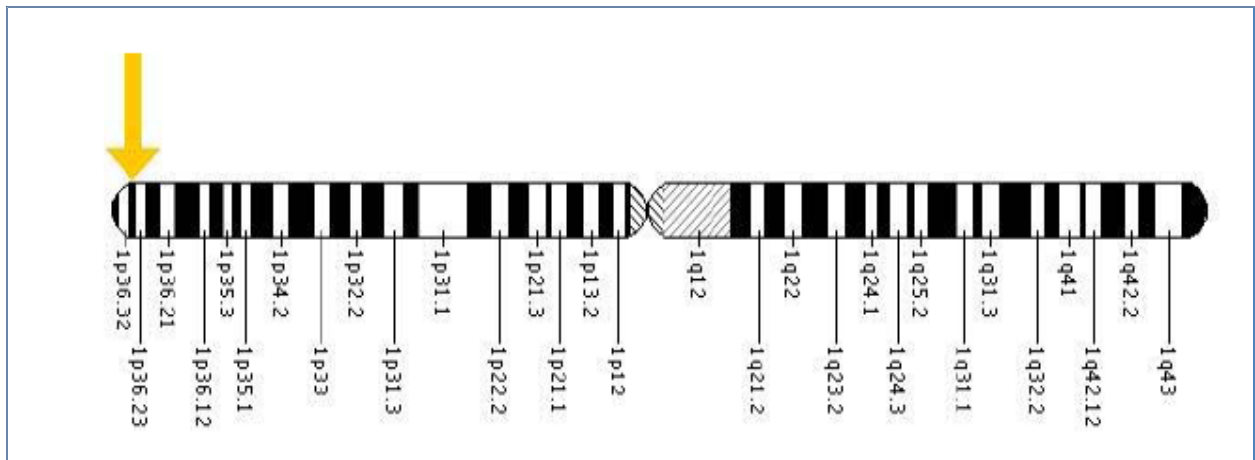


Fig. 7 El gen de la MTHFR se localiza en el brazo corto del cromosoma 1 en la posición 36.3, desde el par de base 11, 769,246 hasta el par de base 11, 788,568 sobre el cromosoma 1.

El polimorfismo C677T del gen de la MTHFR tiene una prevalencia relativamente alta en todo el mundo, y muestra una distribución heterogénea en diferentes grupo étnicos, la cual oscila entre 2 a 54.5% (128).

Existe fuerte evidencia que las mediciones de hiperhomocisteinemia en el rango encontrado en el genotipo TT, es un factor de riesgo de enfermedad aterosclerótica y trombotica cardiovascular (59, 60, 61, 63).

El estudio Hordaland (66) el más grande de los estudios de base poblacional (7591 hombres y 8585 mujeres, entre 40 a 67 años) de la relación entre homocisteína plasmática y factores de riesgo establecidos para enfermedad cardiovascular, ha proporcionado importantes datos relacionados con esta cuestión. Este estudio demostró que la homocisteína plasmática elevada fué fuertemente y positivamente asociada con un componente mayor del perfil de riesgo cardiovascular, el sexo masculino, la edad, tabaquismo, presión arterial, colesterol total elevado y la falta de ejercicio.

La función renal es un determinante mayor de la concentración plasmática de homocisteína, porque hay una fuerte correlación positiva entre los niveles plasmáticos de homocisteína y creatinina sérica tanto en sujetos sanos y pacientes con enfermedad cardiovascular (59, 62, 67, 68).

Existen datos contradictorios sobre la asociación entre el polimorfismo de la MTHFR (metilenotetrahidrofolato reductasa) C677T y el riesgo de enfermedad coronaria (69, 70, 71). Un metanálisis (72) de casos y controles observacionales informaron un incremento en el riesgo de enfermedad coronaria de las personas con el genotipo MTHFR 677TT, mientras que otro meta-análisis más tarde (73) no apoyó esta asociación en Europa, América del Norte y Australia.

Otros estudios que investigan el rol del polimorfismo de la MTHFR 677C-T en enfermedad arterial coronaria encontraron datos contradictorios (74). Tres de ellos encontraron una asociación del homocigoto TT con enfermedad arterial coronaria prematura (74,75), mientras que otros tres fueron negativos (76), estas discrepancias podrían deberse a aspectos metodológicos.

Existen antecedentes en nuestra población mexicana relacionados al estudio de polimorfismos, publicado por la Dra. Isordia y cols, (126), cuyo objetivo del estudio fue examinar la posible asociación del polimorfismo del C677T con la presencia de infarto miocárdico con elevación del segmento ST, en sujetos jóvenes mexicanos. Este fue un estudio de casos y controles, en donde se incluyeron 167 de pacientes no relacionados menores de 45 años con diagnóstico de infarto miocárdico con elevación del segmento ST que fueron ingresados a la unidad de cuidados intensivos cardiovasculares y 167 de pacientes controles no relacionados por edad y género, fueron reclutados de enero de 2006 a junio de 2009, el polimorfismo C677T fue determinado en todos los pacientes, la conclusión fue que el genotipo TT del gen C677T de la 5,10 MTHFR no es un factor de riesgo independiente para infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST en la población mexicana.

En el estudio, "Methylenetetrahydrofolate Reductase Genotypes and Early-Onset Coronary Artery Disease" se evaluó la relación entre el polimorfismo MTHFR y enfermedad arterial coronaria en pacientes con edad de 45 años en el momento de inicio de enfermedad arterial coronaria, (91) los resultados fueron similares a los obtenidos por Gallagher et al (85) y Kluitmans et al en las poblaciones irlandesas y holandesas, respectivamente, demostrando que la mutación TT es un significativo

factor de riesgo para el inicio muy temprano para enfermedad arterial coronaria en la población israelí.

Polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1).

El endotelio ejerce un papel central en la regulación de la hemostasia ya que aporta importantes elementos de los sistemas de coagulación, trombosis y fibrinólisis del organismo. Además de NO (óxido nítrico) y PGI₂ (prostaglandina I₂), las células endoteliales producen trombomodulina, moléculas con actividad heparina-*like* y ADPasa, que hidrolizan el ADP (agregante plaquetario). Como agentes protrombóticos secreta PAF (factor activador de plaquetas), moléculas de adhesión para las plaquetas (como factor Von Willebrand, fibronectina y trombospondina) y factores de coagulación (como el factor V) y en respuesta a distintos factores fisiopatológicos expresa factor tisular.

El endotelio también regula la fibrinólisis, ya que produce activador del plasminógeno tisular (t-PA), Urocinasa e Inhibidor-1 de la t-Pa (PAI-1); como lo muestra la figura número 8. La biosíntesis de estas moléculas se ven alteradas por los lípidos plasmáticos, particularmente por las VLDL, que ejercen su acción a través de un elemento de respuesta a VLDL presente en el promotor del gen que codifica para el PAI-1. Este efecto de las VLDL se incrementa si éstas proceden de individuos con hipertriglicerinemias. La susceptibilidad individual a la alteración de esta función endotelial por la hipertriglicerinemia parece ligada a la presencia de ciertas variantes polimórficas en el gen del PAI-1, como el polimorfismo *Hind*III que se ha asociado con diferencias en la actividad y la capacidad de las VLDL de modular la producción de PAI-1.

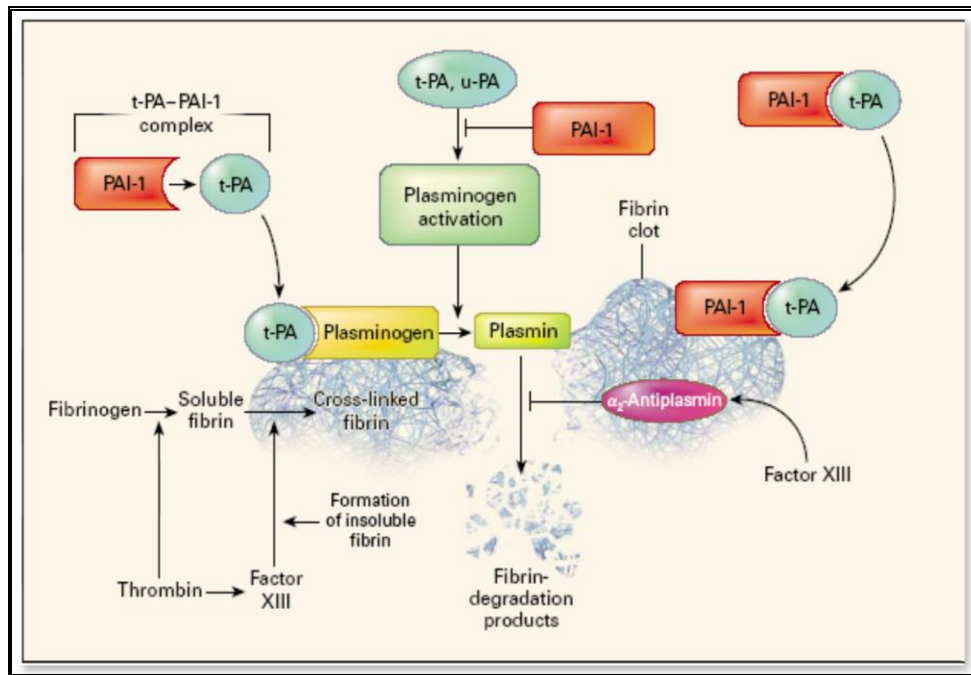


Fig. 8 Regulación de la fibrinólisis mediada por el endotelio vascular

PAI-1 es una glicoproteína de 50 kDa que está conformada por 359 aminoácidos, pertenece a la superfamilia de las serpinas (inhibidoras de serina proteasas) que la conforman aproximadamente 40 miembros cuyas funciones principales son de inhibición. El inhibidor 1 del activador de plasminógeno (PAI-1) es el principal inhibidor de los activadores de plasminógeno. Se sintetiza y es secretado por las células endoteliales, hepatocitos y plaquetas ⁽¹³⁵⁾. Es un reactante de fase aguda y su concentración plasmática se incrementa por estímulos inflamatorios mediados por la IL-1 y el FNT-alfa ⁽¹³⁶⁾.

El gen que codifica a esta proteína se denomina serpine 1 y se localiza en el brazo largo del cromosoma 7 (7q21.3-q22) (fig. 9). Este gen está constituido por 15 exones y puede presentar cinco isoformas. El SNP más estudiado consiste en la presencia de 4 Guaninas ó 5 Guaninas (4G/5G) en la posición – 675 del gen ⁽¹³⁷⁾.

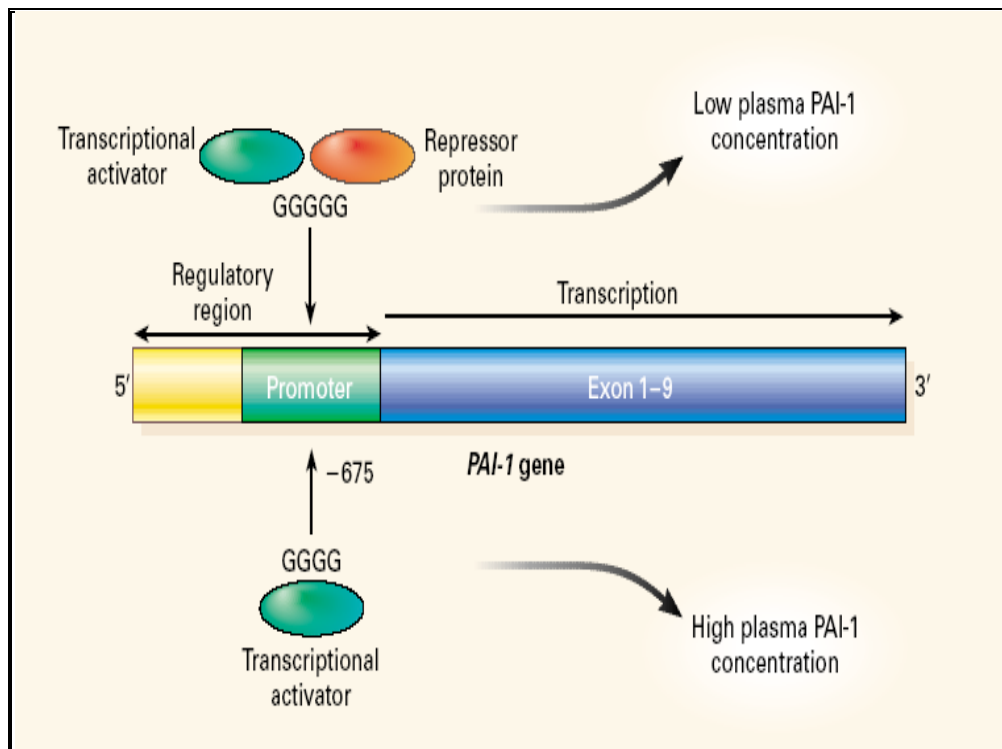


Fig. 9 Gen que codifica el IPAI 1 se localiza en el brazo largo del cromosoma 7.

PAI-1 presenta tres conformaciones diferentes, las cuales además son interconvertibles entre sí: a) una conformación activa con propiedad inhibitoria (forma un complejo covalente estable con la proteína uPA), b) una conformación de sustrato, y c) una conformación latente no reactiva. Inicialmente PAI-1 es sintetizada en su conformación activa pero cambia espontáneamente a su conformación latente con una vida media de 1 a 2 horas (138-139).

Las interacciones de las células con su entorno son fundamentales para el buen funcionamiento e integridad de los tejidos, ya que éstos no solo están conformados por células sino que además contienen una red de componentes proteicos denominada matriz extracelular (MEC). La MEC es una estructura dinámica que está en constante remodelación (síntesis de nuevos componentes y degradación). Esta remodelación depende de varios mecanismos, como el sistema de activación plasminógeno/plasmina, el cual participa en la degradación de algunos componentes de la MEC, como la fibrina y algunas colágenas. Un componente importante de este sistema es la proteína PAI-1, encargada de regular dicho sistema, inhibiendo a la

plasmina y consecuentemente, evitando la degradación de la MEC. Algunas alteraciones en la regulación de este sistema se asocian a diversos procesos patológicos como fibrosis, trombosis y aterosclerosis, entre otras. PAI-1 es una proteína muy versátil, ya que además de inhibir la degradación de la MEC, interviene en otros procesos como angiogénesis y migración celular.

La proteína PAI-1 es importante ya que inhibe la degradación de la MEC mediada por plasmina, además de estar involucrada en un gran número de patologías como son diabetes tipo 2, trombo-embolia, hiperinsulinemia, hipertensión, hipertriglicerinemias, obesidad, fibrosis epitelial y cáncer ⁽¹⁴⁰⁻¹⁴¹⁾.

Activación de la plasmina a partir del plasminógeno para la remoción de coágulos sanguíneos.

Al existir lesiones en el endotelio del sistema vascular se activa el sistema de coagulación, el coágulo formado principalmente por fibrina debe ser posteriormente degradado por la plasmina. La plasmina deriva de otra proteína denominada plasminógeno que de forma natural está en el plasma sanguíneo. El plasminógeno es activado por los PAs (activadores del plasminógeno), entre ellos la serina proteasa uPA (activador del plasminógeno tipo Urocinasa) y tPA (activador del plasminógeno tipo tisular), los cuales efectúan una proteólisis parcial de la proteína para convertirla en plasmina activa ⁽¹⁴²⁾. La degradación de fibrina durante los procesos de remoción de coágulos sanguíneos es llevada a cabo principalmente por tPA, mientras que uPA degrada la MEC en tejidos sólidos ⁽¹⁴²⁻¹⁴³⁾. Por lo tanto, la activación del plasminógeno se lleva a cabo bajo dos esquemas, uno en donde principalmente actúa tPA y en el otro uPA.

De manera natural, tPA en el plasma sanguíneo tiene una actividad enzimática débil, pero esta actividad aumenta cuando existe la presencia de fibrina, es decir de un coágulo ⁽¹⁴⁴⁾. Esta actividad aumenta porque tPA tiene un dominio de unión específico a fibrina (uPA no lo tiene), el cual se puede unir a residuos de lisina de la región carboxilo

terminal, haciendo que la concentración de tPA aumente en el sitio donde se encuentra el coágulo.

Ha sido descrito la importancia pronóstica del SNP 4G/5G en diferentes procesos patológicos: en pacientes sépticos, Westendorp et al ⁽¹⁴⁵⁾ observaron que los sujetos con genotipo 4G/4G no son más susceptibles a la infección, sin embargo, los infectados tuvieron un riesgo 6 veces superior de desarrollar sepsis (OR 5.9, IC 95% 1.9-18). En pacientes politraumatizados, Menges *et al* ⁽¹⁴⁶⁾ describieron que el 84% de los pacientes homocigotos 4G/4G desarrollaron sepsis y más de la mitad no sobrevivieron. Además, las alteraciones de la coagulación pueden considerarse un factor de riesgo en los procesos isquémicos ⁽¹⁴⁷⁾. En pacientes cardiopatas el alelo 4G se asoció con niveles plasmáticos basales de PAI-1 más elevados. Además, la presencia de este alelo fue más frecuente en pacientes que padecieron infarto de miocardio ⁽¹⁴⁸⁾.

Niveles elevados del inhibidor del activador del plasminogeno tisular-1 (PAI-1), han sido demostrados en varios subgrupos con incremento en el riesgo de infarto miocárdico ⁽¹⁴⁹⁻¹⁵³⁾ y en sujetos admitidos con infarto agudo del miocardio ^(154,155). Niveles elevados de PAI-1 en admitidos con IAM son determinantes importantes en la reperusión que sigue a la terapia trombolítica ⁽¹⁵⁶⁻¹⁵⁸⁾ e infarto recurrente ⁽¹⁵⁹⁾.

El PAI-1 es una proteína de fase aguda y niveles incrementados de PAI-1 son encontrados durante la fase aguda del IAM ⁽¹⁵⁶⁾, después de la cirugía ⁽¹⁶⁰⁾ y en endotoxemia y/o septicemia ^(161,162). La IL-1, el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y factor de crecimiento transformante- β (TGF- β) estimula la producción del PAI-1 mediante las células endoteliales ^(92,89). Los niveles de PAI-1 ha sido asociado con incremento en las concentraciones de proteína c reactiva (CRP) ⁽⁸⁷⁾.

Los niveles de PAI-1 se han encontrado relacionados con el genotipo de tres polimorfismos en el gen del PAI-1 ^(85, 135, 77). El interés se ha centrado en el polimorfismo 4G-5G debido a la posición en el promotor importante del gen del PAI-1.

En el estudio de Arshia P. et al, demostraron niveles elevados de PAI-1 en sujetos con el genotipo 4G/5G, y niveles bajos en sujetos con genotipo 5G/5G ^(80- 85). Sin embargo no se ha encontrado relación entre los niveles de PAI-1 o genotipo en la presencia de ateromas, caracterizados por la angiografía coronaria. Un estudio describió una asociación entre la prevalencia del alelo 4G y la ocurrencia de infarto miocárdico en hombres jóvenes ⁽⁸⁰⁾, otros estudios no han encontrado una asociación del polimorfismo inserción-delección en la infarto agudo del miocardio ⁽⁷⁶⁾, un reciente metanálisis sugiere una débil asociación del genotipo 4G-4G e infarto miocárdico, particularmente en sujetos con riesgo alto ⁽⁶⁴⁾.

El estudio de Arshia et al, fué diseñado para explorar el potencial efecto del genotipo del PAI-1 en respuesta al estímulo de la fase aguda que se presenta en el IAM. No se observaron diferencias en los niveles de actividad del PAI-1 o antígenos entre los tres genotipos PAI-1 durante el curso del IAM o durante su seguimiento, aunque patrones similares fueron vistos a los ya reportados previamente (4G4G alto, 5G5G niveles bajos de PAI-1), los números de este estudio proveen un 80% de poder para detectar, en niveles del 5% , una diferencia de 26% en los niveles de antígenos del PAI-1 entre sujetos con genotipos 4G/4G y otros genotipos en la admisión. .

Polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1)

La variabilidad genética se refleja por cambios en las secuencias de DNA entre los individuos. Uno de los cambios genéticos más ampliamente estudiados es la variación de una sola base (SNP, del inglés single nucleotide polymorphism) en forma de inserción/delección. Estas variaciones pueden ocurrir en los intrones (regiones no codificantes de un gen), exones (regiones codificantes de un gen) o en las regiones promotoras (regiones reguladoras de la expresión de un gen). Dependiendo de la localización, las implicaciones funcionales son diferentes. De este modo, cambios en las regiones intrónicas pueden tener menos importancia clínica que aquellas localizadas en los exones o regiones promotoras.

Algunos estudios con diferentes grupos étnicos, como afro-caribeños ⁽⁶¹⁾, asiáticos ⁽⁸¹⁾, indios Pimas ⁽⁶⁰⁾ o japoneses ⁽⁵⁹⁾ han reportado frecuencias diferentes del alelo 4G al de los blancos no hispanos, así como diferencias en relación al genotipo 4G/5G a los niveles circulantes de PAI-1 ⁽⁶⁰⁾.

El genotipo 4G/5G ha sido relacionado con el riesgo de infarto miocárdico revisado en Boekholdt et al ⁽³¹⁾, muerte cardíaca súbita ⁽¹¹⁶⁾, trasplantes en pacientes con enfermedad coronaria ⁽¹¹⁵⁾ y reestenosis intrastent después del implante de stent ⁽¹¹⁴⁾. Los hispanos tienen índices de enfermedad cardíaca coronaria similar o inferior a los blancos no hispánicos ^(113,112, 104), aunque un reporte reciente no apoya este hecho ⁽¹⁰³⁾, los negros han aumentado la tasa de enfermedades cardiovasculares en relación a los no hispanos blancos ^(90,86).

Estudios clínicos indican que casi el 10% de los eventos coronarios agudos ocurren en pacientes menores de 45 años de edad, en quienes se ha estimado que el componente genético contribuye en un porcentaje que oscila entre un 20 y un 60% ⁽⁸⁵⁾. En estos individuos jóvenes, menores de 45 años con infarto agudo de miocardio (IAM) ⁽⁷⁸⁾ pareciera que existe una disminución de la actividad fibrinolítica del plasma, que podría ser un posible factor causal de los eventos coronarios agudos en esta población. Concentraciones plasmáticas elevadas del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) se asocian a eventos tromboticos ⁽⁴⁸⁾. Se ha descrito una asociación entre el polimorfismo 4G/5G en el gen de PAI-1 y el infarto agudo de miocardio con elevación del ST (IAMCEST) en pacientes jóvenes. Este polimorfismo consiste en la inserción/delección de una base guanina en la región promotora en la posición -675, que resulta en la presencia de los alelos 4G o 5G, y ejerce una acción reguladora sobre la concentración plasmática de PAI-1 ⁽⁸⁰⁾. Existen diferencias en la frecuencia de presentación del polimorfismo 4G/5G en la población mundial, lo cual se traduce en una variación en la concentración plasmática de PAI en las distintas poblaciones. El incremento de la concentración de PAI-1 en plasma se asocia a un aumento de mortalidad e IAM en sujetos menores de 45 años. Se ha publicado también que los individuos homocigotos para el alelo 4G (4G/4G) tienen concentraciones de PAI-1 más elevadas que los sujetos homocigotos para el alelo 5G (5G/5G) ⁽¹³⁷⁾.

Isordia y cols. ⁽¹⁸⁾, presentan los resultados de un estudio acerca de la relación entre el polimorfismo 4G/5G del gen del PAI-1 en pacientes jóvenes (edad \leq 45 años) con IAMCEST y su posible influencia en la regulación de la concentración plasmática de PAI-1. Para ello, se reclutaron a 127 pacientes consecutivos de edad \leq 45 años con IAMCEST ingresados a la Unidad de Cuidados Intensivos Cardiovasculares del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI (México), durante el periodo de enero de 2006 a marzo de 2007, y a 127 donantes de sangre, sin factores de riesgo cardiovascular (FRCV), que representan el grupo control del estudio. La determinación de la concentración plasmática de PAI-1 se hizo en muestras sanguíneas 6 semanas después del IAMCEST utilizando una técnica inmunoenzimática (ELISA) (Coaliza PAI-1, Chromogenix, Milán, Italia). La determinación genotípica se llevó a cabo en ADN obtenido de concentrado leucocitario utilizando técnicas de PCR.

Los hallazgos más importantes de este estudio son los siguientes:

- El genotipo más frecuente en el grupo de pacientes con IAMCEST fue el 4G/5G, tanto que el genotipo 4G/4G fue hallado en sólo el 7% de los casos.
- En el análisis multivariable de regresión logística para riesgo de IAM, la presencia del alelo 4G se asoció a un riesgo aumentado de infarto de miocardio (*odds ratio* [OR] = 2,29), pero éste fué menor que el asociado a factores de riesgo cardiovascular convencionales, como el tabaquismo, la hipertensión arterial y los antecedentes familiares de enfermedad coronaria.

En este estudio, las concentraciones más altas de PAI-1 ocurrieron en los sujetos con polimorfismo 4G/4G, las intermedias en los 4G/5G y las menores en los grupos 5G/5G.

Los sujetos homocigotos para 4G tienen concentraciones en sangre de PAI-1 mayores que los homocigotos para 5G. Los autores indican que el alelo 4G es un FRCV de desarrollo de IAMCEST en sujetos mayores de 45 años, y representa un riesgo moderado de IAM en personas con antecedentes de tabaquismo.

La conclusión final —en que se propone que el alelo 4G es un factor independiente de riesgo de IAMCEST en sujetos jóvenes, por lo que su identificación, al igual que la de otros factores, podría ser útil en estrategias de prevención primaria—.

En un pequeño estudio de casos y controles de infarto miocárdico en jóvenes hombres suecos ⁽⁸⁰⁾, el alelo 4G se encontró asociado a un incremento del riesgo de IM.

El estudio “The Physician’s Health Study” indicó que este polimorfismo no fue un factor de riesgo patogénico mayor para trombosis arterial y venosa entre los hombres de mediana edad de EU ⁽⁷⁶⁾. Una actividad plasmática elevada de PAI-I, ha sido reportada asociada con un alto riesgo para reinfarto en pacientes jóvenes sobrevivientes de IM ⁽¹⁹⁾. El estudio multidisciplinario prospectivo PLAT ⁽²⁰⁾, que se realizó para investigar las asociaciones entre las variables hemostáticas y eventos isquémicos en 953 pacientes con enfermedad aterosclerótica documentada, demostró que la aterosclerosis en pacientes con alto riesgo de eventos isquémicos se caracterizaron por incremento en la actividad del PAI-I. Además el estudio ECAT ⁽⁶¹⁾, que fue un estudio multicéntricos de 3043 pacientes con angina de pecho quienes fueron seguidos a 2 años, demostró que un incremento subsecuente en la incidencia de IM o muerte súbita se asoció con niveles elevados de PAI-I.

Naoharu et al ⁽⁷⁹⁾, evaluaron el polimorfismo 4G-5G del gen del inhibidor del plasminógeno tisular tipo I (PAI-I) en 500 sujetos, incluidos 148 controles normales, 23 sujetos con arterias coronarias normales, 28 sujetos con una respuesta paradójica a acetilcolina, 97 sujetos con angina de pecho y 204 sujetos con infarto agudo del miocardio, se evaluó el tiempo transcurrido entre el primer dolor anginoso y el inicio del síndrome coronario agudo en los grupos de angor estable y con IM. Los sujetos quienes desarrollaron síndrome coronario agudo dentro de los 2 meses al primer evento de angina de pecho fueron categorizados por tener una progresión rápida hacia el síndrome coronario agudo y los sujetos quienes tenían ángor estable por más de dos meses fueron categorizados dentro del grupo sin síndrome coronario agudo. Los sujetos con síndrome isquémico coronario agudo fueron más jóvenes (58.91 ± 0.3

años) comparados a los del grupo que no desarrollaron síndrome isquémico coronario agudo (62.0 ± 9.1 , $p=0.012$), la frecuencia del genotipo G/G del gen PAI-I fué bajo en el grupo con SCA (0.228) comparado con el grupo sin SCA (0.093) ($P=0.003$), múltiples análisis logísticos revelaron que a edades más tempranas ($P=0.028$ OR=1.03) y la presencia del genotipo 4G/5G+4G/4G del gen del PAI-I ($P=0.008$, OR 2.68) fué asociado al grupo que desarrolló SCA, se analizaron los niveles plasmáticos del antígeno PAI-1 en 78 sujetos, estos niveles fueron significativamente más bajos en el grupo que no desarrollo síndrome isquémico agudo vs. con síndrome isquémico agudo ($p=0.050$).

Sirgo et al ⁽⁸²⁾, presentan un estudio cuyo objetivo fué comprobar la hipótesis que el polimorfismo 4G/5G del Inhibidor 1 del Activador del Plasminógeno (PAI-1) desempeña un papel determinante en el pronóstico de la cirugía cardiaca. Este fué un estudio observacional y prospectivo basado en casos y controles. Se incluyeron un total de 150 pacientes sometidos a cirugía cardiaca con circulación extracorpórea, fué realizado en un hospital de tercer nivel, en el análisis genotípico se observó que el 17.6% de los pacientes eran homocigotos 4G/4G, el 52.7% heterocigotos y el 29.5% homocigotos 5G/5G, el genotipo 4G/5G no fué asociado con: bajo gasto posoperatorio, mortalidad ni recuperación funcional después de la cirugía. Los sujetos con el genotipo 4G/4G se asociaron de forma significativa a un mayor riesgo de complicaciones neurológicas (4G/4G 38.5% vs No-4G/4G 14.55, $p < 0.05$), (OR 3.5 CI 95% 1.39-8.8) y ventilación mecánica prolongada (4G/4G 34.5% vs No-4G/4G 15.65%, $p < 0.05$). Las conclusiones de este estudio fueron que el genotipo 4G/4G se asocia a un mayor riesgo de complicaciones neurológicas y ventilación mecánica prolongada.

A pesar de lo anteriormente expuesto, es de destacar que no existe en la literatura ninguna referencia que asocie el polimorfismo 4G/5G del gen del PAI-I en pacientes con cardiopatía isquémica sin lesiones aterotrombóticas y su posible influencia en la regulación de la concentración plasmática del PAI-I.

Justificación del Estudio

La cardiopatía isquémica es una de las principales causas de muerte y el mayor problema de salud pública en el mundo. Los cardiólogos estamos familiarizados con el fenómeno del flujo lento coronario, el cual se observa en 1% a 2% de las coronariografías realizadas en este hospital.

La disfunción endotelial juega sin duda un papel importante, en la génesis de las principales manifestaciones de la enfermedad vascular y aterosclerosis, dando como resultado un incremento en el riesgo de Infarto miocárdico.

En cuanto a la etiología del flujo lento pancoronario permanece aún incierto, en la bibliografía no hay reportes en relación a los polimorfismos C677T del gen de la enzima 5,10 metileno tetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y el polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) implicados en la patogenia de dicha patología por lo cual consideramos objetivos interesantes en este trabajo.

Es de importancia conocer los factores asociados a la cardiopatía isquémica no aterosclerosa, pues poco se sabe de la etiología de esta enfermedad, la cual llega a presentarse con complicaciones igual de severas que la cardiopatía isquémica con fisiopatología aterosclerosa, además aunado a esto se sabe que la disfunción endotelial es precursor en dichas lesiones aterosclerosas. En el presente estudio proponemos el estudio de polimorfismos no estudiados en lo que respecta a disfunción endotelial y cardiopatía isquémica.

Preguntas de investigación

¿Cuál es la frecuencia del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10 metileno tetrahidrofolato reductasa (MTHFR) en pacientes con cardiopatía isquémica sin lesiones aterosclerosas y en sujetos sanos?

¿Cuál es la frecuencia del polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) en pacientes con cardiopatía isquémica sin lesiones aterosclerosas y en sujetos sanos?

¿Cuál es la asociación y la magnitud de la misma entre el polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10 metileno tetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y la cardiopatía isquémica no aterosclerosas?

¿Cuál es la asociación y la magnitud de la misma entre el polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) y la cardiopatía isquémica no aterosclerosas?

¿Son factores de riesgo independientes para cardiopatía isquémica no aterosclerosas la presencia de los polimorfismos C677T del gen de la enzima 5,10 metileno tetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y del polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1)?

Hipótesis

1. Habrá una frecuencia significativamente mayor del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10 metilenotetrahidrofolato reductasa (MTHFR) en pacientes con cardiopatía isquémica no aterosclerosa en comparación con aquellos sujetos sanos.
2. Habrá una frecuencia significativamente mayor del polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) en pacientes con cardiopatía isquémica no aterosclerosa en comparación con aquellos sujetos sanos.
3. El riesgo de disfunción endotelial dado que se es portador de hipertensión, diabetes y dislipidemia será al menos 1.5 en sujetos con y sin cardiopatía isquémica no aterosclerosa.
4. La presencia de polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10 MTHFR será un factor de riesgo independiente de los factores de riesgo clásicos para el desarrollo de cardiopatía isquémica no aterosclerosa.
5. La presencia del polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) será un factor de riesgo independiente de los factores de riesgo clásicos para el desarrollo de cardiopatía isquémica no aterosclerosa.

Objetivos

1. Determinar la frecuencia del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10 MTHFR en pacientes con cardiopatía isquémica no aterosclerosa y en sujetos sanos.
2. Determinar la frecuencia del polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) en pacientes con cardiopatía isquémica no aterosclerosa y en sujetos sanos.
3. Estimar el riesgo de cardiopatía isquémica no aterosclerosa en pacientes con polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10 MTHFR comparados con sujetos sanos.
4. Estimar el riesgo de cardiopatía isquémica no aterosclerosa en pacientes con el polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) comparados con sujetos sanos.
5. Determinar si la presencia del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10 MTHFR es un factor de riesgo independiente de los factores conocidos para el desarrollo de cardiopatía isquémica no aterosclerosa.
6. Determinar si la presencia del polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) es un factor de riesgo independiente de los factores conocidos para el desarrollo de cardiopatía isquémica no aterosclerosa.

Material y métodos

El estudio se realizó en la Unidad de Cuidados Intensivos Cardiovasculares del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional siglo XXI, el análisis de los productos derivados de sangre se realizó en la Unidad de Aterosclerosis y Trombosis de la UMAE Hospital General Regional No. 1 Carlos McGregor Sánchez Navarro del IMSS.

Se obtuvieron de los registros hospitalarios a todos los pacientes que tuvieron diagnóstico por los médicos tratantes de cardiopatía isquémica (por cuadro clínico, electrocardiográfico y/o pruebas inductoras de isquemia) y que fueron sometidos a cateterismo cardiaco, de estos, el marco muestral fueron los pacientes que tuvieron arterias coronarias sin lesiones angiográficas (el procedimiento de rutina en el cateterismo se basó en inyecciones seriadas en la misma arteria y en diferentes proyecciones ya establecidas para cada una de las arterias, a fin de evitar omisiones de lesiones excéntricas, por lo tanto el diagnóstico angiográfico fué relativamente fácil al ser interpretados por expertos), éstos sujetos fueron citados, reclutados previa explicación del protocolo y firma de consentimiento informado. Los pacientes sanos fueron abordados en el banco de sangre al momento de acudir a donación sanguínea y se les explicó ampliamente el estudio y posterior a la resolución de todas sus dudas y firma de consentimiento informado se les tomaron muestras sanguíneas del volumen donado para su análisis especificado en el rubro de procedimientos. Esta población fué sujeta a un amplio protocolo de escrutinio para descartar enfermedades clínicas ya que se hizo un interrogatorio exhaustivo así como exploración física, además la sangre extraída fué analizada por protocolo del banco de sangre para la determinación de biometría hemática, química sanguínea, perfil de lípidos, panel viral para hepatitis y virus de la inmunodeficiencia humana, en base a este análisis de la población donante, existe una posibilidad mayor que sean sujetos que no tengan criterios de cardiopatía isquémica.

Diseño del estudio

CASOS Y CONTROLES.

- Observacional.
- Retrospectivo.
- Comparativo – Analítico
- Ambilectivo.

Metodología

Criterios de inclusión de casos

- Cualquier sexo
- Pacientes mayores de 18 años
- Diagnóstico de cardiopatía isquémica, ya sea aguda o crónica (diagnosticado por médico tratante en base a criterios internacionales ya establecidos mediante cuadro clínico, electrocardiograma y/o estudios inductores de isquemia o por perfusión miocárdica).
- Estudio angiográfico que demuestre que no existen lesiones aterosclerosas.
- Que tengan al menos tres generaciones previas raza mexicana.
- Que acepten de conformidad su participación en el estudio mediante consentimiento informado.

Criterios de exclusión de casos:

- Que durante el estudio se encuentre alguna cardiomiopatía en cualquiera de sus variedades
- La presencia de cualquier valvulopatía cardíaca.
- Que durante la revisión de los angiogramas se encuentre lesiones de al menos un vaso y que sea significativo.

Criterios de exclusión controles:

- El diagnóstico de algún proceso patológico después de haber sido incluido en el estudio.

Criterios de inclusión de controles

- Cualquier sexo
- Sujetos mayores de 18 años.
- Sin presentar patología, que se les haya realizado una valoración clínica y bioquímica para la exclusión de patología isquémica cardíaca.
- Que tengan al menos tres generaciones previas raza mexicana.
- Que acepten de conformidad su participación en el estudio mediante consentimiento informado.

Diseño muestral:

Para los casos se realizó un muestreo no probabilístico consecutivo de los enfermos que cumplieron los criterios de inclusión que fueron ingresados al Hospital de Cardiología Centro Médico Nacional Siglo XXI desde el mes de Enero de 2009 a Diciembre de 2010

Para los controles se hizo un muestreo no probabilístico consecutivo de los sujetos que fueron seleccionados por el personal médico como donadores de sangre.

- **Tamaño de la Muestra:**

- Se calculó el tamaño de la muestra en base a los antecedentes descritos en otras poblaciones (ya que en nuestra etnia no existen estudios de asociación con ésta patología); mediante el método para diferencia de proporciones, con un valor crítico (alfa) 0.05, poder estimado *a priori* 0.80 y un aumento del 20% de potenciales pérdidas, se determinó un tamaño de muestra de:
 - 240 casos
 - 241 controles

Dado que se propuso el presente estudio como una fase piloto para estudiar la posible asociación del polimorfismo en nuestra población, se realizó un corte para el análisis al tener reclutados 101 participantes en el grupo de casos y 121 en el grupo de controles.

Descripción de variables

Variable Independiente:

1. Polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10 MTHFR.

Definición conceptual: variación en la secuencia del DNA, en el gen de la enzima 5, 10 metilenotetrahidrofolato reductasa, una sustitución C3T en los pares de bases 677 que producen un cambio de alanina a valina.

Definición Operacional: es la presencia de la variación en la secuencia del DNA, en el gen de la enzima 5, 10 metilenotetrahidrofolato reductasa con la sustitución C3T en los pares de bases 677 que producen un cambio de alanina a valina

Tipo de Variable: cualitativa

Escala de Medición: nominal, dicotómica

Unidades de Medición: si/no

2.- Polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1)

Definición conceptual: consiste en la inserción/delección de una base guanina en la región promotora en la posición -675, que resulta en la presencia de los alelos 4G o 5G.

Definición Operacional: consiste en la inserción/delección de una base guanina en la región promotora en la posición -675, que resulta en la presencia de los alelos 4G o 5G.

Tipo de Variable: cualitativa

Escala de Medición: nominal, dicotómica

Unidades de Medición: si/no

Variable Dependiente:

1. Cardiopatía isquémica no aterosclerosa:

- a) *Definición Conceptual:* estado de desequilibrio entre el aporte y la demanda de oxígeno en tejido miocárdico que condiciona isquemia tisular sin existir lesiones aterosclerosas no obstructivas.

- b) *Definición Operacional:* es la presencia del estado de desequilibrio entre el aporte y la demanda de oxígeno en tejido miocárdico que condiciona isquemia tisular sin existir lesiones aterosclerosas no obstructivas.
- c) *Tipo de Variable:* cualitativa
- d) *Escala de Medición:* nominal, dicotómica
- e) *Unidades de Medición:* si/no

Variables Potencialmente confusas:

1. Edad:

- a) *Definición conceptual:* es el tiempo que ha transcurrido desde el nacimiento de un sujeto hasta el momento actual y que éste permanece con vida.
- b) *Definición operacional:* periodo de tiempo que ha vivido el paciente desde su nacimiento hasta el momento del estudio
- c) *Tipo de variable:* cuantitativa, continua.
- d) *Unidades de medida:* años

2. Género:

- a) *Definición conceptual:* es la expresión fenotípica de la presencia de cromosoma XY o XX (hombre o mujer respectivamente).
- b) *Definición operacional:* es la expresión fenotípica de la presencia de cromosoma XY o XX (hombre o mujer respectivamente).
- c) *Tipo de variable:* cualitativa, nominal
- d) *Escala de medición:* dicotómica, hombre/mujer.

3. Hipertensión Arterial Sistémica:

- a) *Definición Conceptual:* elevación de la tensión arterial sistólica arriba de 140mmHG o de la tensión arterial diastólica arriba de 90 mmHg en mediciones repetidas.
- b) *Definición Operacional:* es la presencia de diagnóstico previo o durante la revisión de cifras tensionales sistólicas igual o mayor a 140mmHg o diastólicas igual o mayor a 90mmHg en mediciones repetidas, o bien

cifras de tensión arterial normales pero bajo efecto de tratamiento antihipertensivo.

- c) *Tipo de Variable*: cualitativa
- d) *Escala de Medición*: nominal, dicotómica
- e) *Unidades de Medición*: si/no

4. *Diabetes Mellitus*:

- a) *Definición Conceptual*: elevación de la glucemia sérica igual o mayor de 126 mg/dL en ayuno de al menos 6 horas, o bien 200mg/dl o más a cualquier hora del día con presencia de síntomas.
- b) *Definición Operacional*: es la presencia del diagnóstico previo o durante la revisión de cifras de glucemia igual o mayor de 126 mg/dL en ayuno de al menos 6 horas, o bien 200mg/dl o más a cualquier hora del día con presencia de síntomas; o bien cifras normales de glucemia bajo tratamiento hipoglucemiante.
- c) *Tipo de Variable*: cualitativa
- d) *Escala de Medición*: nominal, dicotómica
- e) *Unidades de Medición*: si/no

5. *Dislipidemia*:

- a) *Definición Conceptual*: elevación de los niveles séricos de colesterol total arriba de 200mg/dL o de triglicéridos arriba de 160mg/dl, LDL mayor de 130mg/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 130mg/dl o HDL menor de 45 mg/dl en hombres y de 40 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

6. *Tabaquismo:*

- a) *Definición Conceptual:* consumo de cigarrillo en cualquier época de la vida de un cigarrillo/día al menos durante un año; o bien la exposición pasiva al humo de tabaco diariamente al menos un año.
- b) *Definición Operacional:* es la presencia del antecedente de haber consumido antes o actualmente cigarrillos en cantidad de uno al día por al menos un año, o bien el antecedente de exposición pasiva al humo producido por la combustión de cigarrillos al menos durante un año.
- c) *Tipo de Variable:* cualitativa
- d) *Escala de Medición:* nominal, dicotómica
- e) *Unidades de Medición:* si/no

7. *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 de un índice de masa corporal >25 pero menor a $30 \text{ m}^2\text{SC}$.
- c) *Tipo de variable:* cualitativa
- d) *Escala de medición:* nominal, dicotómica.
- e) *Unidades de medición:* si/no

8. *Obesidad:*

- a) *Definición Conceptual:* peso corporal secundario al acúmulo de tejido adiposo que confiere un índice de masa corporal $>30 \text{ m}^2\text{SC}$.
- b) *Definición operacional:* es la presencia de peso corporal secundario al acúmulo de tejido adiposo que confiere un índice de masa corporal $>30 \text{ m}^2\text{SC}$.
- c) *Tipo de variable:* cualitativa
- d) *Escala de medición:* nominal, dicotómica.
- e) *Unidades de medición:* si/no

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:

Para la inclusión de pacientes con cardiopatía isquémica no aterosclerosa se seleccionó de la lista de procedimientos de hemodinámica a los pacientes con diagnóstico de cardiopatía isquémica y que al examen angiográfico no se hayan detectado lesiones coronarias aterosclerosas; éstos pacientes fueron diagnosticados por médicos cardiólogos adscritos al Hospital de Cardiología Centro Médico Nacional demostrada por cuadro clínico, electrocardiográfico y algún estudio inductor de isquemia eléctrico o perfusorio.

Los sujetos sin cardiopatía isquémica se obtuvieron de base poblacional, invitándoles al estudio con previa firma de consentimiento informado.

Se analizó hacia atrás en el tiempo mediante interrogatorio directo y por búsqueda de expedientes, y se obtuvieron los datos demográficos, historia clínica y teléfono; se les invitó a participar, se firmó el consentimiento informado y finalmente se les citó para realizar:

TOMA DE MUESTRA SANGUÍNEA para análisis genético del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10 MTHFR y del polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1)

EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA SANGUÍNEA: Se extrajo de la vena antecubital 10 ml de sangre total en tubos conteniendo EDTA. Éste se centrifugó a 2500 g por 10 minutos. Posteriormente el plasma fué retirado cuidadosamente tratando de no perturbar la capa de células mononucleares (buffy coat) la cual fué transferida con una pipeta de plástico estéril a un tubo de plástico eppendorf estéril de 1.5 ml libre enzimas (RNasas y DNasas) y fué utilizado para la obtención de ADN. (fig. 10)



Fig. 10 Toma de muestra

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°C , hasta que fué utilizado para la amplificación de los segmentos correspondientes.

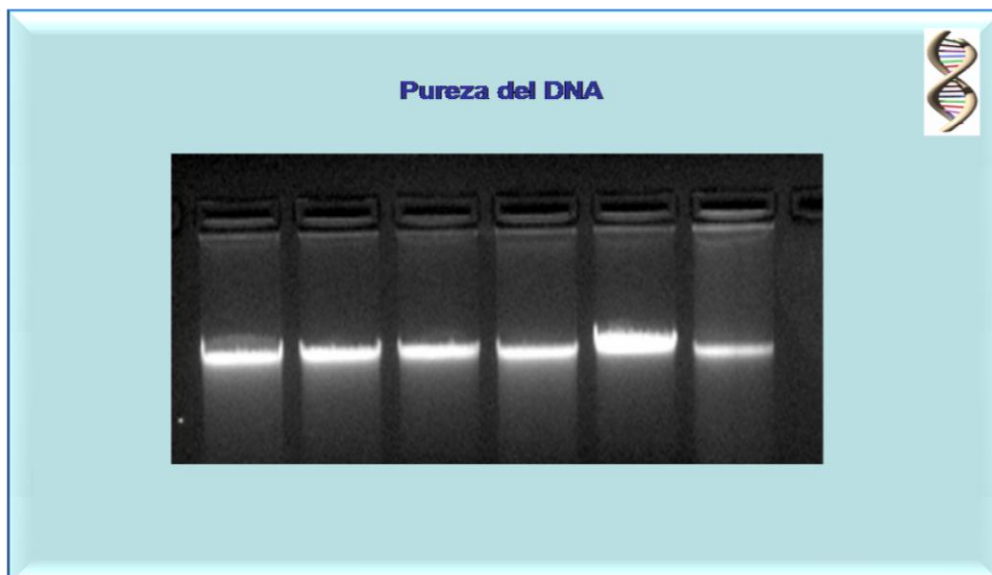




Fig. 11 Pureza del DNA

GENOTIPIFICACIÓN DE LA ENZIMA METIL-TETRAHIDROFOLATO REDUCTASA: Posterior a la extracción de ADN, se llevó a cabo la reacción de PCR con el uso de oligonucleótidos específicos (sentido) 5'- TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3) y (contrasentido) 5'- AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3'), así como el uso de 200 ng de ADN, 10 pmol de cada oligonucleótido, 0.2 mM de dNTP, 3 mM de cloruro de magnesio en un volumen final de 50 μ l y 1.0 U de pfu ADN polimerasa. Las condiciones térmicas consistieron en desnaturalización a 94°C alineación a 62°C por 20 seg., y extensión a 72°C por 20 seg. (30 ciclos). (Figura 12)

PCR



Oligonucleótidos específicos:

(sentido)
5'- CATGAGGCTCAGCCCCAGAAC-3'

(contrasentido)
5'- AGTCAATCCCTTTGGTGGTCAC-3'

Condiciones térmicas:

Desnaturalización a 94°C/30seg Alineación a 60°C/30seg. Extensión a 72°C/ 30 seg.	30 ciclos
--	------------------

Fig. 12 Genotipificación de la enzima metilnotetrahidrofolato reductasa

IDENTIFICACIÓN DE FRAGMENTOS POLIMÓRFICOS: El producto del PCR fué sometido a la acción de la enzima *Hinfl* por 16 horas a 37°C. Los productos obtenidos de la digestión fueron visualizados en un gel de agarosa al 2.5% y teñidos con bromuro de etidio. Cada paciente fué clasificado en uno de los tres genotipos CC, CT, TT.

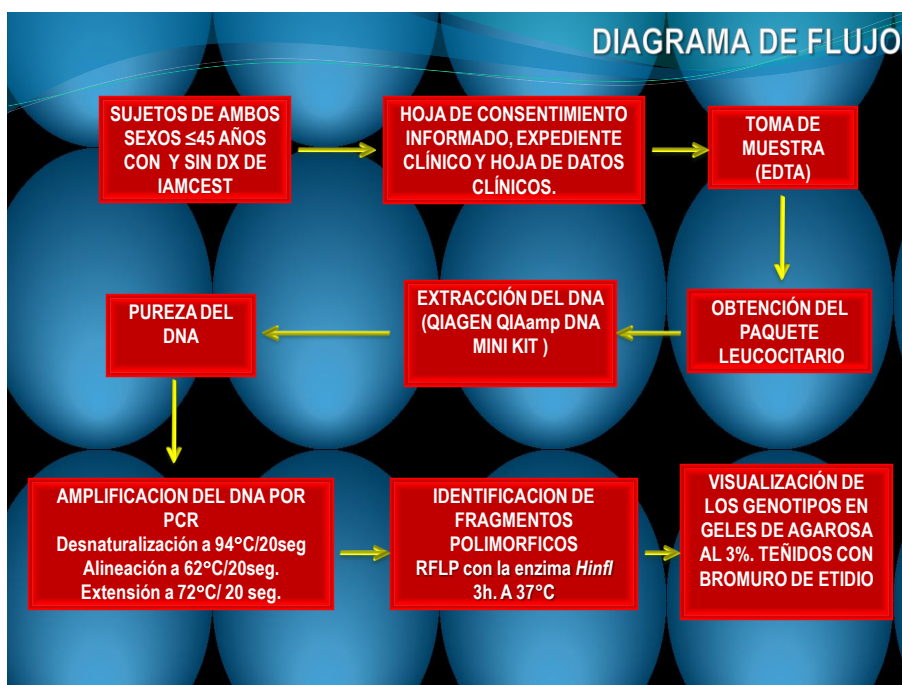
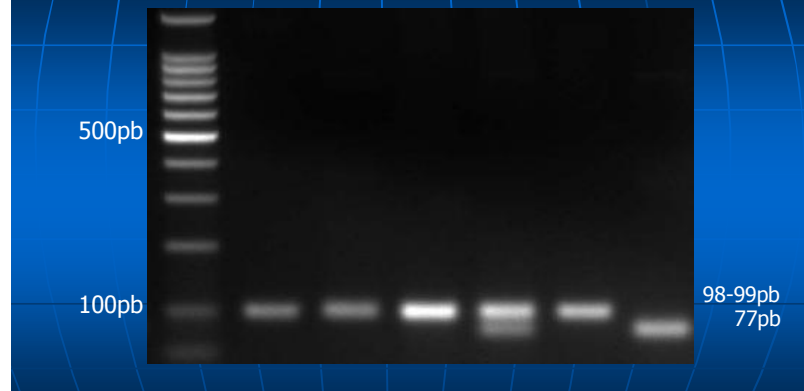


Fig. 13 Diagrama de flujo

GENOTIPIFICACIÓN DEL POLIMORFISMO POLIMORFISMO 4G/5G EN EL GEN DEL INHIBIDOR DEL ACTIVADOR DEL PLASMINÓGENO-1 (PAI-1) Posterior a la extracción de ADN, se llevó a cabo la reacción de PCR con el uso de oligonucleótidos específicos (sentido) (5'- CACAGAGAGAGTCTGGCCACGT-3') y contrasentido (5'- **CCAACAGAGGACTCTTGGTCT-3'**), así como el uso de 200 ng de ADN, 10 pmol de cada oligonucleótido, 0.2 mM de dNTP, 3 mM de cloruro de magnesio en un volumen final de 50 μ l y 1.0 U de pfu ADN polimerasa. Las condiciones térmicas consistieron en desnaturalización a 95°C por 1 min, alineación a 60°C por 1 min, y extensión a 70°C por 1 min. (30 ciclos). La amplificación de cada una de las reacciones será visualizada en un gel de agarosa mediante el siguiente patrón de bandas: 99bp antes y después de la restricción con la enzima de restricción Bsl I si la muestra es positiva homocigoto para el alelo 4G, dos bandas posterior a la restricción 99bp y 77 si la muestra es positiva para la presencia del polimorfismo 4G/5G y solo una banda posterior a la restricción de 77pb si la muestra es homocigoto para el alelo 5G.

IDENTIFICACIÓN DEL GENOTIPO DEL POLIMORFISMO 4G/5G DEL PAI-1



Línea 1= Marcador de peso molecular. Líneas 2,4 y 6 producto de PCR antes de la restricción por la enzima Bst I. Línea 3 homocigoto para el alelo 4G (4G/4G), línea 5 heterocigoto 4G/5G, línea 7 homocigoto para 5G (5G/5G).

Fig. 14 identificación del polimorfismo del genotipo del polimorfismo 4G/5G del PAI-1

Análisis estadístico:

Se realizó análisis exploratorio para determinar la distribución de las variables cuantitativas continuas con la prueba de Shapiro Wilk.

El análisis descriptivo se mostró con medidas de tendencia central y dispersión (media \pm desviación estándar) para las variables cuantitativas continuas; las variables cualitativas (nominales) se mostraron con el número absoluto y porcentaje (%).

El nivel α a usarse fué 0.05 mientras que el poder de la muestra estimado *a priori* de 0.80.

El análisis bivariado (contraste entre grupos) se llevó a cabo con X^2 para las variables nominales, y en el caso de frecuencia ≤ 5 se realizó prueba exacta de Fisher.

Para comparar las medias entre los grupos se usó t de Student para grupos independientes, y en el caso de distribución no semejante a la normal, se usó U de MannWithney.

Se realizó el cálculo de razón de momios con intervalo de confianza al 95%.

Para determinar el efecto de cada una de las variables independientes se realizó análisis multivariado mediante regresión logística binaria, el contraste de modelos fué mediante prueba de Hosmer-Lemeshow.

El criterio de entrada a la regresión es por antecedentes teóricos sólidos y también por criterio estadístico (entrada $p \leq 0.20$, salida $p > 0.05$).

Se analizó el equilibrio de Hardy Weinberg ya que se estudió la epidemiología genética.

Consideraciones éticas

Se trata de un estudio observacional (no existe una maniobra impuesta por el investigador).

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

Se habló con los pacientes para firmar una carta consentimiento informado (ver más adelante), explicando que los resultados genéticos serían otorgados solamente a ellos mismos siempre y cuando así lo soliciten y se buscó que esta información fuera 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 resto de material genético aislado sería almacenado en una genoteca.

Recursos

Físicos	HUMANOS
1. Expediente clínico	1. Investigador principal
2. Electrocardiógrafo	2. Tutores
3. Kit de PCR y equipo comercial (Qiagen QIAamp DNAMini Kit)	3. Cardiólogos clínicos
4. Hojas de recolección de datos	4. Personal de laboratorio
5. Material bibliográfico	5. Cardiólogos hemodinamistas
6. Material de Oficina	
7. Copiadora	
8. Teléfono y línea telefónica	
9. Computadora e impresora personal	
10. Paquete estadístico SPSS 17.0	

Cronograma de actividades

ACTIVIDADES	Mar-11	Abr-11	May-11	Jun-11	Jul-11	Ago-11
CORRECCION PROTOCOLO						
RECLUTAMIENTO DE PARTICIPANTES						
ESTANDIRIZACION DE PROCEDIMIENTOS						
ANALISIS DE DATOS						
PRESENTACION DE RESULTADOS Y PUBLICACION						

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI
HOSPITAL DE CARDIOLOGIA
CONSENTIMIENTO INFORMADO**

El presente instrumento tiene por objeto, formalizar y hacer constar el CONSENTIMIENTO INFORMADO, del paciente o representante legal para el protocolo de investigación titulado "Asociación del Polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10 MTHFR y del polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) en pacientes con cardiopatía isquémica sin lesiones coronarias".

El Suscrito _____
(Paciente, o en su caso, familiar o representante legal) con número de seguridad social (o identificación oficial) _____

Expreso mi libre voluntad para participar en el protocolo de estudio titulado "Asociación del Polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10 MTHFR y del polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) en pacientes con cardiopatía isquémica sin lesiones coronarias", para efecto de someterme a la realización de estudios que comprenden la obtención de muestras sanguíneas.

1. El Dr. Carlos Cabrera Ramírez y los doctores Eduardo Almeida Gutiérrez, Irma Isordia Salas, me han proporcionado la información completa sobre el procedimiento a realizar.
 - Que el objetivo de este estudio es reunir a una cantidad importante de pacientes con flujo lento coronario para determinar la prevalencia de los polimorfismos relacionados al proceso de la disfunción endotelial, con la finalidad de la búsqueda de alternativas de tratamiento para lograr ayudar y para mejorar la calidad de vida y salud en un futuro.
 - Que se me ha garantizado la salvaguarda de mi intimidad y confidencialidad de mis resultados.
 - También me han expuesto que de no aceptar mi participación, no afectará en ningún rubro mi atención dentro del sistema de salud al que pertenezco.
 - Que se me ha permitido externar todas las dudas que me han surgido derivadas de la información recibida, por lo que manifiesto estar enteramente satisfecho.
 - Que se me ha explicado los posibles riesgos que pueden presentarse durante la extracción de sangre venosa los cuales pueden consistir: lesiones venosas por punciones, hematomas o equimosis, infección en sitio de punción venosa, dolor en sitio de punción.
2. Ante la información proporcionada, expreso mi CONSENTIMIENTO LIBRE, ESPONTANEO Y SIN PRESION alguna para que se realicen los procedimientos requeridos.

México, Distrito Federal _____ de _____ de 2011

Nombre y firma del paciente, Familiar, o representante legal

Dr. Carlos Cabrera Ramírez

Nombre y firma del testigo

Nombre y firma del testigo

Hoja de recolección de datos

FOL	NOM	AFIL	EDAD	GEN	HAS	DM	DLP	TAB	TALL	PESO	DX	PRUEBA DX	COL	HDL	LDL	TG	GLU	ECO FEVI	PATRON DE LLENADO	CTT D2VI	CTT FEVI	GEN MTHFR	GEN PAI 1		

Resultados

En este estudio se incluyeron 101 pacientes con diagnóstico de cardiopatía isquémica sin lesiones coronarias visibles mediante angiografía y 120 sujetos controles en los cuales no se documentó enfermedad coronaria mediante exploración física, electrocardiograma y marcadores cardiacos. (Tabla 1)

La media de edad de los pacientes con isquemia fué de 59.2 años (\pm 45.5 – 72.7 años) mientras que la media de edad en el grupo control fué 50.01 (\pm 39.11 – 60.9 años), con diferencia significativa en ambos grupos con un valor de $p= <0.01$. En el grupo de los pacientes con isquemia 59 fueron de género femenino lo que representa un 58.4% y en el grupo de controles fueron 69 mujeres, lo que representa el 37.5%, sin observarse una diferencia significativa entre ambos grupos, $p=0.89$. (Tabla 1)

En cuanto a los parámetros antropométricos: en el grupo de pacientes isquémicos se determinó la media de la talla en 1.60 m (\pm 1.56 - 1.64 m), mientras que en los sujetos controles fué 1.62 m (\pm 1.58 - 1.66 m), $p=0.07$. La media del peso en el grupo de isquémicos fué 72.26 kg (\pm 53.24 - 91.28 kg) mientras que en el grupo control fué 76.9 kg (\pm 64.05 – 89.75 kg), $p=0.03$; en lo que respecta al índice de masa corporal (IMC), la media encontrada en el grupo de isquémicos fué 28.23 (\pm 20.99 – 35.47) y en los sujetos control fué 29.01 (\pm 25.11 – 32.91) con un valor de $p=0.30$. (Tabla 1)

En cuanto a los factores de riesgo cardiovascular clásicos, el tabaquismo actual en los pacientes isquémicos comparados con el grupo control hubo una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos, $p= <0.001$ (51.5% vs. 20.8%). Además, en el grupo de sujetos isquémicos se encontró una proporción significativamente mayor de sujetos hipertensos (89.2 % vs. 7.5%, $p<0.001$), diabéticos (30.7% vs. 4.2 %, $p<0.001$) y dislipidémicos (39.6 % vs. 25.8%, $p=0.02$) comparado con los sujetos control. (Tabla 1)

El promedio de la frecuencia cardiaca encontrada en sujetos con isquemia y flujo lento coronario fué de 71.7 ± 7.0 latidos por minuto, en cuanto a la cifras de presión

arterial sistólica el promedio fué de 123.4 ± 16.55 mmHg. El perfil de lípidos que se encontró en éstos sujetos se encuentra de la siguiente manera: colesterol total 189.12 ± 39.8 mg/dl, HDL 44.3 ± 8.69 mg/dl, LDL 103.05 ± 33.5 mg/dl, Triglicéridos 164.63 ± 60.90 mg/dl; Glucosa 113.91 ± 31.07 mg/dl. (Tabla 3)

El riesgo crudo de tener isquemia y flujo lento coronario dado que se tiene antecedente de tabaquismo es 4.03 veces más comparado con aquellos que no fuman (intervalo de confianza [95%], 2.23-7.2, $p < 0.001$). Los sujetos que son portadores de hipertensión arterial sistémica tienen 33.8 veces más riesgo de tener isquemia y flujo lento coronario, comparados con quienes no la padecen (intervalo de confianza [95%] 15.0 – 75, $p < 0.001$). Los enfermos de diabetes mellitus tienen riesgo de 10.18 veces de tener isquemia y flujo lento coronario comparados con aquellos que no son portadores de la misma (intervalo de confianza [95%] 3.7 – 27.41, $p < 0.001$). Así mismo, los sujetos con dislipidemia tienen 1.88 veces más posibilidades de tener isquemia y flujo lento coronario, comparados con aquellos con perfil de lípidos normal (intervalo de confianza [95%] 1.06 – 3.3, $p = 0.02$). (Tabla 1)

En cuanto a la fracción de eyección ventricular izquierda por ventriculografía en el grupo de isquémicos con flujo lento coronario, se encontró un promedio de 62.4 ± 8.03 %, la presión diastólica final fué de $[10.97 \pm 8.03$ mmHg], lo cual en general nos habla de parámetros dentro de la normalidad. Según los parámetros ecocardiográficos se obtuvo un promedio de la fracción de expulsión del ventrículo izquierdo de 63.04 ± 9.73 %, según el patrón de llenado diastólico los resultados que se obtuvieron fueron los siguientes: Patrón tipo I (alteración de la relajación) en el 95% de los sujetos, patrón tipo II (pseudonormalizado) en el 2% de los sujetos, patrón tipo III (alteración de la distensibilidad) 2% de los sujetos. (Tabla 4)

La presentación clínica en el grupo de isquémicos y flujo lento coronario fueron: angina estable fué el síntoma más frecuente en el 67.3% de los sujetos, la segunda presentación clínica más común fué angina inestable en el 25.7% de los sujetos y en último lugar se encontró el síndrome isquémico coronario agudo (con y sin elevación del segmento ST) en un 7.0% de los casos. (Tabla 2)

De acuerdo al método diagnóstico que se utilizó para los distintos escenarios clínicos de isquemia fueron: Medicina Nuclear (con sus diferentes protocolos) en el 77.2%, Prueba de Esfuerzo 11.9% de y por último la clínica en el 10.9% de los sujetos isquémicos. (Tabla 2)

En el presente estudio encontramos diferencias estadísticamente significativas en la distribución de los genotipos relacionados al polimorfismo en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1), el genotipo homocigoto 4G/4G se encontró en el 9.9% de los sujetos con isquemia, comparado con el 22.5% de los sujetos control ($p=0.03$); la presencia de genotipo heterocigoto 4G/5G se encontró en 45 sujetos (44.6%) isquémicos comparado con 50 sujetos control (41.7%) , $p=NS$. El genotipo heterocigoto 5G/5G se encontró en 46 (45.5%) de los sujetos isquémicos, mientras que se encontró en 43 (35.8%) de los sujetos del grupo control, $p=0.03$. (Tabla 5)

En cuanto la distribución de cada uno de los genotipos del polimorfismo C677T de la enzima 5, 10 MTHFR en los dos grupos (isquémicos y controles) se encontró de la siguiente manera: la prevalencia del homocigoto CC en el grupo de isquémicos fué 20.8% vs control 23.3%, $p= 0.90$, heterocigoto CT 45.5% en el grupo de isquémicos vs. 44.22% en el grupo control, $p= 0.90$, homocigoto TT 33.4% en el grupo de isquémicos vs. 32.5% en el grupo control, $p=0.90$, en conclusión no hubo diferencias estadísticamente significativa para este polimorfismo (Tabla 5).

Al análisis multivariado encontramos que las variables asociadas de forma independiente con la cardiopatía isquémica sin lesiones coronarias son: tabaquismo (OR 9.13, IC 95% 3.67-22.72, $p<0.001$); hipertensión arterial (OR 39.0, IC 95% 15.19-100.52, $p<0.001$) y la edad (OR 1.05, IC 95% 1.01 – 1.09, $p=0.005$). (Tabla 6).

Discusión:

La cardiopatía isquémica constituye la principal causa de morbimortalidad en la mayor parte del mundo ⁽¹⁾. En nuestro país el Instituto de Estadística, Geografía e Informática (INEGI) reportó a la enfermedad arterial coronaria como la responsable del 19.6% del total de fallecimientos en el 2007, por lo que representa un problema de salud pública ⁽¹⁶³⁾. La manifestación clínica más importante de la enfermedad arterial coronaria es el Infarto Agudo del Miocardio (IAM), el cual es el resultado de la interacción entre factores genéticos y ambientales ⁽¹⁶⁴⁾. Entre los factores ambientales o también denominados modificables tenemos a la diabetes mellitus (DM), hipertensión arterial (HA), sedentarismo, obesidad, dislipidemia, tabaquismo, así como el incremento en la concentración de fibrinógeno. Sin embargo, aproximadamente de 20% a 60% no se identifican alguno de estos factores de riesgo, por lo que también se ha determinado existe la participación de ciertas variantes genéticas denominadas polimorfismos que han sido asociadas al desarrollo de IAM en algunos grupos étnicos en el mundo ⁽¹⁶⁵⁾.

Hemos observado, que más del 90% de los pacientes con enfermedad arterial coronaria, tienen lesiones aterosclerosas mediante angiografía en las arterias coronarias epicárdicas y en el 10% restante no se documentan lesiones por este método, sin embargo estos pacientes también desarrollan cardiopatía isquémica. En nuestro hospital esta población de pacientes representa aproximadamente del 2 al 6% de los pacientes isquémicos (registro interno del hospital de Cardiología CMN SXXI), en los cuales se propone que exista una alteración importante en el componente regulatorio de la función vasomotora endotelial, lo cual nos dá por resultado la presencia de disfunción del endotelio. Debido a lo anterior nos plateamos como objetivos identificar los factores de riesgo que pueden existir en nuestra población para desarrollar la expresión máxima de cardiopatía isquémica por este mecanismo de disfunción endotelial y flujo lento ⁽³⁰⁾, mediante el estudio de la interacción entre factores genéticos y factores de riesgo clásicos, los cuales están asociados al desarrollo de la enfermedad en otras poblaciones.

El estudio incluyó a 101 pacientes con diagnóstico de isquemia coronaria y flujo lento por angiografía y 120 controles, encontrándose que los factores de riesgo clásicos como el antecedente de tabaquismo, hipertensión arterial, diabetes mellitus y dislipidemia representan un factor de riesgo para la presencia de flujo lento coronario (cardiopatía isquémica sin lesiones aterosclerosas) en nuestra población, como han sido publicados previamente por otros autores (30). Lo anterior podría implicar que dichos factores como la diabetes mellitus, dislipidemia e hipertensión condicionen un estado de alteración endotelial (disfunción) favoreciendo la génesis del fenómeno del flujo lento coronario, como ha sido demostrado en estudios previos (28, 32, 33, 34). Esto cobra importancia al momento de considerar que los pacientes con estos factores de riesgo pueden presentar cardiopatía isquémica y flujo lento a nivel de las arterias coronarias epicárdicas, considerándose como un estadio inicial o una variante más de las lesiones aterosclerosas, en comparación con lo que se pensaba en el pasado donde la obstrucción del vaso era ocasionado por la formación del trombo debido a la erosión de la placa por una lesión aterosclerosa coronaria previa para desarrollar flujos menores a TIMI 3 y por consiguiente un Blush miocárdico inadecuado.

Se ha documentado previamente en la literatura médica mundial la asociación de algunos genotipos que representan riesgo, sin embargo los resultados son aún controversiales. En México no contamos con estudios que evalúan la posible participación de estos genotipos en este tipo subgrupo de pacientes.

En el presente estudio analizamos dos de los principales polimorfismos: polimorfismo del C677T en la enzima 5,10 MTHFR y polimorfismos 4G/5G en el PAI-1, los cuales han sido estudiados previamente en nuestra población en pacientes jóvenes (\leq de 45 años) con diagnóstico de IAMCEST y lesiones aterotrombóticas. Sin embargo, no existen estudios previos que exploren la posible participación de estos genotipos en el subgrupo de pacientes sin lesiones aterotrombóticas y flujo lento.

Previamente se ha documentado que el polimorfismo C677T en la enzima 5,10 MTHFR se asocia con desarrollo de la disfunción endotelial como lo demostró Marcucci y cols. (100) quienes reportaron que la homocisteína tenía una correlación positiva con el

factor tisular y el inhibidor del factor tisular, y fué asociado con un incremento en la activación de la cascada de la coagulación en enfermedades cardiacas isquémicas. Los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad cardiaca isquémica inducidos por la homocisteína se consideran que incluyen en la disfunción endotelial, activación plaquetaria, desórdenes de la hemostasia, sin embargo pocos estudios han evaluado la asociación entre homocisteína y el sistema hemostático (100, 101, 102).

Estudios previos por Isordia y cols. (126) demostraron que el alelo T no representa un factor de riesgo en este grupo de pacientes con IAM CEST con lesiones aterotrombóticas en sujetos jóvenes. Sin embargo, los factores de riesgo tradicionales como HA, Tabaquismo, dislipidemia y antecedente heredo familiar para enfermedad cardiovascular representaron riesgo independiente para el desarrollo de la enfermedad. En forma contraria, Rallidis y cols, en población Turca (30), demostraron una asociación entre la presencia del polimorfismo y la enfermedad isquémica con arterias coronarias normales. Cabe mencionar que la población incluida en este estudio fué de 24 pacientes, por lo que el tamaño de muestra representa un sesgo para poder establecer conclusiones finales.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio no apoyan la asociación entre el genotipo C677T de la enzima 5,10 MTHFR y el desarrollo de cardiopatía isquémica en pacientes sin lesiones aterotrombóticas aparentes y flujo lento.

El segundo polimorfismo objeto de estudio en este subgrupo de pacientes fué el 4G/5G localizado en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1) obteniendo los siguientes resultados. Por primera vez, nosotros demostramos diferencias estadísticamente significativas en la distribución genotípica de los alelos 4G/5G (isquémicos 44.6% vs 41.7% controles) y del 5G/5G (45.5% isquémicos vs 35.8% controles). Además, también encontramos diferencias significativas en la frecuencia alélica (OR=0.62 IC 95% 0.41-0.93, p=0.01).

Previamente Isordia y cols, demostraron en sujetos jóvenes \leq de 45 años con infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST, con lesiones trombóticas

visibles, que el alelo 4G representa un factor de riesgo independiente en este tipo de pacientes y se asocia con un incremento en la concentración plasmática de PAI-1 en estos sujetos portadores del alelo de riesgo. El mecanismo fisiopatológico descrito se debe a que el incremento de PAI-1 promueve un estado de hipofibrinólisis, además que favorece el desarrollo de una placa vulnerable debido a una disminución en la proliferación y migración de las células musculares lisas en la placa aterosclerosa. Esto ha sido demostrado en estudios previos por Shindo ⁽¹⁶⁸⁾ y Sobel⁽¹⁶⁹⁾, en cuyo estudio se investiga la extensión del PAI-1 en la placa de diferentes arterias coronarias enfermas, para demostrar la correlación entre esta molécula y la infiltración de macrófagos a la placa, para tal situación de realizó inmunohistoquímica, este autor encontró altos porcentajes de PAI-1 en los especímenes obtenidos en pacientes con infarto miocárdico, concluyendo que existe un incremento de PAI-1 en las placas de los pacientes con infarto agudo del miocardio incluyendo insuficiencia en la fibrinólisis.

Dichos resultados contrastan de manera importante con nuestro estudio. Lo anterior podría corroborar que estamos frente a dos mecanismo fisiopatológicos completamente diferentes (infarto con lesiones ateroesclerosas y cardiopatía isquémica sin lesiones coronarias). Por lo que podemos proponer que este subgrupo de pacientes con isquemia secundaria a coronarias sin lesiones y con flujo lento, no cursan con un estado de hipofibrinólisis que promueva la formación de lesiones atetrombóticas y por esta razón, resulta importante continuar con nuevas líneas de investigación tanto clínicas como genéticas para determinar si existen factores asociados con los fenómenos de vasoconstricción o vasodilatación que se asocien con la isquemia sin lesiones coronarias.

Conclusiones

1. Por primera vez hemos identificamos que el polimorfismos (C677T) en el gen de la enzima 5,10 MTHFR no se asocia a riesgo en el subgrupo de pacientes con isquemia coronaria y flujo lento.
2. Además, podemos sugerir, que la variante 4G/4G del polimorfismo del PAI-1 representa un factor de protección en este grupo de pacientes ya que se encuentra con menor frecuencia que los sujetos sanos. Mientras que la variante heterocigota 4G/5G no se asocia a riesgo de cardiopatía isquémica no aterosclerosa, a lo anterior podríamos inferir que estos sujetos no cursan con un estado de hipofibrinólisis, acorde a lo previamente demostrado en los pacientes jóvenes con lesiones aterotrombóticas, en donde el alelo 4G se correlacionó con un incremento del PAI-1 circulante y fibrinólisis disminuido.
3. Los factores de riesgo tradicionales como tabaquismo, diabetes mellitus, dislipidemia e hipertensión continúan siendo factores de riesgo independientes en estos pacientes.

PERSPECTIVAS DE LA INVESTIGACIÓN

1. Explorar genotipos relacionados con factores de coagulación, así como la concentración de las proteínas expresadas por dicho genes. Lo anterior es fundamentado al posible mecanismo de trombosis, ya que el flujo lento expone por tiempo prolongado las proteínas plasmáticas del sistema de la coagulación a la superficie endotelial.
2. Incrementar el número de pacientes y controles tratando en lo posible de obtener grupos pareados por edad y género.

Tabla 1. Características basales de los participantes en el estudio, de acuerdo a cada grupo.

CARACTERÍSTICA CLÍNICAS	ISQUÉMICOS Casos n: 101	NO ISQUEMICOS Controles n=120	p	OR (IC 95%)
Género, Femenino, n(%)	59 (58.4%)	69 (57.5%)	0.89	1.03 (0.6-1.7)
Edad (años), media (±DE)	59.2 ± 13.5	50.01 ± 10.9	< 0.01	-
Hipertensión Arterial, n(%)	74 (89.2%)	9 (7.5%)	<0.001	33.8 (15-75)
Diabetes Mellitus 2, n(%)	31 (30.7%)	5 (4.2%)	<0.001	10.18 (3.7-27.4)
Dislipidemia, n(%)	40 (39.6%)	31 (25.8%)	0.02	1.88 (1.06-3.3)
Tabaquismo actual, n (%)	52 (51.5%)	25 (20.8%)	<0.001	4.03 (2.23-7.2)
Índice de Masa Corporal, media (±)	28.23 ± 7.24	29.01 ± 3.9	0.30	-

n: número, ± desviación estándar (DE)

Tabla 2. Presentación clínica y métodos diagnósticos usados en el diagnóstico de los pacientes con isquemia y flujo lento coronario

	ISQUÉMICOS Casos n: 101	NO ISQUÉMICOS Controles n=120	p	OR (IC 95%)
Angina estable	68 (67.3%)	-	-	-
Angina inestable	26 (25.7%)	-	-	-
Infarto agudo del miocardio	7 (7.0%)	-	-	-
Método diagnóstico				
Medicina nuclear	78 (77.2%)	-	-	-
Prueba de esfuerzo	12 (11.9%)	-	-	-
Clínico	11 (10.9%)	-	-	-

n: número.

Tabla 3. Características clínicas y basales de variables de laboratorio de los pacientes con isquemia y flujo lento coronario

PARAMETROS CLÍNICOS Y DE LABORATORIO	ISQUÉMICOS Casos n: 101	NO ISQUÉMICOS Controles n=120	p	OR (IC 95%)
Frecuencia cardiaca	71.7 ± 7.0	-	-	-
Tensión arterial sistólica, mmHg media	123.4 ± 16.55	-	-	-
Colesterol total, media (±DE)	184.12 ± 39.8	-	-	-
HDL, media (±DE)	44.3 ± 8.69	-	-	-
LDL, media (±DE)	103.05 ± 33.5	-	-	-
Triglicéridos, media (±DE)	169.83 ± 60.90	-	-	-
Glucosa, media (±DE)	113.91 ± 31.07	-	-	-

n: número, ± desviación estándar (DE) HDL: lipoproteína de alta densidad, LDL: lipoproteína de baja densidad.

Tabla 4 Características ecocardiográficas y angiográficas de los pacientes con isquemia y flujo lento coronario

PARÁMETROS	ISQUÉMICOS Casos n: 101	NO ISQUÉMICOS Controles n=120	p	OR (IC 95%)
Fracción de expulsión del ventrículo izquierdo por ecocardiograma (\pm DE)	63.04 \pm 9.73	-	-	-
Presión diastólica final del Ventrículo Izquierdo, mmHg media (\pm DE)	10.97 \pm 4.17	-	-	-
Fracción de expulsión del ventrículo izquierdo por cateterismo media (\pm DE)	62.4 \pm 8.03	-	-	-
PATRÓN DE LLENADO DIASTÓLICO		-	-	-
Normal	1 (1%)	-	-	-
Tipo I	96 (95%)	-	-	-
Tipo II	2 (2%)	-	-	-
Tipo III	2 (2%)	-	-	-

n: número, \pm desviación estándar (DE)

Tabla 5. Distribución del genotipo C677T de la enzima 5,10 MTHFR y del genotipo del IPAI-1

	ISQUÉMICOS Casos n: 101	NO ISQUÉMICOS Controles n=120	p	OR (IC 95%)
Genotipos del C677T				
CC, n (%)	21 (20.8%)	28 (23.3%)		-
CT, n (%)	46 (45.5%)	53 (44.26%)	0.90	-
TT, n (%)	34 (33.7%)	39 (32.5%)		-
Genotipos del IPAI-1				
4G/4G, n (%)	10 (9.9%)	27 (22.5%)		-
4G/5G, n (%)	45 (44.6%)	50 (41.7%)	0.03	-
5G/5G, n (%)	46 (45.5%)	43 (35.8%)		-

n: número.

Tabla 6. Distribución del genotipo 4G/5G y frecuencia alélica del polimorfismo en el gen del PAI-1 entre ambos grupos.

	Casos (n=101)	Controles (n=120)	Valor de p
Genotipo			
4G/4G n (%)	10 (10)	27 (22.5)	0.03
4G/5G n (%)	45 (44.5)	50 (41.7)	
5G/5G n (%)	46 (45.5)	43 (35.8)	
Frecuencia Alélica			
4G n (%)	65 (32.32)	104 (43.35)	0.01
5G n (%)	137 (67.8)	136 (56.65)	

PAI-1= Inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1

§=Prueba de t de Student

*Prueba de X^2

Tabla 7. Distribución del genotipo C677T y frecuencia alélica del polimorfismo en el gen de la enzima 5,10 MTHFR entre ambos grupos.

	Casos (n=101)	Controles (n=120)	Valor de p
Genotipo			
C/C n (%)	21 (20.8)	28 (23.3)	0.90
C/T n (%)	46 (45.6)	53 (44.2)	
T/T n (%)	34 (33.6)	39 (32.5)	
Frecuencia Alélica			
C n (%)	88 (43.6)	109 (45.4)	0.01
T n (%)	114 (56.4)	131 (54.6)	

MTHFR= Metilentetrahidrofolato reductasa

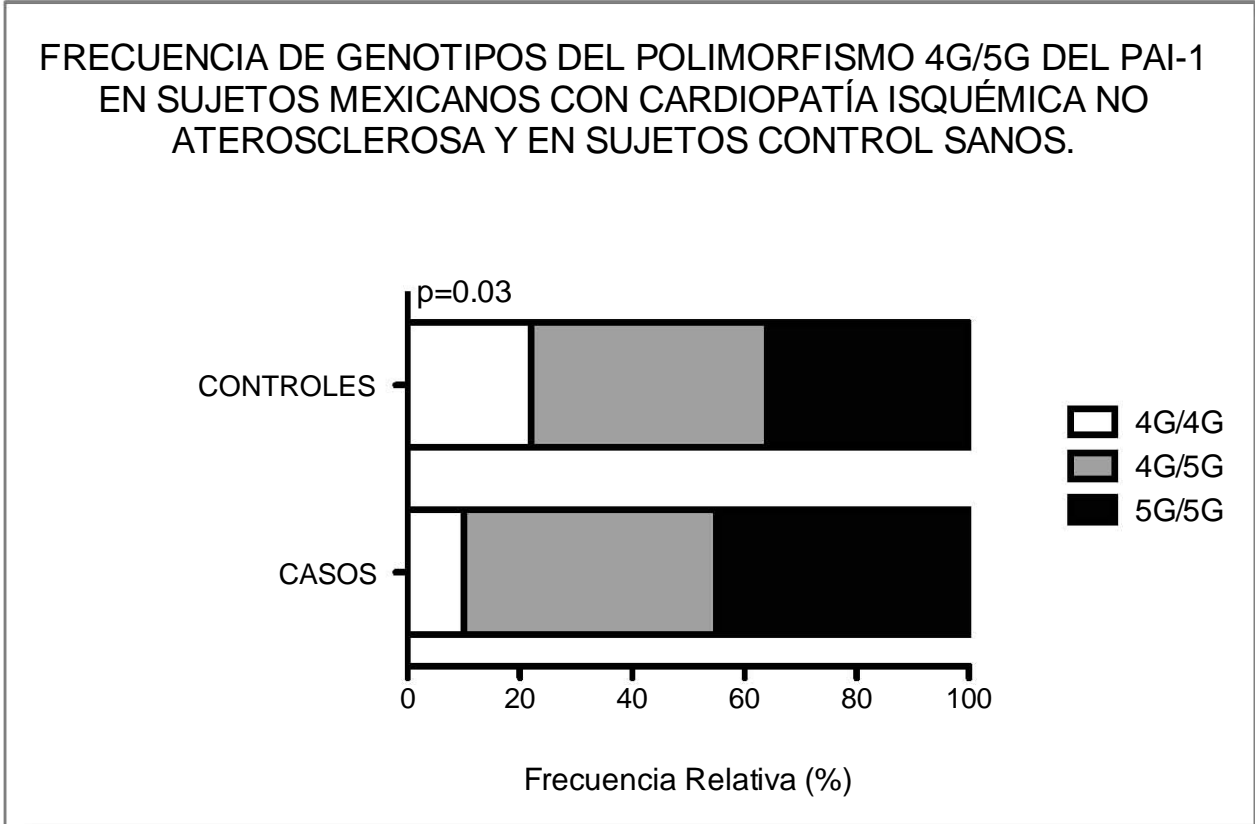
§=Prueba de t de Student

*Prueba de χ^2

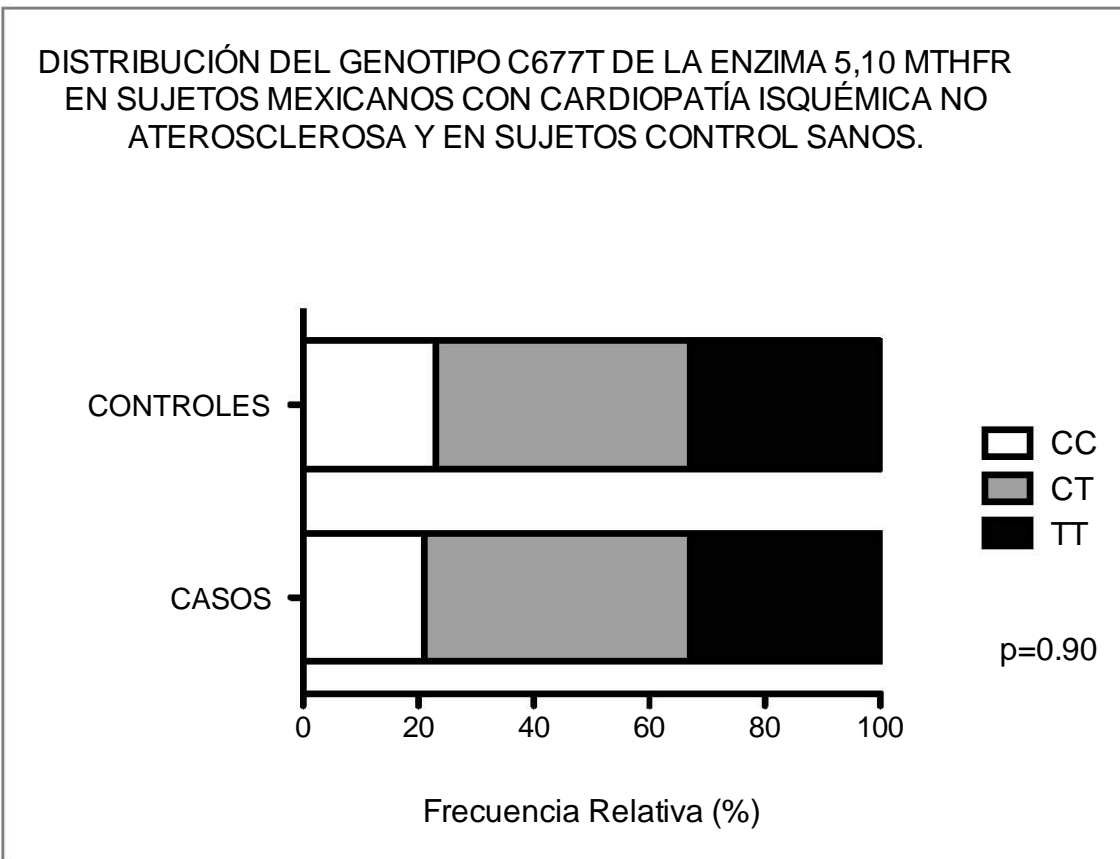
Tabla 8. Análisis de Regresión Logística de factores asociados con cardiopatía isquémica sin lesiones coronarias en sujetos mexicanos.

VARIABLE	Coefficiente Beta	Wald (p)	Odds Ratio (Intervalo de Confianza 95%)
Tabaquismo	2.21	<0.001	9.13 (3.67-22.72)
Hipertensión	3.66	<0.001	39.0 (15.19-100.52)
Edad	0.051	0.005	1.05 (1.01 – 1.09)
Constante	-5.03	<0.001	-

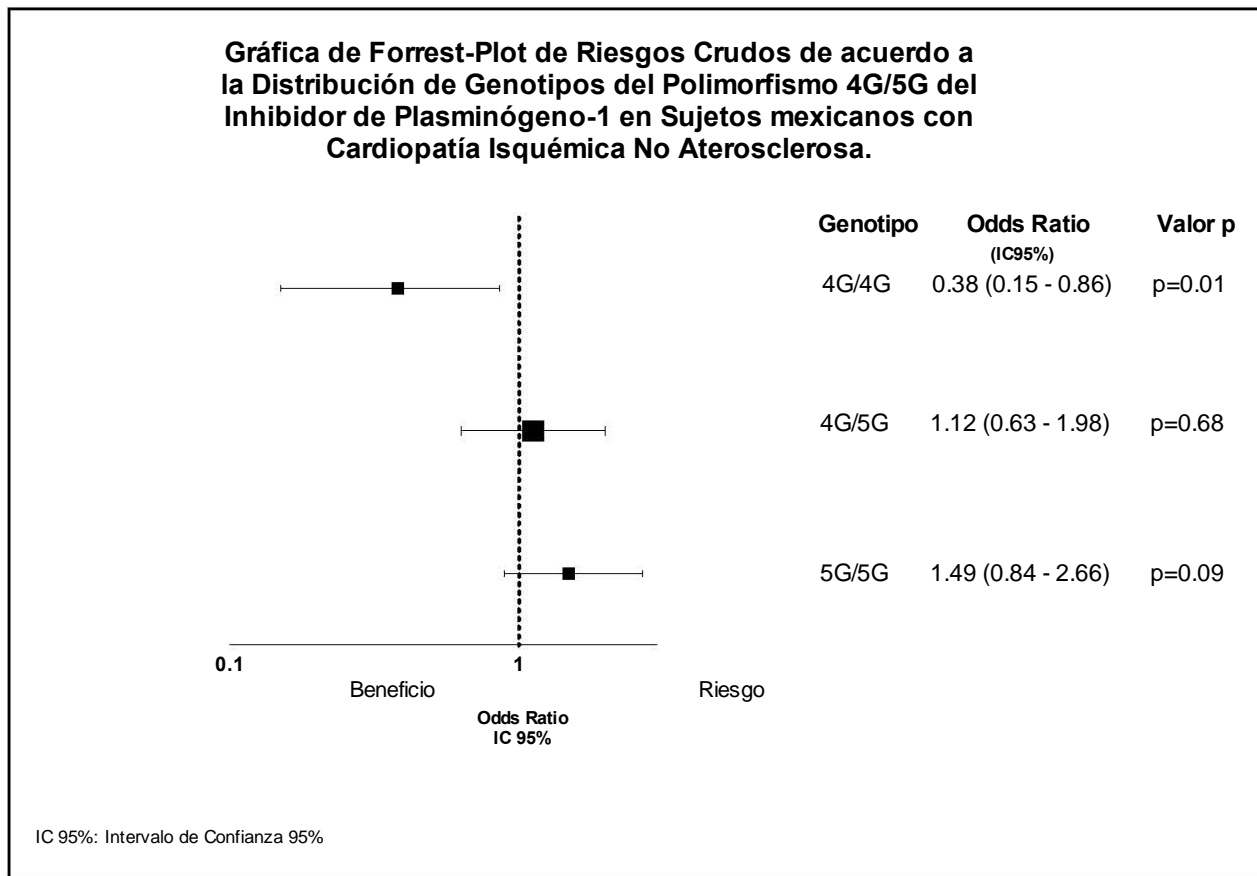
Gráfica 1.



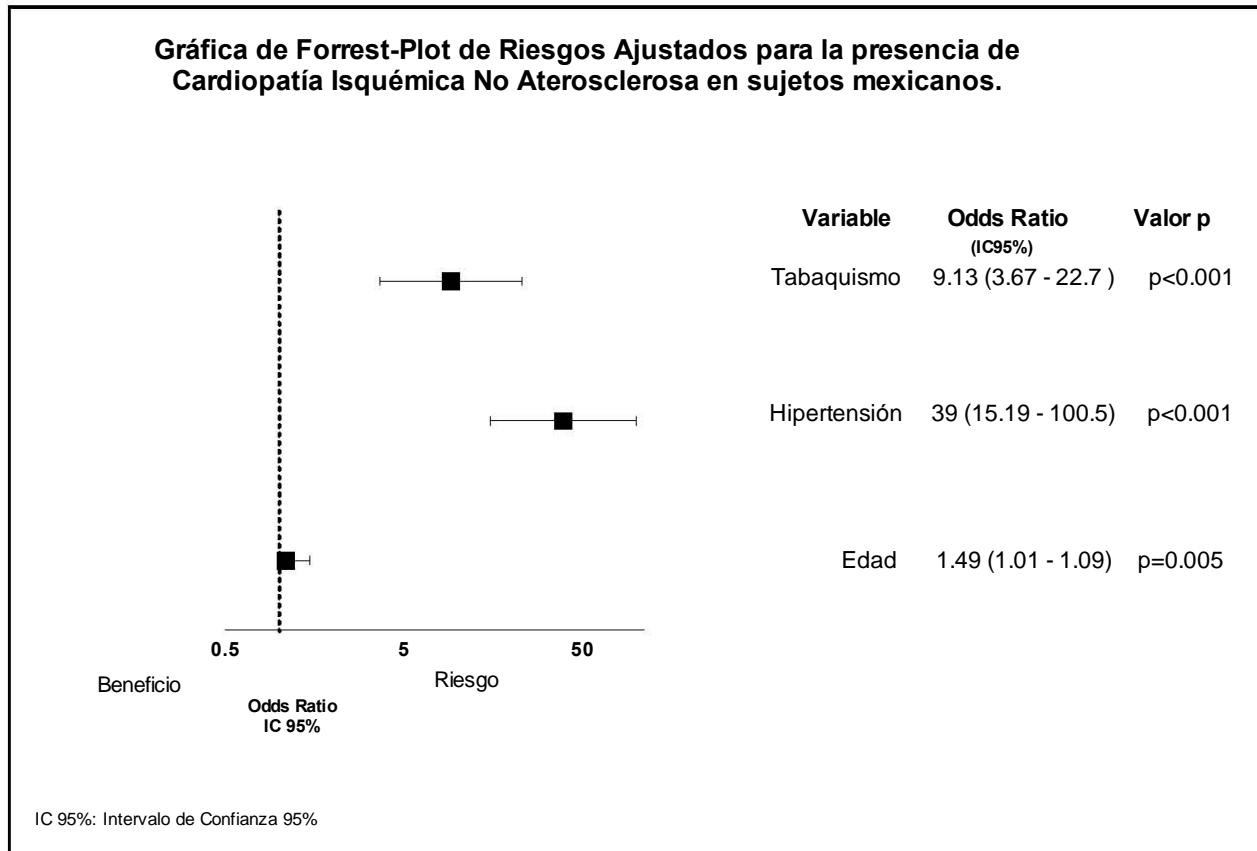
Gráfica 2.



Gráfica 3.



Gráfica 4.



Referencias bibliográficas:

1. <http://sinais.salud.gob.mx/sinais.php>.
2. Virmani B, Farb A. Cardiovascular Pathology. Saunders Company. Second Ed. 2001: 109-154.
3. Badui E, Rangel A, Ramos MA, et al. Acute myocardial infarction with normal coronary arteries as initial manifestation of polyarteritis nodosa. A case report. Arch Ins Cardiol Mex 1997-67 (5): 411- 3.
4. Choudhury I, Marsh JD. Myocardial infarction in young patients. Am J Med 1999; 107:254–61.
5. Doughty M, Mehta R, Bruckman D, et al. Acute myocardial infarction in the young: the University of Michigan experience. Am Heart J 2002; 143:56–62.
6. Zimmerman FH, Cameron A, Fisher LD, Ng G. Myocardial infarction in young adults: angiographic characterization, risk factors and prognosis (Coronary Artery Surgery Study Registry). J Am Coll Cardiol 1995; 26:654–61.
7. Panagiotakos DB, Rallidis LS, Pitsavos C, Stefanadis C, Kremastinos D. Cigarette smoking and myocardial infarction in young men and women: a case-control study. Int J Cardiol 2007; 116:371–5.
8. Kardasz I, De Caterina R. Myocardial infarction with normal coronary arteries: a conundrum with multiple aetiologies and variable prognosis: an update. J Intern Med 2007; 261:330–48.

9. VerheugtFW, Ten Cate JW, Sturk A, et al. Tissue plasminogen activator activity and inhibition in acute myocardial infarction and angiographically normal coronary arteries. *Am J Cardiol* 1987; 59:1075–9.
10. Romagnoli E, Lanza GA. Acute myocardial infarction with normal coronary arteries: role of coronary artery spasm and arrhythmic complications. *Int J Cardiol* 2007; 117:3–5.
11. Li JJ, Wu YJ, Qin XW. Should slow coronary flow be considered as a coronary syndrome? *Med Hypotheses* 2006; 66 (5): 953-956.
12. Goel PK, Gupta SK, Agarwal A, et al. Slow coronary flow: a distinct amgiographic subgroup in syndrome X. *Angiology* 2001; 52:507–14.
13. Mangieri E, Macchiarelli G, Ciavolella M, et al. Slow coronary flow: clinical and histopathological features in patients with otherwise normal epicardial coronary arteries. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1996; 37: 375–81.
14. Mosseri M, Yarom R, Gotsman MS, et al. Histologic evidence for small vessel coronary artery disease in patients with angina pectoris and patent large coronary arteries. *Circulation* 1986; 74:964–72.
15. Epstein SE, Cannon O, Talbot TL. Hemodynamic principles in the control of coronary blood flow. *Am J Cardiol* 1985; 56:4E–10E.
16. Beltrame JF, Limaye SB, Wuttke RD, Horowitz JD. Coronary hemodynamic and metabolic studies of the coronary slow flow phenomenon. *Am Heart J* 2003; 146:84–90.

17. Beltrame JF, Turner SP, Leslie SL, Solomon P, Freedman SB, Horowitz JD. The angiographic and clinical benefits of mibefradil in the coronary slow flow phenomenon. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44:57–62.
18. Isordia-Salas I, Leños-Miranda A, Sainz IM, Reyes-Maldonado E, Borrayo-Sánchez G. Asociación entre el polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) con infarto agudo de miocardio con elevación del ST en pacientes jóvenes. *Rev Esp Cardiol*. 2009; 62:365-72.
19. Renner Hamsten A, Wiman B, De Faire U, Blombaeck M. Increased plasma levels of a rapid inhibitor of tissue plasminogen activator in young survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1985; 313:1557–63.
20. Cortellaro M, Cofrancesco E, Boschetti C, Mussoni L, Donati MB, Cardillo M, Catalano M, Gabrielli L, Lombardi B, Specchia G, Tavazzi L, Tremoli E, Pozzoli E, Turri M. For the PLAT group. Increased fibrin turnover and high PAI-I activity as predictors of ischemic events in atherosclerotic patients: a casecontrol study. *Arterioscler Thromb* 1993; 13:1412–7.
21. Sezgin AT, Sigirci A, Barutcu I, Topal E, Sezgin N, Ozdemir R, et al. Vascular endothelial function in patients with slow coronary flow. *Coron Artery Dis* 2003; 14: 155-161.
22. Tatsuya Komaru*, Hiroshi Kanatsuka, Kunio Shirato. Coronary microcirculation Physiology and pharmacology. *Pharmacology & Therapeutics* 86 (2000) 217–261.
23. Turhan H, Saydam GS, Erbay AR, et al. Increased plasma soluble adhesion molecules; ICAM-1, VCAM-1, and E-selectin levels in patients with slow coronary flow. *Int J Cardiol* 2006; 108:224–30.

24. Riza Erbay A, Turhan H, Yasar AS, et al. Elevated level of plasma homocysteine in patients with slow coronary flow. *Int J Cardiol* 2005; 102:419–23.
25. Barutcu I, Sezgin AT, Sezgin N, et al. Elevated plasma homocysteine level in slow coronary flow. *Int J Cardiol* 2005; 101:143–5.
26. Yamashita K, Tasaki H, Nagai Y, et al. Experimental hyperhomocysteinemia impairs coronary flow velocity reserve. *Int J Cardiol* 2005; 104:163–9.
27. Turhan H, Aksoy Y, Yetkin E. Homocysteine and coronary microcirculation: is it a microvasculopathic agent? *Int J Cardiol* 2006; 110:269–70.
28. Binak E, Gunduz H, Sahin M, Kurtoglu N, Dindar I. The relation between impaired glucose tolerance and slow coronary flow. *Int J Cardiol* 2005; 102:105.
29. Hasan Ari, M.D., Selma Ari, M.D., Ercan Erdoğlan, M.D., Osman Tiryakioğlu, M.D et al. The effects of endothelial dysfunction and inflammation on slow coronary flow. *Arch Turk Soc Cardiol* 2010;38(5):327-33.
30. Rallidis LS, Gialeraki A, Kompourzos C, et al. Role of Methylenetetrahydrofolate reductase 677C-OT polymorphism in the development of premature myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2008;200:115e120.
31. Boekholdt SM, Bijnsterveld NR, Moons AHM, et al. Genetic variation in coagulation and fibrinolytic proteins and their relation with acute myocardial infarction: a systematic review. *Circulation*. 2001;104: 3063–3068.
32. Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wentworth D. For the Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. Diabetes, other risk factors and cardiovascular mortality for men screened in the multiple risk factor intervention trial. *Diabetes Care* 1993; 16:434– 44.)

33. Nitenberg A, Valensi P, Sachs R, Dali M, Aptekar E, Attali JR. Impairment of coronary vascular reserve and Ach-induced coronary vasodilatation in diabetic patients with angiographically normal coronary arteries and normal left ventricular systolic function. *Diabetes* 1993; 42:1017– 25.
34. Di Carli MF, Bianco-Battles D, Landa ME, et al. Effects of autonomic neuropathy on coronary blood flow in patients with diabetes mellitus. *Circulation* 1999; 100:813– 9.
35. Sjöholm A, Nystrom T: Endothelial inflammation in insulin resistance. *Lancet* 2005; 365:610–612,
36. Meigs JB, Hu FB, Rifai N, Manson JE: Biomarkers of endothelial dysfunction and risk of type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2004; 291:1978–1986.
37. Lowe GD, Pepys MB: C-reactive and cardiovascular disease: weighing the evidence. *Curr Atheroscler Rep* 2006; 8:421– 428.
38. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM: C-reactive protein, interleukin-6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2001; 286:327–334.
39. Kapiotis S, Holzer G, Schaller G, Haumer M, Widhalm H, Weghuber D, Jilma B, Roggla G, Wolzt M, Widhalm K, Wagner OF: A proinflammatory state is detectable in obese children and is accompanied by functional and morphological vascular changes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26:2541–2546.
40. Libby P, Ridker PM, Maseri A: Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105: 1135–1143,
41. Nordt TK, Lohrmann J, Bode C. Regulation of PAI-1 expression by genetic polymorphism. Impact on atherogenesis. *Thromb Res.* 2001;103 Suppl 1:S1-5.

42. Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB: The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. *J Clin Invest* 1995; 95:2111–2119.
43. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW: Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003; 112: 1796–1808.
44. Mertens I, Gaal FV: Obesity, haemostasis and the fibrinolytic system. *Obes Rev* 2002; 3:85–101.
45. Beltrame JF, Limaye SB, Horowitz JD. The coronary slow flow phenomenon -a new coronary microvascular disorder. *Cardiology* 2002; 97: 197-202.
46. Gibson CM, Cannon CP, Daley WL, Dodge JT Jr, Alexander B Jr, Marble SJ, et al. TIMI frame count: a quantitative method of assessing coronary artery flow. *Circulation* 1996; 93: 879-88.
47. Carlos E. Uribe, MD.; Erick Solano, MD.; Gilberto Estrada, MD.; Luis I. Calderón, MD.; Pablo Castro, MD.; Édgar Hurtado, MD.; Germán Gómez, MD. Slow coronary flow phenomenon Register of 140 patients in the Abood Shaio Clinic. *Revista Colombiana de Cardiología* 2007. 14:87-92.
48. Kholer HP, Grant PJ. Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2000; 342:1792-801.
49. Demirkol MO, Yaymaci B, Mutlu B. Dipyridamole myocardial perfusion single photon emission computed tomography in patients with slow coronary flow. *Coron Artery Dis* 2002; 13: 223-229.

50. Kurtoglu N, Akcay A, Dindar I. Usefulness of oral dipyridamole therapy for angiographic slow coronary artery flow. *Am J Cardiol* 2001; 87: 777-779.
51. Kruger D, Stierle U, Herrmann G, Simon R, Sheikhzadeh A. Exercise induced myocardial ischemia in isolated coronary artery ectasias and aneurysms («dilated coronopathy»). *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 1461-1470.
52. Meade TW, Mellows S, Brozovic M, et al. Haemostatic function and ischemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1986;2:533–537.
53. Hamsten A, Wiman B, deFaire U, et al. Increased plasma levels of a rapid inhibitor of tissue plasminogen activator in young survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1985; 313:1557–1563.
54. Rissenan AM. Familial occurrence of coronary artery disease: effect of age at diagnosis. *Am J Cardiol*. 1979; 44:60–66.
55. Shea S, Ottman R, Gabrieli C, et al. Family history as an independent risk factor for coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 1984; 4:793–801.
56. Ogawa M, Abe S, Saigo M, et al. Homocysteine and hemostatic disorder as a risk factor for myocardial infarction at a young age. *Thromb Res* 2003; 109:253–8.
57. Sadeghian S, Fallahi F, Salarifar M, et al. Homocysteine, vitamin B12 and folate levels in premature coronary artery disease. *BMCCardiovasc Disord* 2006;6:38.
58. Nikfardjam M, Graf S, Hornykewycz S, et al. Homocysteine levels in young patients with coronary artery disease: relation to history of acute myocardial infarction and anatomical extent of disease. *Thromb Res* 2001;103(Suppl. 1):S35–9.

59. Matsubara Y, Murata M, Isshiki I, et al. Genotype frequency of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 4G/5G polymorphism in healthy Japanese males and its relation to PAI-1 levels. *Int J Hematol* 1999; 69: 43–47.
60. McCormack LJ, Nagi DK, Stickland MH, et al. Promoter (4G/5G) plasminogen activator inhibitor-1 genotype in Pima Indians: relationship to plasminogen activator inhibitor-1 levels and features of the insulin resistance syndrome. *Diabetologia* 1996;39:1512–1518.
61. Juhan-Vague I, Pyke SDM, Alessi MC, Jespersen J, Haverkate F, Thompson SG. On behalf of the ECAT study group. Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. *Circulation* 1996; 94:2057–63.
62. Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-age British men. *Lancet*. 1995; 346:1395–1398.
63. Graham IM, Daly LE, Refsum H, Robinson K, Brattström LE, Ueland PM, Palma-Reis RJ, Boers GHJ, Sheahan RG, Israelsson B, Uiterwaal CS, Meleady R, McMaster D, Verhoef P, Witteman J, Rubba P, Bellet H, Wautrecht JC, de Valk HW, Sales Luís AC, Parrot-Roulaud FM, Soon Tan K, Higgins I, Garçon D, Medrano MJ, Candito M, Evans AE, Andria G, for The European Concerted Action Project. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. *JAMA*. 1997; 277:1775–1781.
64. Lacoviello L, Burzotta F, Di Castelnuovo A, et al. The 4G/5G polymorphism of PAI-1 promoter gene and the risk of myocardial infarction: a meta-analysis. *Thromb Haemost* 1998; 80:1029-30.
65. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJH, den Heijer M, Kluijtmans LAJ, van den Heuvel LP, Rozen R. A candidate genetic

risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet.* 1995; 10:111–113.

66. Nygård O, Vollset SE, Refsum H, Stensvold I, Tverdal A, Nordrehaug JE, Ueland PM, Kvåle G, the Hordaland Homocysteine Study. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. *JAMA.* 1995; 274: 1526–1533.
67. Brattström L, Lindgren A, Israelsson B, Andersson A, Hultberg B. Homocysteine and cysteine: determinants of plasma levels in middle-aged and elderly subjects. *J Intern Med.* 1994; 236:633– 641.
68. Brattström L, Lindgren A, Israelsson B, Malinow MR, Norrving B, Upson B, Hamfelt A. Hyperhomocysteinemia in stroke: prevalence, cause, and relationships to type of stroke and stroke risk factors. *Eur J Clin Invest.* 1992; 22:214 –221.
69. Zee RY, Mora S, Cheng S, et al. Homocysteine, 5,10- methylenetetrahydrofolate reductase 677C->T polymorphism, nutrient intake, and incident cardiovascular disease in 24,968 initially healthy women. *Clin Chem* 2007; 53:807–9.
70. Schmitz C, Lindpaintner K, Verhoef P, Gaziano JM, Buring J. Genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase and myocardial infarction: a case-control study. *Circulation* 1996; 94:1812–4.
71. Jee SH, Beaty TH, Suh I, Yoon Y, Appel LJ. The methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with increased cardiovascular risk in Japan, but not in other populations. *Atherosclerosis* 2000; 153: 161–8.
72. Klerk M, Verhoef P, Clarke R, et al., MTHFR Studies Collaboration Group. MTHFR 677C->T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA* 2002; 288:2023–31.

73. Lewis SJ, Ebrahim S, Smith GD. Meta-analysis of MTHFR 677C->T polymorphism and coronary heart disease: does totality of evidence support causal role for homocysteine and preventive potential of folate? *BMJ* 2005; 331:1053.
74. Gallagher PM, Meleady R, Shields DC, et al. Homocysteine and risk of premature coronary heart disease: evidence for a common gene mutation. *Circulation* 1996; 94:215–58.
75. Güleç S, Aras O, Akar E, et al. Methylene tetrahydrofolate reductase gene polymorphism and risk of premature myocardial infarction. *Clin Cardiol* 2001; 24:281–4.
76. Ridker PM, Hennekens CH, Lindpaintner K, et al. Arterial and venous thrombosis is not associated with the 4G/5G polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor gene in a large cohort of US men. *Circulation* 1997; 95:59-62.
77. Henry M, Tregouet DA, Alessi MC, et al. Metabolic determinants are much more important than genetic polymorphisms in determining the PAI-1 activity and antigen plasma concentrations: a family study with part of the Stanislas Cohort. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:84-91.
78. Mannucci PM, Bernardinelli L, Foco L, Galli M, Ribichini F, Tubaro M, et al. Tissue plasminogen activator antigen is strongly associated with myocardial infarction in young women. *J Thromb Haemost.* 2005; 3:280-6.
79. Naoharu I, Hitoshi S, Yasuyuki N, Shinji T, Masahiko K. The 4G:5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor gene is associated with the time course of progression to acute coronary syndromes. *Atherosclerosis* 136 (1998) 109–114.

80. Eriksson P, Kallin B, van T, Hooft FM, Ba^ovenholm P, Hamsten A. Allele specific increase in basal transcription of the plasminogen activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:1851-5.
81. Panahloo A, Mohamed-Ali V, Lane A, Green F, Humphries SE, Yudkin JS. Determinants of plasminogen activator inhibitor 1 activity in treated NIDDM and its relation to a polymorphism in the plasminogen activator inhibitor 1 gene. *Diabetes* 1995; 44:37 -42.
82. Sirgo G, Pérez J L, Renes E, Rubio M, Paredes S, García A, Hernández E, Morales P, Del Rey M J y Perales N. Role of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 4G/5G promoter polymorphism in cardiac surgery outcome: ventricular dysfunction, mortality, postoperative complications and functional recovery. *Investigación Cardiovascular*, 2004; 7: 116-130
83. Kluitmans KLJ, Kastelein JJP, Lindemans J, Boers GHJ, Heil SG, Brushke AVG, Jukema JW, Van den Heuvel LPWJ, Trijbels FJM, Boerma GJM, Verheugt FWA, Willems F, Blom HJ. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. *Circulation*. 1997;96:2573–2577
84. Etude Cas Temoins de l'Infarctus du Myocarde. The 4G/5G genetic polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene is associated with differences in plasma PAI-1 activity but not with risk of myocardial infarction in the ECTIM study. *Thromb Haemost* 1995; 74:837_/41.
85. Dawson SJ, Wiman B, Hamsten A. The two allele sequence of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene responds differently to IL-1 in HEPG2 cells. *J Biol Chem* 1993; 268:10739-45.

86. Lewis C, Raczynski JB, Oberman A, et al. Risk factors and the natural history of coronary heart disease in blacks. *Cardiovasc Clin.* 1991; 21: 29–45.
87. Woodhouse PR, Meade TW, Khaw KT. Plasminogen activator inhibitor-1, the acute phase response and vitamin C. *Atherosclerosis* 1997;133:71-6.
88. Morita H, Taguchi J, Kurihara H, Kitaoka M, Kaneda H, Kurihara Y, Maemura K, Shindo T, Minamino T, Ohno M, Yamaoki K, Ogasawara K, Aizawa T, Suzuki S, Yazaki Y. Genetic polymorphism of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) as a risk factor coronary artery disease. *Circulation.* 1997; 95:2032–2036.
89. De Boer JP, Abbink JJ, Brouwer MC, et al. PAI-1 synthesis in the human hepatoma cell line Hep G2 is increased by cytokines*/ evidence that the liver contributes to the acute phase behaviour of PAI-1. *Thromb Haemost* 1991; 65:181-5.
90. Gillum FR. Cardiovascular disease in the United States: an epidemiologic overview. *Cardiovasc Clin.* 1991;21:3–16.
91. Aviv Mager, Shadan Lalezari, Tamar Shohat, Yochai Birnbaum, Yehuda Adler, Nurit Magal and Mordechai Shohat. Methylenetetrahydrofolate Reductase Genotypes and Early-Onset Coronary Artery Disease. *Circulation* 1999;100; 2406-2410
92. Van Hinsbergh VWM, Kooistra T, van der Bergh EA, et al. TNF increases the production of PAI in human endothelial cells in vitro and rats in vivo. *Blood* 1988; 72:1467-70.
93. Verhaar MC, Westerweel PE, van Zonneveld AJ, Rabelink TJ. Free radical production by dysfunctional eNOS. *Heart.* 2004; 90:494–495.

94. Ueland PM, Hustad S, Schneede J, Refsum H, Vollset SE. Biological and clinical implications of the MTHFR C677T polymorphism. *Trends Pharmacol Sci.* 2001; 22:195–201.
95. Ueland PM, Refsum H, Beresford SA, Vollset SE. The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72:324 –332
96. Siow YL, Au-Yeung KK, Woo CW, OK. Homocysteine stimulates phosphorylation of NADPH oxidase p47phox and p67phox subunits in monocytes via protein kinase Cbeta activation. *Biochem J.* 2006; 398: 73–82.
97. Alvarez-Maqueda M, El Bekay R, Monteseirin J, Alba G, Chacon P, Vega A, Santa Maria C, Tejedo JR, Martin-Nieto J, Bedoya FJ, Pintado E, Sobrino F. Homocysteine enhances superoxide anion release and NADPH oxidase assembly by human neutrophils: effects on MAPK activation and neutrophil migration. *Atherosclerosis.* 2004; 172:229 –238.
98. Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC, European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. *N Engl J Med* 1995; 332:635–41.
99. Zimmerman FH, Cameron A, Fisher LD, Ng G. Myocardial infarction in young adults: angiographic characterization, risk factors and prognosis (Coronary Artery Surgery Study Registry). *J Am Coll Cardiol* 1995; 26:654– 61.
100. Marcucci R, Prisco D, Brunelli T, Pepe G, Gori AM, Fedi S, et al. Tissue factor and homocysteine levels in ischemic heart disease are associated with angiographically documented clinical recurrences after coronary angioplasty. *Thromb Haemost* 2000; 83:826– 32.

101. Von Eckardstein A, Malinow MR, Upson B, Heinrich J, Schulte H, Schonfeld R, et al. Effects of age, lipoproteins, and hemostatic parameters on the role of homocyst(e)inemia as a cardiovascular risk factor in men. *Arterioscler Thromb* 1994; 14:460– 4.
102. Bienvenu T, Ankri A, Chadeaux B, Montalescot G, Kamoun P. Elevated total plasma homocysteine, a risk factor for thrombosis. Relation to coagulation and fibrinolytic parameters. *Thromb Res* 1993; 70: 123–9.
103. Wei M, Valdez RA, Mitchell BD, et al. Effects of cigarette smoking, diabetes, high cholesterol, and hypertension on all-cause mortality and cardiovascular disease mortality in Mexican Americans: the San Antonio Heart Study. *Am J Epidemiol*. 1996; 144:1058–1065.
104. Rewers M, Shetterly SM, Baxter J, et al. Prevalence of coronary heart disease in subjects with normal and impaired glucose tolerance and non-insulin dependent diabetes mellitus in a bi-ethnic Colorado population: the San Luis Valley Diabetes Study. *Am J Epidemiol*. 1992;135: 1321–1330.
105. Foody JM, Milberg JA, Robinson K, Pearce GL, Jacobsen DW, Sprecher DL. Homocysteine and lipoprotein(a) interact to increase CAD risk in young men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:493–9.
106. Harker LA, Slichter SJ, Scott CR, Ross R. Homocystinemia. Vascular injury and arterial thrombosis. *N Engl J Med* 1974; 291:537– 43.
107. Khajuria A, Houston DS. Induction of monocyte tissue factor expression by homocysteine: a possible mechanism for thrombosis. *Blood* 2000; 96:966– 72.
108. Durand P, Lussier-Cacan S, Blache D. Acute methionine load-induced hyperhomocysteinemia enhances platelet aggregation, thromboxane

- biosynthesis, and macrophage-derived tissue factor activity in rats. *FASEB J* 1997; 11:1157–68.
109. Falciani M, Gori AM, Fedi S, Chiarugi L, Simonetti I, Dabizzi RP, et al. Elevated tissue factor and tissue factor pathway inhibitor circulating levels in ischaemic heart disease patients. *Thromb Haemost* 1998; 79:495–9.
110. Malinow MR, Bostom AG, Krauss RM. Homocysteine, diet and cardiovascular diseases: a statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee, American Heart Association. *Circulation*. 1999; 99:178 –182.
111. Moll S. Homocysteine. Retrieved December 15, 2004, at <http://www.fvleiden.org/ask/77.html>
112. Mitchell BD, Haffner SM, Hazuda HP, et al. Diabetes and coronary heart disease in Mexican Americans. *Ann Epidemiol*. 1992; 2:101–106.
113. Stern MP, Gaskill SP. Secular trends in ischemic heart disease and stroke mortality from 1970–1976 in Spanish-surnamed and other white individuals in Bexar County, Texas. *Circulation*. 1978; 58:537–543.
114. Ortlepp JR, Hoffmann R, Killian A, et al. The 4G/5G promoter polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 gene and late lumen loss after coronary stent placement in smoking and nonsmoking patients. *Clin Cardiol*. 2001; 24:585–591.
115. He JQ, Gaur LK, Stempien-Otero A, et al. Genetic variants of the hemostatic system and development of transplant coronary artery disease. *J Heart Lung Transplant*. 2002; 21:629–636.

116. Anvari A, Schuster E, Gottsauner-Wolf M, et al. PAI-1 4G/5G polymorphism and sudden cardiac death in patients with coronary artery disease. *Thromb Res.* 2001;103:103–107
117. Jaconsen DW. Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease. *Clin Chem* 1998; 44: 1833-43.
118. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998; 338;1042-50.
119. Miner SE, Evroski J, Cole DE. Clinical chemistry and molecular biology of homocysteine metabolism: an update. *Clin Biochem* 1997; 30:189-201.
120. Ueland PM. Homocysteine species as components of plasma redox thiol status. *Clin Chem* 1995; 41:340-2.
121. Malinow MR. Plasma homocysteine: a risk factor for arterial occlusive diseases. *J Nutr* 1996; 126:1238S- 43S.
122. Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, Simon DI, Welch GN, Upchurch GR Jr, Loscalzo J. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest* 1993; 9:308-18.
123. Welch GN, Upchurch GR Jr. Loscalzo J. Hyperhomocysteinemia and atherothrombosis. *Ann NY Acad Sci* 1997; 811:48-58.
124. Loscalzo J. The oxidant stress of hyperhomocystein(e)mia. *J Clin Invest* 1996; 98:5-7.

125. Heinecke JW, Rosen H, Suzuki LA, Chait A. The role of sulfur-containing amino acids in superoxide production and modification of low density lipoprotein by arterial smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1987; 262:10098-103.
126. Isordia-Salas et al. C677T Polymorphism of the 5,10 MTHFR Gene in Young Mexican Subjects with ST-Elevation Myocardial Infarction. *Archives of Medical Research* 2010; 42: 246-250.
127. Genetics Home Reference. [Online] U.S. National Library of Medicine, 2010 17, May. [Cited: may 23, 2010] <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/MTHFR>.
128. Sabbagh, et al. high prevalence of MTHFR gene A1298C polymorphism in Lebanon. 1, Beirut, Lebanon: s.n., *Genet Test*,2008; 12; 75-80.1090-6576.
129. Manuela Födinger, Walter H. Hörl, Gere Sunder – Plassmann. *Molecular biology of 5, 10 methylenetetrahydrofolate reductase*. *JNEPHROL*, 2000; 13; 20-33.
130. Homberger, et al. *Genomic structure and transcript variants of the human methylenetetrahydrofolate reductase gene*. *Eur J Hum Genet*, 2000; 8;725-9.
131. Lorenzo D. Botto, Quanhe Yang. *5, 10-Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) Gene Variants and Congenital Anomalies*. *Am J Epidemiol*, 2000; 151; 862- 877.
132. <http://www.ebi.ac.uk/intenz/query?cmd=SearchEC&ec=1.7.99.5>
133. <http://www.expasy.ch/cgi-bin/enzyme-search-ec>
134. Kutzbach C, Stokstad EL. Mammalian methylenetetrahydrofolate reductase. Partial purification, properties, and inhibition by S-adenosylmethionine. *Biochim Biophys* 1971; 459-77.

135. Gladson c L, Schleef R R, Binder B R, Loskutoff D J, Griffin J H. A comparison between activated protein c and des-1-41-light chain-activated protein c in reaction with type 1 plasminogen activator inhibitor. *Blood*. 1989; 74: 173-81.
136. Ryan M P, kutz S M, Higgins P J. Complex regulation of plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI- 1) gene expression by serum and substrate adhesion. *Biochem J*. 1996; 314: 1041-1046.
137. Dawson S, Hamsten A. Wiman B, Henney A, Humphries s. Genetic variations at the plasminogen activator-1 locus is associated with altered levels of plasma plasminogen activator inhubitor-1 activity. *Arterioscler Thromb*. 1991; 11: 183-190.
138. Declerck P, De Mol M, Vaughan D et al. Identification of a conformationally distinct form of plasminogen activator inhibitor-1, acting as a noninhibitory substrate for tissue-type plasminogen activator. *J Biol Chem* 1992; 267: 11693-11696.
139. Hekman C, Loskutoff D. Endothelial cells produce a latent inhibitor of plasminogen activators that can be activated by denaturants. *J Biol Chem* 1985; 60: 11581-11587
140. Wiman B. Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI- 1) in plasma: its role in thrombotic disease. *Thromb Haemost* 1995; 74: 71-76
141. Sternlicht MD, Dunning AM, Moore DH et al. Prognostic Value of PAI1 in Invasive Breast Cancer: Evidence That Tumor-Specific Factors Are More Important Than Genetic Variation in Regulating PAI1 Expression. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15: 2107-2114.
142. Andreasen P, Kjoller L, Christensen L et al. The urokinasa type plasminogen activator system in cancer metastasis: a review. *Int J Cancer* 1997; 72: 1-22.

143. Bodary P, Wickenheiser K, Eitzman D. Recent advances in understanding endogenous fibrinolysis: implications for molecular-based treatment of vascular disorders. *Expert Rev Mol Med* 2002; 4:1-10
144. Bachmann F, Kruithof E. Tissue plasminogen activator, chemical and physiological aspects. *Semin Thromb Hemost* 1984; 10: 17
145. Wetendorp R G, Hottenga j j, slagboom P E. Variation in plasminogen-activatorinhibitor-1 gene and risk of meningococcal septic shock. *Lancet*. 1999; 354: 561-563.
146. Menges T. Hermans W M, Simon G L. Plasminogen- activator-inhibitor-1 4g/5g promoter polymorphic and prognosis of severely injured patient. *Lancet*. 2001; 357: 1096-1097.
147. Cooper J A, Miller G J, Bauer k a. Comparison of novel hemostatic factors and conventional risk factors for prediction of coronary heart disease. *Circulation*. 2000: 2816-2822.
148. Ossei- GerningN, Mansfield M W, Stickland M H, Wilson I J, Grant P J. Plasminogen activator inhibitor 1 promoter 4g/5g genotype and plasma levels in relation to a history of myocardial infarction in patients characterized by coronary angiography. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997; 17: 33-37.
149. Vague P, Juhan-Vague I, Aillaud MF, et al. Correlations between blood fibrinolytic activity, plasminogen activator inhibitor levels, plasma insulin and relative body weight in normal and obese subjects. *Metabolism* 1986;35:250-3.
150. Vague P, Juhan-Vague I, Chabert V, et al. Fat distribution and plasminogen activator inhibitor activity in non diabetic obese women. *Metabolism* 1989;38:913-5.

151. Jujan- Vague I, Alessi MC, Joly P, et al. Plasma plasminogen activator inhibitor-1 in angina pectoris influence of plasma insulin and acute-phase response. *Arteriosclerosis* 1989;9:362-7.
152. Landin K, Tenborn L, Smith U. Elevated fibrinogen and plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in hypertension are related to metabolic risk factors for cardiovascular disease. *J Intern Med* 1990; 227:273-8.
153. Juhan- Vague I, Roul C, Alessi MC, et al. Increased plasminogen activator inhibitor activity in non insulin dependent diabetic patients*/relationship with plasma insulin. *Thromb Haemost* 1989; 61:370-3.
154. Almer L, Ohlin H. Elevated levels of the rapid inhibitor of plasminogen activator in acute myocardial infarction. *Thromb Res* 1987; 47:335-9.
155. Gray RP, Yudkin JS, Patterson DL. Plasminogen activator inhibitor: a risk factor for myocardial infarction in diabetic patients. *Br Heart J* 1993; 69:228-32.
156. Gray RP, Yudkin JS, Patterson DL. Enzymatic evidence of impaired reperfusion in diabetic patients after thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a role for plasminogen activator inhibitor? *Br Heart J* 1993; 70:530-6.
157. Sane DC, Stump DC, Topol EJ, et al. Correlation between baseline plasminogen activator inhibitor levels and clinical outcome during therapy with tissue plasminogen activator for acute myocardial infarction. *Thromb Haemost* 1991; 65:275-9.
158. Sinkovic A. Pretreatment plasminogen activator inhibitor-1 (PAI- 1) levels and the outcome of thrombolysis with streptokinase in patients with acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1998;136:406-11.

159. Hamsten A, De Faire U, Walldius GM, et al. Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction. *Lancet* 1987;2:3-9.
160. Mellbring G, Dahlgren S, Wiman B. Plasma fibrinolytic activity in patients undergoing major abdominal surgery. *Acta Chir Scand* 1985;151:109-12.
161. Kruithof EKO, Calandra T, Pralong G, et al. Evolution of plasminogen activator inhibitor type 1 in patients with septic shock- correlation with cytokine concentrations. *Fibrinolysis* 1993;7:117 -21.
162. Colucci M, Paramo JA, Collen D. Generation in plasma of a fast acting inhibitor of plasminogen activator in response to endotoxin stimulation. *J Clin Invest* 1985;75:818.
163. Datos demográficos de mortalidad. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI).
www.inegi.org.mx/est/contenidos/espanol/rutinas/ept.asp?t=mpob107&s=est&c=14742
164. Yamada Y, Ichihara S, Nishida T. Molecular genetics of myocardial infarction. *Genomic Med.* 2008;2:7-22.
165. Voetsch B, Loscalzo J. Genetic determinants of arterial thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:216-229.
166. Hamsten A, Wiman B, de Faire U, Blomback M. Increased plasma levels of a rapid inhibitor of tissue plasminogen activator in young survivors of myocardial infarction. *N Engl Med.* 1985;313:1557-63.
167. Nilsson JB, Boman K, Jansson JH, Nilsson T, Näslund U. The influence of acute-phase levels of haemostatic factors on reperfusion and mortality in patients with

acute myocardial infarction treated with streptokinase. *J Thromb Thrombolysis*. 2008;26:188-95.

168. 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: 573-9.

169. Sobel BE, Taatjes DJ, Schneider DJ. Intramural plasminogen activator inhibitor type-1 and coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:1979-89.