

11205



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA
"IGNACIO CHAVEZ"

**RESISTENCIA A LA PROTEÍNA C ACTIVADA EN
PACIENTES SUPERVIVIENTES A UN INFARTO
AGUDO DE MIOCARDIO**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN CARDIOLOGÍA

PRESENTA:

DRA. GABRIELA MELÉNDEZ RAMÍREZ
RESIDENTE DE 3ER AÑO DE CARDIOLOGÍA

ASESOR DE TESIS:

DR. RAÚL IZAGUIRRE ÁVILA
JEFE DEL SERVICIO DE HEMATOLOGÍA DEL

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA "IGNACIO CHÁVEZ"



MEXICO, D.F.

2005

0350818



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central

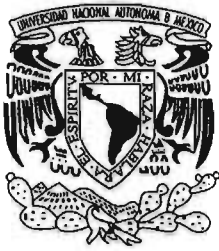


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

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.




SUBDIVISIÓN DE ESPECIALIZACIÓN
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U.N.A.M.

Dr. Raúl Izaguirre Ávila

ASESOR

Jefe del Departamento de Hematología
Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"

Dr. José Fernando Guadalajara Boo.

Profesor Titular del Curso de Especialización y Residencia en Cardiología

Director de Enseñanza

Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"



MEXICO

Inseñanza

AGRADECIMIENTOS:

A mis padres: por haberme enseñado a salir adelante por muy duro que fuese el camino: aquí tienen el fruto de su esfuerzo.

A Moisés: por su cariño y apoyo incondicional.

Al Doctor Izaguirre por todo el tiempo y esfuerzo invertido en la elaboración de esta tesis.

A la química Evelin Cortina de la Rosa por su ayuda en la elaboración de la base de datos.

ÍNDICE GENERAL

ANTECEDENTES	2
Nuevos factores de riesgo cardiovascular	2
Hiperhomocisteinemia	2
Factores inflamatorios	3
Factores protrombóticos	4
Lipoproteína (a)	4
Sistema de la coagulación	7
Vía extrínseca	8
Vía intrínseca	8
Modelo actual de la coagulación	9
Activación de la protrombina	11
Factor V	13
Factor VIII	14
Regulación antitrombótica	17
Vía de la proteína C anticoagulante	17
Proteína S	19
Efectos de la proteína C activada	20

Trombofilia y eventos cardiovasculares	23
Proteína C activada y factor V de la coagulación	24
Prueba de la resistencia de la proteína C activada	27
Resistencia a la proteína C activada e infarto del miocardio	29
Factor de Leiden e infarto del miocardio	31
TESIS	39
Planteamiento del problema	40
Justificación	40
Hipótesis	40
Objetivos	41
Diseño del estudio	41
Grupo de estudio	41
Criterios de inclusión	42
Tamaño de la muestra	42
Factibilidad	42
Aspectos éticos	42
Definición de las variables	43
Análisis estadístico	46
Material, métodos y procedimientos	46
Grupo de enfermos	51

RESULTADOS	53
Género	53
Edad	54
Prevalencia de RPCA	55
Antecedentes heredo-familiares	57
Antecedentes personales patológicos	59
Localización del infarto de miocardio	61
Vasos afectados	63
Tratamiento	66
Complicaciones	67
DISCUSIÓN	72
CONCLUSIONES	84
BIBLIOGRAFÍA	88

ANTECEDENTES

El infarto agudo del miocardio frecuentemente resulta de la ruptura, fisura o ulceración de una placa aterosclerosa que es seguida por la formación de trombo. Los factores de riesgo que más se han asociado con la aterosclerosis y que son potencialmente modificables son el tabaquismo, las dislipoproteinemias, la hipertensión arterial sistémica, la diabetes mellitus, la obesidad, la dieta, la escasa actividad física, el consumo de alcohol y algunos factores psicosociales.^{1,2}

Además de estos factores de riesgo cardiovascular bien establecidos, existe evidencia de otras alteraciones descritas recientemente que se han asociado a enfermedad arterial coronaria: la hiperhomocisteinemia, la proteína C reactiva (PCR), los procesos infecciosos, los factores trombogénicos: la lipoproteína a -Lp (a)-, niveles elevados de factor VII y VIII de la coagulación, deficiencia de proteína C y S, resistencia a la proteína C activada.

NUEVOS FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

Hiperhomocisteinemia

La homocisteína es el producto del metabolismo de la metionina, una proteína presente en la dieta. Los procesos que comprenden este ciclo metabólico, transulfuración y remetilación, requieren de ciertas enzimas y cofactores vitamínicos. La deficiencia de metionina S-metiltransferasa, metionina S-metiltransferasa o 5-metiltetrahidrofolato pueden causar incremento de homocisteína. Por otra parte, la

deficiencia nutricional de cualquiera de los 3 cofactores vitamínicos: vitamina B6, vitamina B 12 o folato, puede igualmente resultar en incremento de homocisteína. La homocisteína puede impactar adversamente la cascada de la coagulación: incrementa la adhesividad plaquetaria, activa los factores V, X y XII de la coagulación e interfiere con la fibrinólisis al incrementar la unión de la Lp (a) a la fibrina. La homocisteína también interfiere con la vasodilatación dependiente del endotelio.

Ciertos procesos están asociados con un incremento en los niveles de homocisteína. Estos incluyen el periodo post-transplante de órganos sólidos, insuficiencia renal, hipotiroidismo, psoriasis, ciertas neoplasias y anemia perniciosa. Los medicamentos asociados con exceso de homocisteína incluyen anticonvulsivantes como fenitoína y carbamacepina, metotrexate y la combinación de niacina y colestipol y ciertos anticonceptivos.

Factores inflamatorios

Resulta claro que la aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria. Estudios epidemiológicos han mostrado incremento de factores inflamatorios que incluyen interleucina 6 (IL-6), factor de necrosis tumoral (FNT) alfa y moléculas de adhesión, como la molécula de adhesión intracelular 1 (ICAM-1). Los marcadores de inflamación aguda como la proteína C reactiva y el fibrinógeno también predicen eventos cardiovasculares futuros. Estas proteínas son producidas por el hígado en respuesta a citocinas sistémicas. La obesidad (en particular la centrípeta) está asociada a niveles incrementados de PCR.

De los marcadores inflamatorios, la PCR es la de más utilidad clínica.

Factores protrombóticos

Los factores de riesgo protrombótico asociados con enfermedad cardiovascular pueden dividirse en 2 clases: aquellos que incrementan la coagulación o la formación del coágulo y aquellos que inhiben la fibrinólisis o disolución del coágulo. Los factores protrombóticos incluyen el fibrinógeno, inhibidor del activador tisular del plasminógeno-1 (PAI-1), factor de von Willebrand y dímeros D, entre otros.³

En 1910 Henrick describió la trombosis de una arteria coronaria como causa del infarto agudo del miocardio. En la actualidad se sabe que la oclusión trombótica ocurre en el sitio de ruptura de una placa coronaria ateromatosa y que este fenómeno es la causa más común de infarto del miocardio.

Lipoproteína a (Lp a)

Es una partícula lipoprotéica compuesta por apo B-100 y apolipoproteína (a), unidas por un puente disulfuro. La apo B-100 es un componente del colesterol LDL y la apolipoproteína (a) es homóloga a la molécula del plasminógeno. Estos componentes juntos forman una lipoproteína que es aterogénica y protrombótica. La lipoproteína (a) se ha relacionado a aterotrombosis patológica por su participación en la formación de células espumosas, reducción de la vasodilatación dependiente del endotelio, oxidación del colesterol LDL e inhibición de la fibrinólisis por competencia con el plasminógeno en los sitios de unión. La

oxigenación fragmenta a la Lp (a) y las partículas resultantes pueden ser aterogénicas.

La concentración plasmática de Lp (a) está determinada genéticamente. Se estima que 15-20% de los pacientes con enfermedad cardiovascular prematura tiene niveles elevados de Lp (a). La fuerza del valor predictivo de la Lp (a) como factor de riesgo cardiovascular parece variar inversamente con la edad. La única terapia para reducción de la Lp (a) es la niacina.

SISTEMA DE LA COAGULACIÓN

El mecanismo de la coagulación sanguínea consiste en una serie de reacciones proteolíticas ligadas en las cuales, varios zimógenos se convierten a enzimas. En cada paso un zimógeno se convierte en su correspondiente serinproteasa, la cual es responsable de la subsiguiente conversión (Figura 1). Esta activación se lleva a cabo en la superficie de las plaquetas, leucocitos y células endoteliales. Las transformaciones son aceleradas por cofactores proteínicos no enzimáticos que actúan alterando la conformación del zimógeno o al unir las enzimas convertidoras y los zimógenos en proximidad cerrada sobre la superficie.

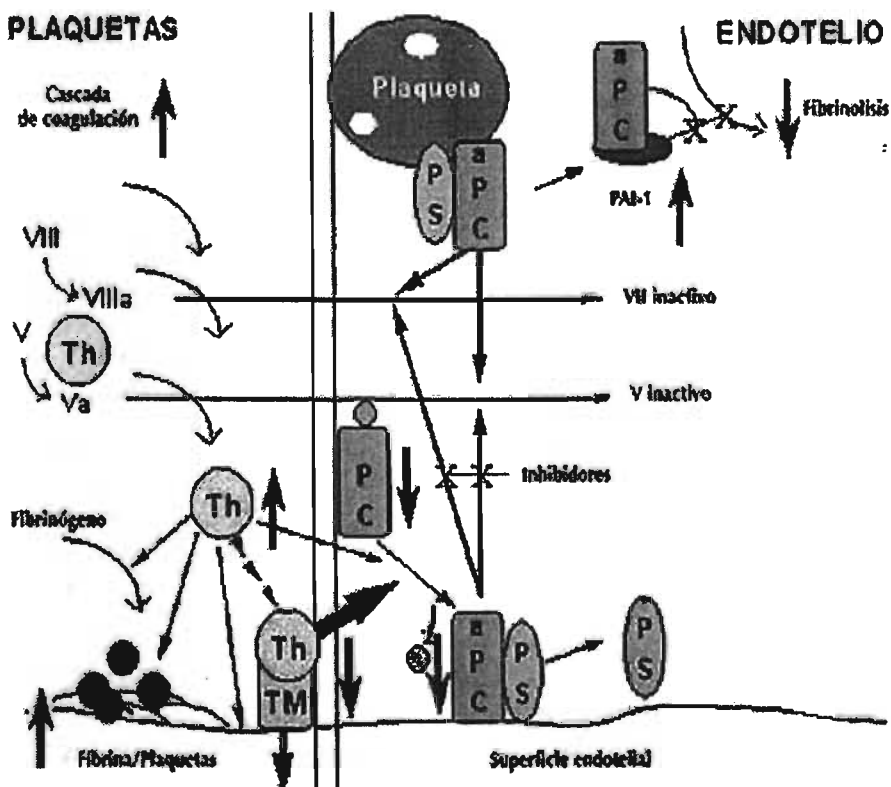


Figura 1. - Activación del sistema de la coagulación sobre la superficie plaquetaria y el endotelio.

Esta compleja serie de eventos han sido arbitrariamente dividida en 2 distintas vías: vía intrínseca y extrínseca de la coagulación (Figura 2).

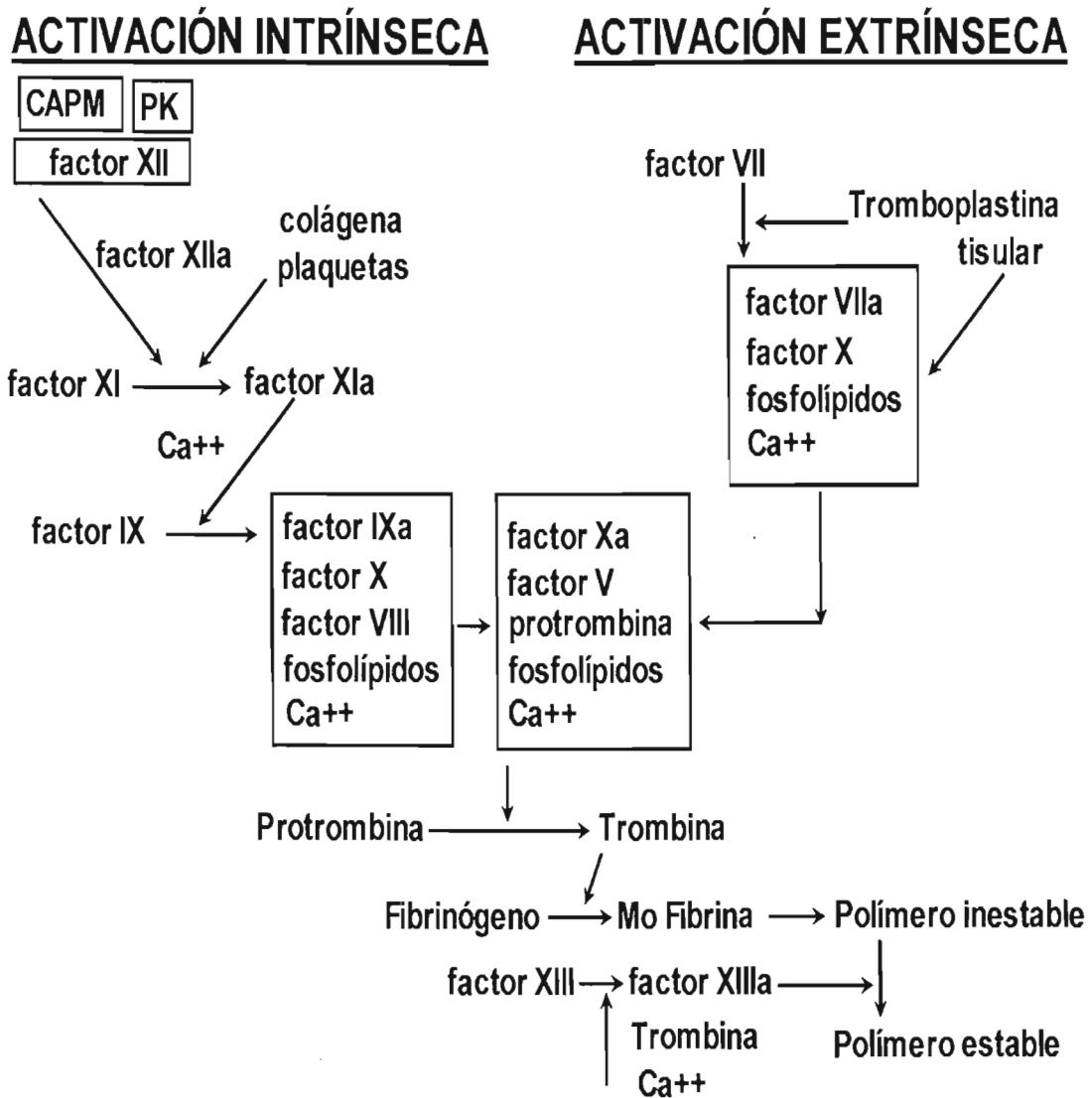


Figura 2. - Activación intrínseca y extrínseca de la coagulación. La activación intrínseca se inicia por la activación del factor XII por la calicreína. La activación extrínseca (también conocida como vía del factor tisular) inicia con la expresión del factor tisular sobre las células endoteliales que secundariamente interactúa con su cimógeno (factor VII).

VÍA EXTRÍNSECA

La vía extrínseca está compuesta por un zimógeno sanguíneo circulante, el factor VII, así como del factor tisular, un cofactor glucoprotéico unido a la membrana presente en la mayoría de células extravasculares (el factor tisular no circula normalmente en la sangre). Algunos agonistas, como las endotoxinas, son capaces de inducir la expresión del factor tisular sobre las células endoteliales y monocitos. La interacción del zimógeno y su cofactor resulta en la producción de una serinproteasa, el factor VIIa, el cual puede convertir el zimógeno sanguíneo circulante factor X en la serinproteasa factor Xa (Figura 3). La producción del factor Xa tanto por la vía intrínseca como por la extrínseca de la coagulación lleva a la conversión de protrombina a trombina en presencia del cofactor proteínico factor V/Va. La acción de la trombina es responsable de la conversión del substrato fibrinógeno a fibrina, la inducción de la activación de las plaquetas y la subsecuente formación de puentes cruzados de fibrina y finalmente del coágulo.⁴

VÍA INTRÍNSECA

La vía intrínseca de la coagulación sanguínea incluye cofactores proteínicos y enzimas. Esta vía se inicia por la activación del factor XII por la calicreína sobre superficies cargadas negativamente. El cininógeno de alto peso molecular (CAPM) facilita esta activación. La forma enzimática del factor XII, factor XIIa, cataliza la conversión del factor XI, una proenzima, a su forma activa, el factor XIa. En presencia de iones calcio, el factor XIa activa a la proenzima factor IX a su

forma enzimática, factor IXa. El factor IXa se une a su cofactor, el factor VIIIa, unido a la membrana en presencia de iones calcio para generar un complejo con actividad enzimática. Este complejo convierte a la proenzima factor X a su forma enzimática, factor Xa. En una serie paralela de interacciones el factor Xa se une al cofactor factor Va, unido a la membrana en presencia de iones calcio para generar un complejo con actividad enzimática conocido como protrombinasa. Este complejo convierte a la proenzima protrombina a su forma enzimática, la trombina. La trombina actúa sobre el fibrinógeno para generar el monómero de fibrina, el cual rápidamente se polimeriza para formar el coágulo de fibrina. ⁵ (Figura 2)

MODELO ACTUAL DE LA COAGULACIÓN

Hoffman y colaboradores ⁶ han propuesto un modelo de la coagulación en el que se pone de manifiesto la influencia de las células en el proceso de la coagulación. De acuerdo a ello, la coagulación ocurre no como una cascada, sino en 3 diferentes pasos: 1) iniciación, en la cual el factor tisular se expone en la superficie de las células, 2) amplificación, en la cual las plaquetas y cofactores están activados para la producción a gran escala de trombina y, 3) propagación, en la cual una gran cantidad de trombina se genera sobre la superficie plaquetaria. Este modelo explica algunos de los aspectos de la hemostasis que el modelo de las vías de la coagulación no lo hace, como es el hecho de que la activación del factor X por la vía extrínseca no compensa la deficiencia del factor

VIII o IX en los hemofílicos. Así mismo este modelo cuestiona el porqué la deficiencia del factor XII, cininógeno de alto peso molecular o precalicreína no causa una tendencia hemorrágica clínica. (Figura 3)

ACTIVACIÓN DE LA COAGULACIÓN

Vía del Factor Tisular

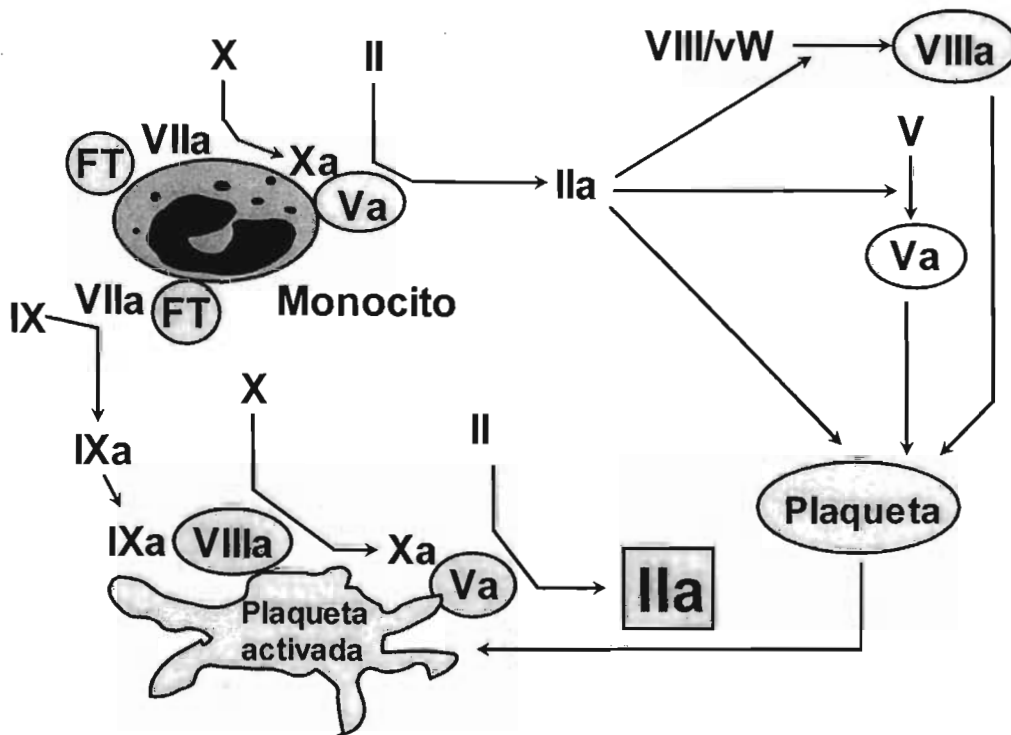


Figura 3. - Modelo actual de la coagulación. El factor tisular unido a la membrana de la mayoría de las células extravasculares (en este caso monocito) interactúa con los factores de la coagulación para la producción de trombina, la cual se genera en mayor cantidad sobre la superficie plaquetaria por medio de la propagación.

ACTIVACIÓN DE LA PROTROMBINA

La protrombina es un zimógeno de cadena sencilla con una estructura de 2 triples asas llamadas kringles, con su región N terminal. (Figura 4). Los kringles dividen esta área de la molécula de la protrombina en 2 dominios semi-independientes llamados regiones F1 y F2 las cuales contienen 2 estructuras especializadas que juegan un papel esencial en su conversión a trombina. La región F2 contiene un sitio de unión al factor V.

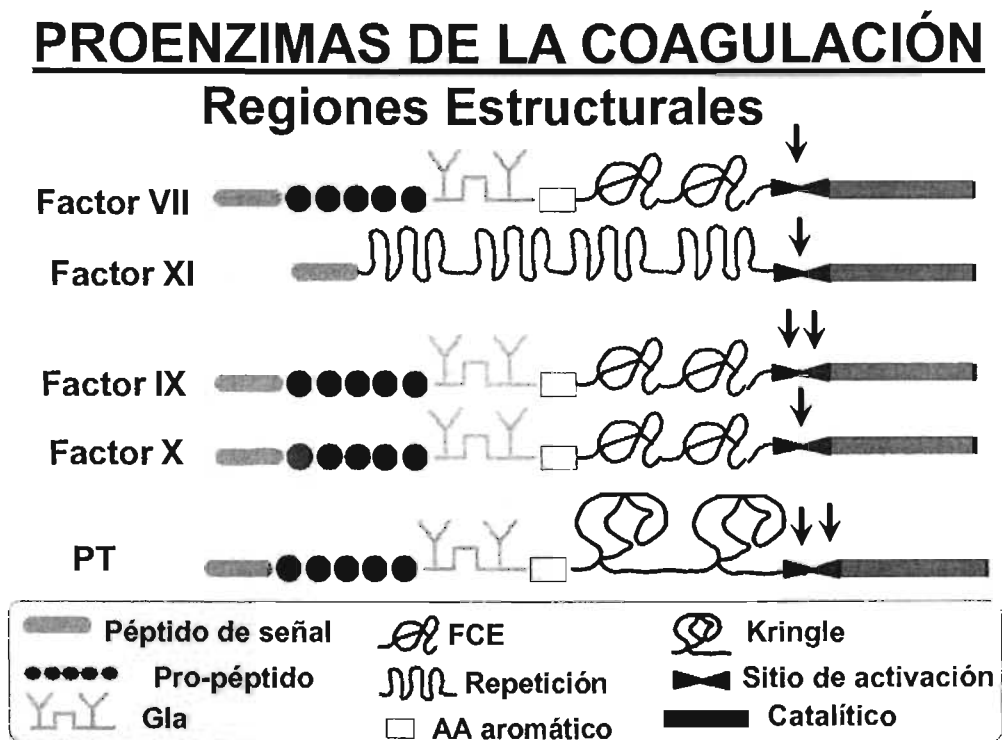


Figura 4. - Esquema de las regiones estructurales de las proenzimas de la coagulación. Con flechas se señalan los sitios de activación de las mismas.

Una vez que cualquiera de las vías de la coagulación han generado factor Xa en suficiente cantidad, éste puede convertir la protrombina en trombina al escindir su molécula en los residuos Arg273-thr274 y/o Arg 155-Ser156 y liberar los polipéptidos terminales F1 y F2 o F1+2 (Figura 5). En un paso subsiguiente del mecanismo de activación, el factor Xa escinde Arg322-Ile323 en la restante región carboxi-terminal de la protrombina y genera un componente de 2 cadenas con actividad enzimática. También puede ocurrir la liberación de un polipéptido de 13 aminoácidos de la región amino (N)- terminal. La escisión de la Arg322-Ile323 unida al cimógeno genera una forma enzimáticamente activa de trombina sin liberación de la región N terminal.

ACTIVACIÓN DE LA PROTROMBINA

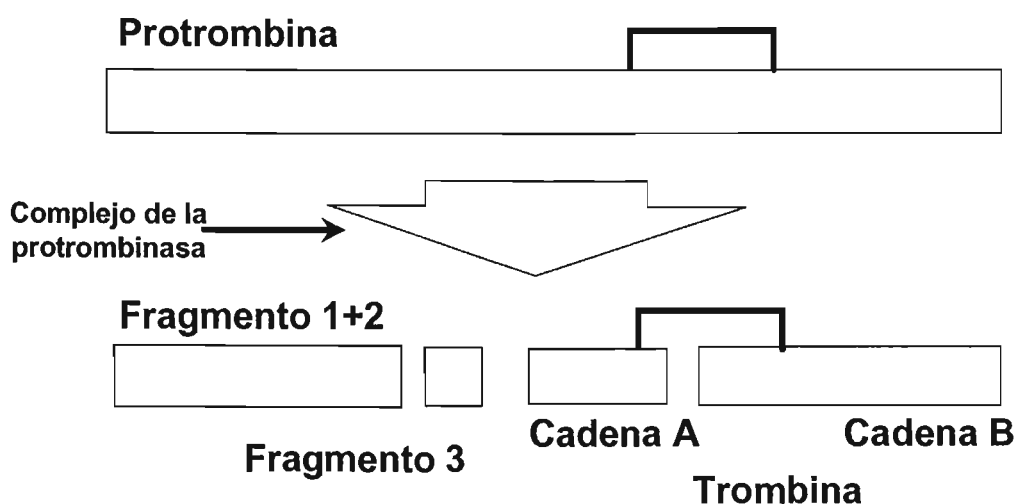


Figura 5. - Activación de la protrombina por medio del complejo de la protrombinasa, liberando al fragmento F1 + 2 (este último tiene un sitio de unión para el factor V).

Por medio de esta secuencia de eventos, la generación *in vitro* de trombina ocurre lentamente, requiriendo varias horas. *In vivo*, el proceso es dramáticamente acelerado por la acción del cofactor V/Va en conjunto con los iones de calcio y un fosfolípido o la superficie plaquetaria.

La unión del factor V a la región F2 de la protrombina permite al cofactor interactuar con el cimógeno y unirse al factor X y a la superficie plaquetaria. El complejo factor V- factor Xa-protrombina-plaqueta lleva a la protrombina y al factor X en una aproximación cercana e incrementa su probabilidad de interacción. Además la unión de la protrombina al complejo factor V-plaqueta induce una alteración conformacional en el cimógeno que hace a ésta más susceptible a la proteólisis por el factor Xa. El resultado de estas interacciones múltiples es una aceleración de 10, 000 a 15, 000 veces en la velocidad de conversión de protrombina a trombina.

FACTOR V

El locus del gen del factor V se encuentra en el cromosoma 1.¹⁵ El factor V se sintetiza como una sola cadena polipeptídica de 330 kDa; durante la hemostasia primaria el factor V se libera de los gránulos plaquetarios y tiene mínima actividad biológica hasta que es escindido por la trombina o el factor Xa en 3 diferentes sitios.¹⁰ El proceso de activación resulta en la pérdida del dominio central en tres fragmentos separados (Figura 6). Este evento permite el ensamble de las recién formadas cadenas pesada y ligera y permite que estos 2

forma activa por la trombina o el factor Xa. Su función biológica es actuar en la conversión del factor X al factor Xa por el factor IXa en presencia de fosfolípidos y calcio (vía intrínseca de la coagulación).⁷

La activación del factor VIII por la trombina ocurre por la escisión sobre la arginina 1682. Una segunda escisión ocurre sobre la arginina 372; ésta es catalizada por la trombina o por el factor Xa. Un tercer sitio de escisión es sobre la arginina 740. Las moléculas mutantes del factor VIII, en las cuales la arginina 740 es cambiada por isoleucina tienen una actividad normal después de la activación de la trombina sugiriendo que esta escisión no es requerida.⁴

La proteína C activada actúa sobre el factor VIII de la coagulación en 3 diferentes sitios (Figura 7)

MOLECULA DEL FACTOR VIII HUMANO

Regiones estructurales

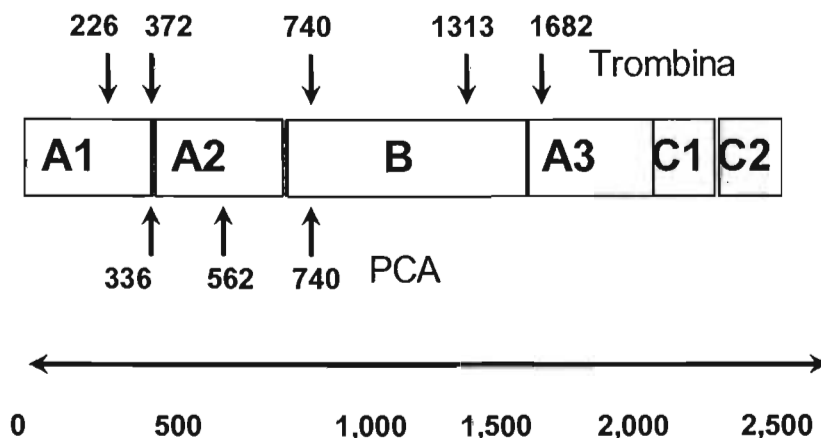


Figura 7. - Esquema de la molécula del factor VIII. En la parte superior se observan los sitios en los que actúa la trombina y/o factor Xa de la coagulación para activarlo. En la parte inferior los sitios de escisión por parte de la Proteína C activada para inactivarlo.

Existen varias proteínas plasmáticas que inhiben a las serinproteasas involucradas en la coagulación, fibrinólisis y formación de cinina. Reciben el nombre de serpinas e incluyen la antitrombina III, inhibidor de la proteína C, alfa 2 macroglobulina, inhibidor de la vía del factor tisular e inhibidor del activador del plasminógeno.

REGULACIÓN ANTITROMBÓTICA

VIA DE LA PROTEÍNA C ANTICOAGULANTE.

En 1960 Seegers describió un principio anticoagulante al estudiar proteínas dependientes de vitamina K. Le llamó Autoprotrombina IIA. En 1976 Stenflo describió un principio anticoagulante en electroforesis de proteínas dependientes de vitamina K. Le llamó proteína C. Por su parte Dicipio, en 1977 al estudiar la función de la PC, descubrió su co-factor, le llamó proteína S. En 1980 Walker encontró que la PC inhibe a los factores V y VIII de la coagulación. En 1984 se reportaron los primeros casos de trombosis asociada a deficiencia de PS. En 1985 se estableció que la deficiencia de PS tiene manifestaciones clínicas similares a las de PC y AT-III.⁸

La proteína C humana es una glucoproteína dependiente de vitamina K (62kDa). La secuencia completa de los 461 aminoácidos ya ha sido dilucidada. La proteína C consiste en una cadena pesada de 41 kDa y una cadena ligera de 21 kDa, las cuales están unidas por un puente disulfuro (Figuras 8 y 9). La proteína C se sintetiza en las células hepáticas y circula en el plasma humano a concentraciones de 4 mcg/mL. El gen humano que codifica la proteína C tiene un tamaño de 12 kb y contiene 9 exones y está localizado en el cromosoma 2.

Para desarrollar su función anticoagulante, la proteína C es convertida a un compuesto con actividad proteasa, la proteína C activada, por la unión de la trombina a la trombomodulina endotelial en presencia de calcio (Figura 10). El sitio

activo de la proteína C está localizado en la cadena pesada. La trombina es la única serinproteasa fisiológicamente relevante que convierte cantidades significantes de proteína C a proteína C activada.

Existen aproximadamente 100,000 moléculas de trombomodulina por célula endotelial. En la microvasculatura el área de superficie del endotelio en contacto con la sangre es considerablemente mayor que en los grandes vasos, por lo tanto es probable que la activación de la proteína C ocurra primariamente en la microvasculatura.

El complejo trombina-antitrombina III se une más rápidamente a la trombomodulina que la trombina libre. Después de que la trombina interactúa con la antitrombina III, el complejo se disocia de la trombomodulina permitiendo al receptor la unión adicional de trombina.

La proteína C activada tiene una especificidad para los residuos que contienen arginina: factor VIIIa y factor Va.

PROTEÍNAS REGULADORAS

Regiones Estructurales

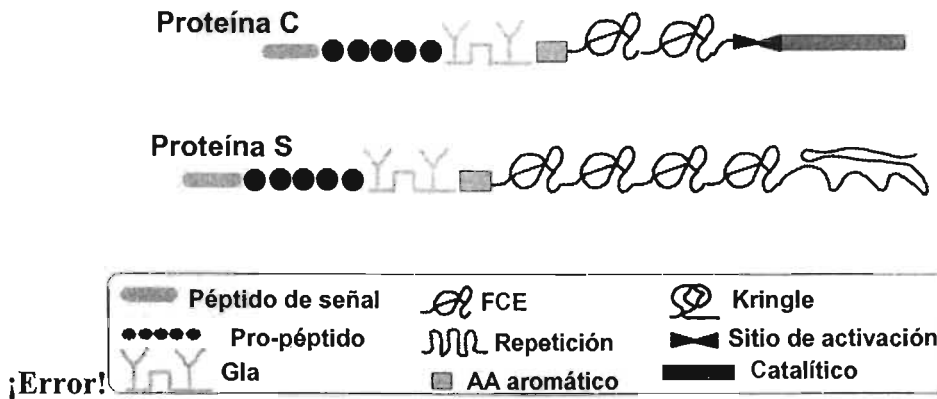


Figura 8. - Esquema de las regiones estructurales de la proteína C y proteína S. A diferencia de la proteína S, la proteína C tiene sitio de activación.

PROTEÍNA S

La proteína S es una glucoproteína dependiente de la vitamina K (79kDa) que se sintetiza por los hepatocitos, células vasculares endoteliales y megacariocitos. El complejo de la proteína C activada con la proteína S sobre las plaquetas o la membrana celular endotelial cataliza la inactivación de los factores Va y VIIIa. La proteína S está presente en el plasma a una concentración de 20-25 mcg/mL. Se encuentra en 2 formas: aproximadamente el 60% está unida en forma reversible a un componente regulatorio de la vía clásica del complemento, C4b y el restante 40% se encuentra libre. Solamente este último funciona como un cofactor para la proteína C activada. En contraste con las otras proteínas de la coagulación

dependientes de la vitamina K, la proteína S no es un cimógeno de una serinproteasa (Figuras 8 y 9).

ESTRUCTURA DE PROTEÍNAS C, S Y TM

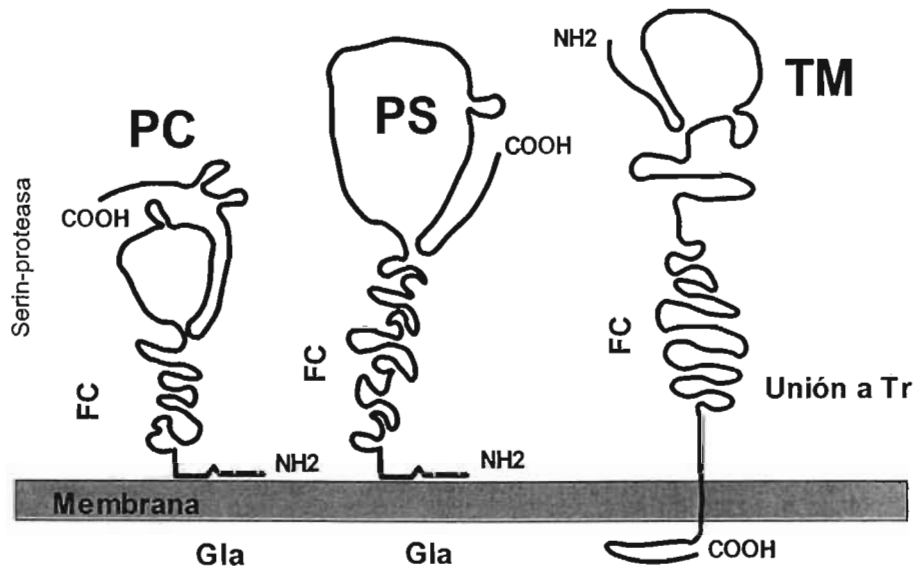


Figura 9. - Esquema de la estructura de la proteína C, proteína S y trombomodulina. A diferencia de la proteína S la proteína C es una serinproteasa.

EFFECTOS DE LA PROTEÍNA C ACTIVADA

La proteína C activada es capaz de inactivar 2 cofactores de la cascada de la coagulación: los factores Va y VIIIa (Figura 10). La proteína C activada escinde al factor V y así suprime la activación de protrombina por el factor Xa sobre la superficie plaquetaria al escindir al péptido unido a la membrana a través del factor V. Debido a que el factor Va es el receptor del factor Xa sobre la superficie

plaquetaria, esta enzima puede proteger al cofactor activado de la acción proteolítica de la proteína C activada. La proteína C activada también puede destruir la actividad biológica del factor VIIIa sobre la membrana celular (Figuras 10 y 11).⁴

EFFECTOS ANTICOAGULANTES DE LA PROTEÍNA C

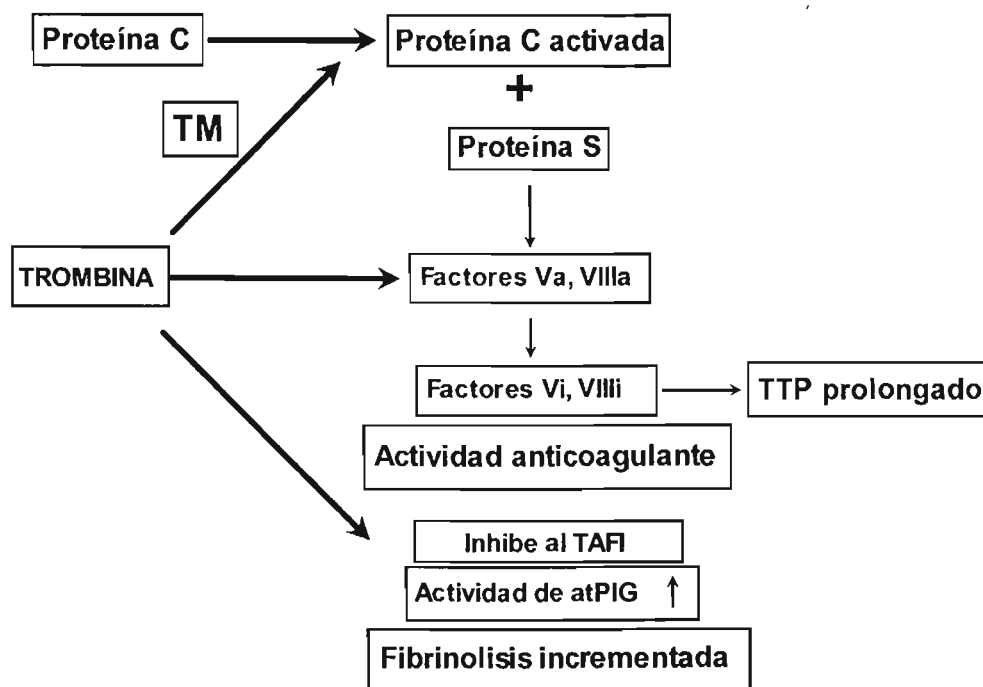


Figura 10. - La proteína C unida a su cofactor (proteína S) inactiva a los factores de la coagulación Va y VIIIa por lo cual el TPT se prolonga.

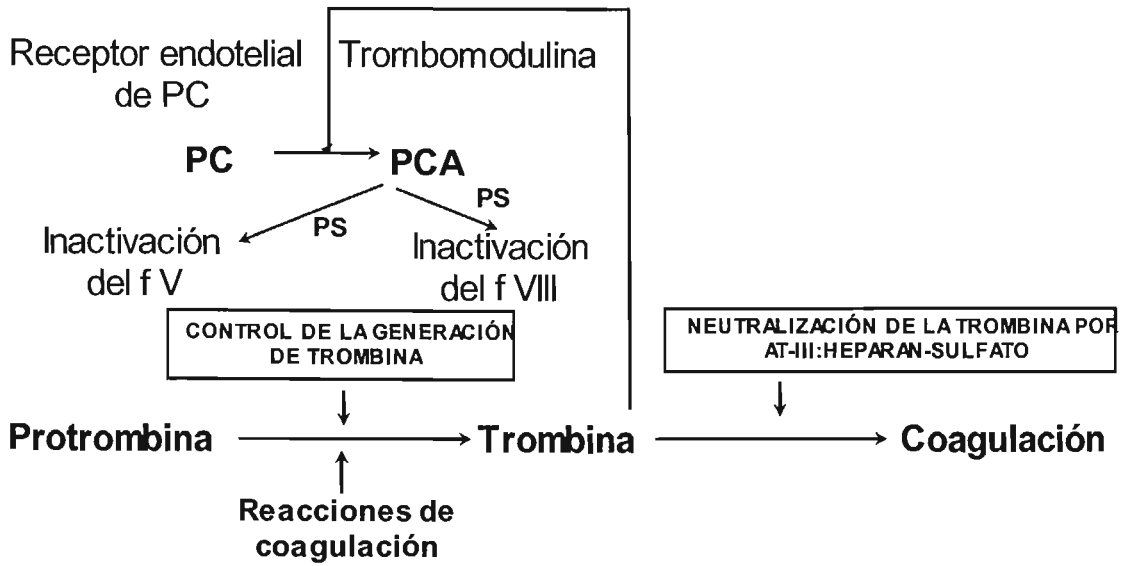


Figura 11. - La inactivación de los factores V y VIII de la coagulación por la proteína C activada ejerce un control sobre la generación de trombina por medio de la inhibición de reacciones de la cascada de la coagulación.

TROMBOFILIA Y EVENTOS CARDIOVASCULARES

Además de las características locales de las paredes del vaso, el balance de los factores procoagulantes y anticoagulantes indudablemente juegan un papel crítico en la ocurrencia, extensión y estabilidad del trombo coronario oclusivo y aumenta el riesgo de infarto de miocardio.⁹

En el sistema de regulación antitrombótica de la hemostasia, los defectos genéticos como son la deficiencia de la proteína C y S, están asociadas a enfermedad tromboembólica venosa, pero sólo han sido reportados pocos casos de deficiencia de proteína S (cofactor de la PCA) asociados con infarto de miocardio.¹⁰

La resistencia a la proteína C activada se ha reconocido como la causa hereditaria más importante de tromboembolia venosa. Se presenta en 21-33% de los pacientes con trombosis venosa profunda y en más del 50% de los pacientes con trombofilia no explicada.¹¹

Del 90 al 95% de los casos de resistencia a la proteína C activada son causados por una mutación puntual en el gen del factor V. En el restante 5 a 10%, la resistencia a la proteína C activada se debe a la presencia del anticoagulante lúpico, incremento del factor VIII de la coagulación, u otros defectos, como respuesta al embarazo o al uso de anticonceptivos orales. A ello se le denomina *resistencia a la proteína C activada adquirida*.^{12 13}

Doggen y colaboradores examinaron la presencia de la protrombina 20210A (formada por una variación genética del gen de la protrombina) y encontraron

que los portadores de esta mutación tienen un riesgo aumentado de infarto de miocardio y que la presencia combinada de un factor de riesgo cardiovascular mayor incrementa el riesgo considerablemente.¹⁴

PROTEINA C ACTIVADA Y FACTOR V DE LA COAGULACIÓN.

La proteína C activada (PCA) es una proteasa de serina con potentes propiedades anticoagulantes, que se genera sobre el endotelio a partir de un precursor inactivo. Durante la hemostasis normal la PCA limita la formación del coágulo por inactivación proteolítica de los factores Va y VIIIa de la coagulación (Figuras 10, 11 y 12). Para hacer esto eficientemente la enzima necesita un cofactor no enzimático: la proteína S.¹⁵

INACTIVACIÓN DE COFACTORES

Modelo Molecular

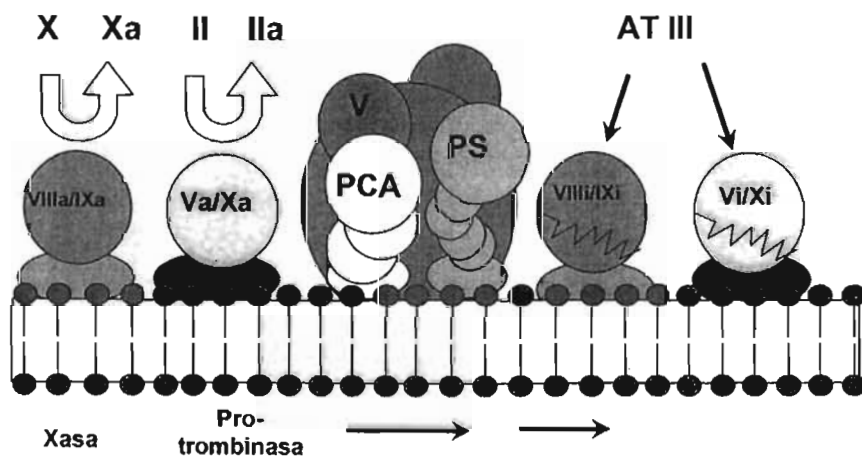


Figura 12. - Inactivación de los factores V y VIII de la coagulación por la proteína C activada, esta última requiere de la presencia de su cofactor (Proteína S)

Existen 3 sitios de escisión en la cadena pesada del factor Va normal: posición 306, 506 y 679 (Figura 13). La mutación puntual en la cual la arginina en posición 506 es substituida por glutamina (debido a una sustitución de guanina por adenina en el nucleótido 1691) lleva a una reducción en la velocidad de inactivación del factor Va, ya que la proteína C activada escinde menos eficientemente a la arginina 306 y arginina 679. Esta mutación se conoce como **factor V Leiden**. El alelo mutante está presente en 2-7% de los individuos de raza europea, especialmente escandinavos.

La mutación produce una alteración en el sitio de escisión del factor Va, que es inactivado 10 a 20 veces más lento que el factor V nativo.

Los eventos de trombosis venosa son 7 veces más frecuentes en los heterocigotos y hasta 80 veces más frecuente en los homocigotos.^{16, 17, 18}

Rees y colaboradores estudiaron la prevalencia de la mutación en diferentes poblaciones. La frecuencia del factor V de Leiden fue de 4.4% en Europa con la frecuencia más alta entre los griegos (7%). Fuera de Europa la mutación es rara con una frecuencia del alelo de 0.6% en Asia menor, y ninguna ocurrencia entre la población indígena del sureste de Asia, África, América y Australia.¹²

La prevalencia de la resistencia a la proteína C activada en la población mexicana sana fue de 3.8% según Montiel¹⁹ y, de 4.5% según el estudio de De la Peña e Izaguirre²⁰. Dahlbäck encontró que el riesgo de trombosis incrementa en forma paralela con la edad.¹⁶

El DNA del gen del factor V de seis chimpancés tiene un patrón idéntico al alelo humano normal, lo cual confirma que el alelo normal es un estado ancestral.¹²

ACCIÓN DE LA PCA SOBRE EL fVa LIBRE Participación de Cofactores

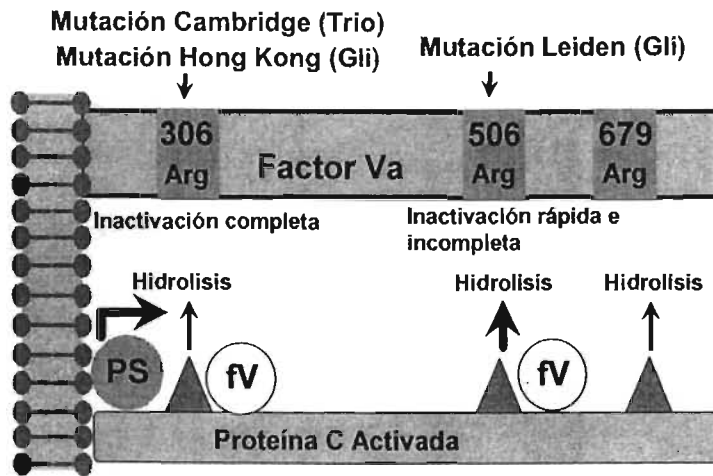


Figura 13. - Esquema que muestra los diferentes sitios de escisión sobre el factor Va (posición 306, 506 y 679). El cambio de arginina por trionina en la posición 306 es conocido como mutación Cambridge. La sustitución de arginina por glicina en la posición 306 da lugar a la mutación Hong Kong. La mutación Leiden se produce por la sustitución de glicina por arginina en la posición 506. Las mutaciones Cambridge y Leiden producen resistencia a la proteína C activada y las 3 mutaciones se relacionan con aumento en el riesgo de eventos trombóticos.

En 1998 Williamson describió el **factor V Cambridge** en uno de 17 pacientes con trombosis venosa y resistencia a la PCA. Este factor se produce por una mutación puntual en el cual la arginina en posición 306 es substituida por trionina.²¹

Por su parte Chan y colaboradores, al estudiar a 83 chinos de **Hong Kong** en busca de la presencia de variantes genéticas del factor V, encontraron 3 sujetos

con una mutación puntual en la cual la arginina en posición 306 del factor V es substituida por glicina. Interesantemente las pruebas para la resistencia a la proteína C activada fueron negativas, aunque 2 de estos 3 pacientes tuvieron eventos trombóticos.²²

PRUEBA DE LA RESISTENCIA A LA PROTEÍNA C ACTIVADA.

La respuesta del plasma a la proteína C activada (PCA) es medida como la relación de 2 tiempos de tromboplastina parcial activada (TTPA), uno en presencia de PCA y otro en su ausencia (Figura 14). Esta relación de la sensibilidad a la proteína C activada es normalizada por la relación obtenida con un plasma de referencia. La resistencia a la proteína C activada es definida como un índice menor de 0.84.¹⁵ La sensibilidad y especificidad de la prueba de la resistencia a la PCA para la mutación de Leiden es de 85-90%.

La prueba clásica para la resistencia a la PCA no es útil en individuos que reciben anticoagulantes orales o heparina. Lo anterior también es cierto en individuos con otros defectos de la coagulación, como el anticoagulante lúpico o deficiencia de factores de la coagulación. Para tales casos se desarrolló una prueba en la cual el plasma es prediluido con plasma deficiente en factor V.

RESISTENCIA A LA PCA

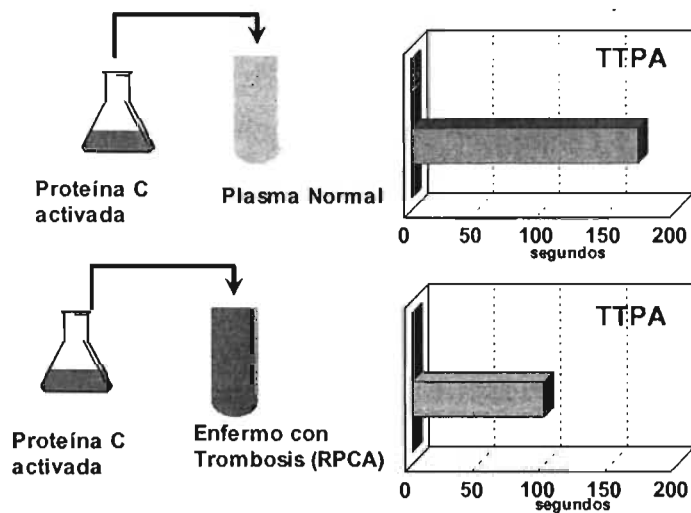


Figura 14. - Muestra esquemáticamente la forma en que se lleva a cabo la prueba de la resistencia a la proteína C activada. En la parte superior se observa como al añadir al plasma normal proteína C activada liofilizada el TTPA se prolonga. En la parte inferior se observa como al agregar proteína C activada al plasma de pacientes con resistencia a esta última, el TTPA no se prolonga según lo esperado.

La determinación de mutación Leiden se hace mediante una amplificación con reacción en cadena de la polimerasa de esta región. La detección de la mutación puntual se puede hacer por secuenciación de nucleótidos, por diferentes técnicas de hibridación y escisión de enzimas de restricción.¹⁵

RESISTENCIA A LA PROTEINA C ACTIVADA E INFARTO DEL MIOCARDIO.

Asumiendo que los factores genéticos parecen tener su mayor influencia en los pacientes más jóvenes, Da costa y colaboradores compararon la prevalencia de resistencia a la proteína C activada, deficiencia congénita de antitrombina III, Proteína C, Proteína S, plasminógeno y factor XII en pacientes jóvenes con infarto de miocardio sin lesiones coronarias significativas, pacientes jóvenes con infarto de miocardio y aterosclerosis coronaria y un grupo de controles pareados por edad y sexo. Las muestras sanguíneas se obtuvieron 4 semanas posteriores al infarto de miocardio, se documentó la ausencia de un síndrome inflamatorio por un valor normal de fibrinógeno. La trombofilia hereditaria se encontró con más frecuencia en los pacientes infartados sin lesiones coronarias (18.2%) que en los que si las tuvieron (7.5%), pero la diferencia no fue estadísticamente significativa. Específicamente la prevalencia de RPCA fue de 9.1% en los pacientes infartados sin lesiones coronarias, 3.8% en los infartados con lesiones coronarias y 3.8% en el grupo sin infarto, lo cual tampoco fue estadísticamente significativo, $p = 0.57$.²³

Redondo y colaboradores estudiaron los factores hemostáticos y las mutaciones genéticas de proteínas involucradas en la coagulación (factores II, V, VII, X, gene de la protrombina 20210 y factor V de Leiden) en 200 sobrevivientes de un infarto de miocardio y 100 controles sanos. Encontraron que el incremento del factor V y VII fueron un factor de riesgo independiente para infarto de miocardio. Ni el gen de

la protrombina 20201 ni el factor V Leiden se asociaron con un incremento en el riesgo relativo de infarto de miocardio.²⁴

Yetkin estudió 45 pacientes consecutivos con infarto de miocardio anterior con acinesia apical, anterior o septal, que no tuvieran cardiomiopatía dilatada, disfunción renal o hepática; fueron divididos en 2 grupos: los que desarrollaron trombo mural izquierdo y los que no. Se compararon las características clínicas, ecocardiográficas y los parámetros hemostáticos (resistencia a la proteína C activada, proteína S y antitrombina III). Se encontró que el tabaquismo y la resistencia a la proteína C activada fueron significativamente mayores en el grupo con trombo que en los que no.²⁵

Kiechl diseñó un estudio para analizar la asociación entre la respuesta a la PCA y las manifestaciones arteriales y aterosclerosis en las arterias carótidas, femorales y arterias del limbo. Encontró que el riesgo de estenosis carotídea y femoral se incrementó gradualmente con la disminución en la respuesta a la PCA. Interesantemente, menos del 50% de los pacientes resistentes a la PCA, potenciales candidatos de ser portadores de mutación en el factor V, tuvieron la alteración genética. En los restantes, la resistencia a la PCA fue de origen desconocido, excepto en los pocos casos de deficiencia de proteína C, anticoagulante lúpico o una reacción de fase aguda importante. Se propusieron como mecanismos potenciales mutaciones no descritas en el factor V y VIII y moléculas disfuncionales de la proteína S.²⁶

FACTOR DE LEIDEN E INFARTO DE MIOCARDIO.

Holm en 1994 fue el primero en describir la asociación entre la mutación Leiden y el infarto de miocardio en 2 mujeres jóvenes homocigotas para la mutación.¹⁰

Emmerich et al, en 1995, al estudiar la prevalencia del factor V Leiden entre 643 pacientes con historia de infarto de miocardio y 726 controles pareados por edad que participaron en el estudio ECTIM, no encontraron diferencia en cuanto a la frecuencia del alelo en las 4 poblaciones que incluyó (Irlanda del Norte, noreste de Francia, este de Francia y sureste de Francia). Entre los pacientes con infarto de miocardio, 33 (5.1%) fueron heterocigotos para la mutación, comparados con 33 (4.6%) en los controles. Sin embargo se observó una diferencia en la prevalencia de la variante entre los diferentes subgrupos de población: 9.8% en el este de Francia, 4% norte de Irlanda, 2.6% sureste de Francia y 2% en el norte de Francia, con una diferencia estadísticamente significativa entre la población del este de Francia comparada con los demás grupos. Los autores concluyen que la mutación en el factor V Leiden no es un factor de riesgo para infarto de miocardio en individuos heterocigotos, pero que puede serlo en los homocigotos o en otros sitios vasculares.²⁷

März et al estudiaron el DNA de 224 hombres con enfermedad arterial coronaria (EAC) y 196 controles. En los controles, la EAC fue descartada por la historia

clínica y una prueba de esfuerzo físico. Se excluyeron a los individuos con historia de tromboembolia venosa. Se encontró que 21 (9%) de los 224 pacientes con EAC fueron heterocigotos para la mutación de Leiden, comparados con 8 (4%) de los 196 controles, lo cual representó una diferencia estadísticamente significativa (χ^2 , $p = 0.032$; OR 2.43). Así mismo se encontró una ligera, pero no estadísticamente significativa, diferencia en la frecuencia del alelo mutante entre los pacientes con EAC con (11%) y sin (8%) una historia de infarto de miocardio, lo cual sugiere que el factor V de Leiden no sólo es un factor de riesgo para infarto de miocardio, sino para el desarrollo de ateroma coronario. Se propuso que el mecanismo por el cual la resistencia a la proteína C activada acelera la aterosclerosis pudiera estar relacionada a un incremento en la generación del factor Xa y de la trombina, que funcionan tanto como factor de la coagulación sanguínea como potentes agonistas de las respuestas celulares aterogénicas, como la agregación plaquetaria, quimiotaxis y proliferación.²⁸

Rosendaal y colaboradores³¹ en su estudio de casos y controles sobre factor V de Leiden e infarto de miocardio estudiaron mujeres entre 18 y 44 años de edad. Los casos fueron 84 mujeres con un primer evento de infarto de miocardio y hubo 388 controles en el mismo rango de edad sin infarto de miocardio. Se determinó la RPCA por medio de reacción en cadena de la polimerasa. La mutación Leiden se encontró en 10% de las pacientes con infarto de miocardio y en 4% de los controles. La razón de Momios para infarto de miocardio fue de 2.4 (IC 1 a 5.9) cuando fue ajustado de acuerdo a los factores de riesgo cardiovascular mayores.

Entre los no fumadores la mutación de Leiden tuvo poco efecto (OR 1.1, IC 0.1 a 8.5) mientras que en las que en las fumadores tuvo un efecto muy importante (OR 3.6, IC 0.9 a 14). Los autores explican que esto pudiera ser porque el tabaquismo por si mismo fue un factor de riesgo para desarrollar infarto de miocardio, llevando a un OR entre los pacientes con tabaquismo y mutación de Leiden que fue 32 veces mayor que entre los pacientes sin estos factores. Este autor también investigó la influencia de otros factores de riesgo cardiovascular convencional y su relación con la presencia de mutación Leiden, sus resultados se resumen en las tablas 1 y 2.

TABAQUISMO	MUTACIÓN LEIDEN	PACIENTES	CONTROLES	RAZÓN DE MOMIOS
NO	NO	21	288	1
NO	SÍ	1	13	1.1
SÍ	NO	55	84	9
SÍ	SÍ	7	3	32

Tabla 1. - Relación entre tabaquismo y mutación de Leiden en el desarrollo de infarto de miocardio.

FACTORES DE RIESGO	MUTACIÓN LEIDEN	PACIENTES	CONTROLES	RAZÓN DE MOMIOS
No	No	21	260	1
No	Sí	4	14	3.5
Uno o más	No	55	108	6.3
Uno o más	Sí	4	2	24.8

Tabla 2. - Relación entre factores de riesgo cardiovascular convencionales (diferentes al tabaquismo) y mutación de Leiden en el desarrollo de infarto de miocardio.

Ridker y colaboradores evaluaron la presencia del factor V Leiden y el riesgo de trombosis al estudiar las muestras obtenidas prospectivamente de una cohorte de hombres aparentemente sanos que participaron en el Physicians Health Study (un estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo de aspirina y betacarotenos para la prevención primaria de enfermedad cardiovascular y cáncer). De los 14,916 hombres aparentemente sanos que se siguieron prospectivamente por un promedio de 8.6 años, 374 tuvieron infarto de miocardio, 209 EVC, 121 trombosis venosa profunda, embolia pulmonar o ambos. De acuerdo al diseño del estudio (casos y controles anidado) cada caso (704) fue pareado con un control, los cuales se seleccionaron aleatoriamente entre los participantes y se parearon de acuerdo a la edad y tabaquismo. Los sujetos que presentaron infarto de miocardio o EVC tuvieron una prevalencia más alta de factores de riesgo cardiovascular convencionales que los controles. No

hubo diferencia estadísticamente significativa en la prevalencia de la mutación del factor V entre los hombres que tuvieron infarto de miocardio (6.1%, $P= 0.9$) o EVC (4.3%, $p = 0.4$) y los que resultaron libres de evento durante el seguimiento (6%). La mutación se encontró en 11.6% de los que desarrollaron trombosis venosa, tromboembolia pulmonar o ambos, lo cual fue estadísticamente significativo ($P= 0.02$). No se encontró asociación entre la presencia del factor V Leiden y el riesgo de infarto de miocardio o EVC en el análisis del subgrupo de pacientes de 60 años o menos. El riesgo relativo ajustado de trombosis venosa profunda, tromboembolia pulmonar o ambos fue de 2.7 (95% IC, 1.3-5.6; $P= 0.008$). Este incremento se relacionó con trombosis venosa primaria pero no con trombosis venosa secundaria y fue más aparente entre los hombres más viejos.¹⁷

Kontula y colaboradores encontraron en la población finlandesa una ocurrencia más alta de la mutación del factor V en pacientes con enfermedad arterial (EVC e infarto de miocardio) que en los controles (4.5% vs. 2.9%), la diferencia no fue estadísticamente significativa). Se encontró una potencial asociación entre infarto de miocardio y factor V de Leiden, específicamente en el área de Helsinki, sin embargo estos pacientes fueron 10 años mayores que los controles, lo que sugirió que si el riesgo de enfermedad arterial incrementa en presencia del gen mutante, pudiera requerir cambios aterosclerosos avanzados de los vasos coronarios.¹¹

Ardissino y colaboradores, al tratar de establecer la frecuencia de la mutación de Leiden entre pacientes jóvenes con enfermedad trombótica arterial, estudiaron a

100 pacientes italianos jóvenes (menores de 45 años) sobrevivientes a un infarto de miocardio y a 100 controles pareados por edad y sexo.

En esta población se encontró heterocigocidad para la mutación en 1% de los casos y en 2% de los controles, no hubo homocigotos. Se concluyó que el infarto de miocardio prematuro no está asociado con heterocigocidad para el factor V de Leiden.

La importancia de la hipercoagulabilidad en la patogénesis del infarto agudo de miocardio en los jóvenes ha sido sugerida por el hallazgo de niveles plasmáticos altos de inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) en sobrevivientes de IAM menores de 45 años. Sin embargo, los individuos jóvenes que desarrollan infarto de miocardio tienen una alta prevalencia de tabaquismo, el cual se sabe incrementa el riesgo trombótico al incrementar el fibrinógeno plasmático.²⁹

En el estudio realizado por Eskandari se investigaron en forma retrospectiva las características clínicas de 30 pacientes con la mutación de Leiden. Se encontró que 13 de los 30 presentaron infarto de miocardio y 16/30 EVC, lo que sugiere que la mutación de Leiden puede ser un factor de riesgo principal para el desarrollo subsecuente de complicaciones tromboembólicas arteriales¹⁸

Se estudiaron 507 pacientes alemanes con infarto de miocardio a los que se les realizó una prueba altamente sensible y específica para la mutación del factor V de Leiden. Se encontró que la prevalencia del factor V de Leiden en los sobrevivientes de un infarto de miocardio fue de 8.7% (44/507) comparados con 3.7% en el grupo control (404 pacientes que se presentaron en el hospital de

estudio por una causa diferente a evento trombótico arterial) $P=.0025$, que fue estadísticamente significativo, el OR fue de 2.46 (IC 95%: 1.35-4.5).¹³

Amowitz et al estudiaron a 36 mujeres sobrevivientes de un infarto de miocardio; no se encontraron datos de que el factor V de Leiden incrementara el riesgo de IAM, incluso en las mujeres portadores del gen con tabaquismo.³⁰

Autor y año de publicación	Diseño del estudio	Numero de pacientes	Relación entre RPCA y evento arteriotrombótico
Holm, 1994	Casos	2	Sí *
Samani, 1994	Serie de casos	60	No*
Emmerich, 1995	Casos y controles	643	No*
März, 1995	Casos y controles	224	Si*
Ridker, 1995	Cohorte	704	No* +
Kontula, 1995	Casos y controles	236	Sí* +
Ardissino, 1996	Casos y controles	100	No*
Dacosta, 1998	Casos y controles	75	No*
Eskandari, 1998	Casos y controles	30	Sí* +
Inbal, 1999	Casos y controles	112	Sí*
Dogen, 1998	Casos y controles	560	Sí*
Kielchl, 1999	Transversal	826	Si+
Redondo, 1999	Casos y controles	266	No*
Yetkin, 2000	Casos y controles	45	Si*
Middendorf, 2004	Casos y controles	507	Si*

Tabla 3. - Características de los estudios que investigan la asociación entre resistencia a la proteína C activada y el desarrollo de eventos trombóticos, incluyendo el infarto de miocardio (*).

(+)Se incluyen eventos vasculares cerebrales, trombosis venosa y arterial periférica.

TESIS

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

¿Cuál es la prevalencia de resistencia a la proteína C activada en pacientes supervivientes a un infarto de miocardio en el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”?

¿Cuáles son las características clínicas, evolución y pronóstico en pacientes con infarto de miocardio y resistencia a la proteína C activada?

JUSTIFICACIÓN

La resistencia a la proteína C activada produce un estado procoagulante. Mientras que algunos autores no han encontrado asociación entre la resistencia a la proteína C activada e infarto de miocardio, otros han sugerido que efectivamente existe esta relación.

Desconocemos la prevalencia de resistencia a la proteína C activada en pacientes mexicanos con infarto de miocardio.

HIPÓTESIS

La prevalencia de resistencia a la proteína C activada entre los sobrevivientes a un infarto de miocardio es mayor que en la población general y se asocia al desarrollo de un mayor número de eventos trombóticos.

OBJETIVOS:

Determinar la prevalencia de la resistencia a la proteína C activada en pacientes sobrevivientes a un infarto de miocardio.

Describir las características demográficas y evolución de los pacientes jóvenes con infarto de miocardio y resistencia a la proteína C activada y compararlos con los que no la presentan.

Determinar si la resistencia a la proteína C activada influye en la evolución del infarto de miocardio y/o en el desarrollo de complicaciones trombóticas.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Por el control de la maniobra experimental: Observacional.

Por la captación de la información: Retrospectivo.

Por la medición del fenómeno en el tiempo: Transversal.

Por la ceguedad en la aplicación: Abierto.

Por la dirección: Retrospectivo.

GRUPO DE ESTUDIO

Pacientes consecutivos del Instituto Nacional de Cardiología, con diagnóstico previo de Infarto Agudo de Miocardio a quienes se les solicitaron pruebas para descartar trombofilia como causa del infarto

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

1. – Pacientes hombres y mujeres menores de 56 años de edad.
2. - Supervivientes a un infarto de miocardio (según los criterios de la OMS), de cualquier localización.
3. - Que acepten participar en el estudio.

TAMAÑO DE LA MUESTRA:

Pacientes hombres o mujeres que cumplan con los criterios de inclusión.

Muestreo no probabilístico de casos consecutivos.

FACTIBILIDAD

El estudio es factible ya que el Departamento de Hematología del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" cuenta con los recursos materiales y humanos requeridos para la realización del mismo.

ASPECTOS ÉTICOS

El presente estudio no daña la integridad de los pacientes. Cumple con la Ley General de Salud y requerimientos de la Declaración de Helsinki con modificaciones en Tokio 1975.

DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES

Infarto agudo de miocardio:

Definición conceptual (según la OMS): dolor torácico o cambios electrocardiográficos sugestivos de infarto acompañados por un incremento de una o más enzimas cardíacas al menos 2 veces más del límite superior marcado en el laboratorio.

Definición operacional: cambios electrocardiográficos sugestivos de infarto (elevación del segmento ST de 0.1 mV o más en 2 o más derivaciones contiguas en las derivaciones que vean la cara anterior o, de 0.2 mV o más en las derivaciones bipolares) acompañados por un incremento de una o más enzimas cardíacas al menos 2 veces más del límite superior marcado en el laboratorio, acompañados o no de dolor torácico sugestivo de isquemia.

Tipo de variable: cualitativa.

Escala de medición: nominal.

Resistencia a la proteína C activada:

Definición conceptual: índice menor de 0.84 entre el TTPA obtenido en presencia de PCA y el TTPA del paciente.

Definición operacional: del valor de TTPA en presencia de PCA se resta el valor del TTPA basal de cada sujeto en estudio; a la diferencia obtenida se le divide entre la diferencia obtenida para el promedio de los controles (que se comparan

con el acumulado o de referencia) y finalmente el resultado se multiplica por 100 para reportar el resultado en porcentaje. Los controles no deben estar por debajo de 84% de sensibilidad.

Los sujetos por debajo de 60% de sensibilidad se consideran positivos para la Resistencia a la Proteína C activada.

Tipo de variable: cualitativa.

Escala de medición: nominal.

Lesión coronaria:

Definición conceptual: disminución de más del 50% de la luz de la arteria coronaria.

Definición operacional: se obtuvo del reporte de hemodinámica; se tomaron como significativas aquellas lesiones que obstruyeran el 50% o más de la luz de la arteria. Se registró el número y localización de estas lesiones (es decir arterias coronarias principales: descendente anterior, circunfleja y coronaria derecha; se incluyó en forma aparte la lesión del tronco de la coronaria izquierda).

Tipo de variable: cualitativa de acuerdo a la presencia de lesión coronaria o no en cada una de las arterias coronarias.

Escala de medición: Nominal.

Complicaciones:

Se consideraron como tal el reinfarto, isquemia recurrente, evento vascular cerebral, trombosis arterial periférica, trombosis intracardiaca.

Tipo de variable: cualitativa.

Escala de medición: nominal.

Reinfarto de miocardio:

Definición conceptual: síntomas recurrentes de isquemia en reposo que duran al menos 30 minutos y se acompaña por: 1) elevación nueva o recurrente del segmento ST mayor de 1 mm en cualquiera de las derivaciones contiguas; 2) bloqueo de rama izquierda nuevo o 3) incremento de creatincinasa mayor de 2 veces el limite superior de lo normal y más del 50% del valor menor medido después del infarto.

Definición operacional: lo mismo que la definición conceptual.

Tipo de variable: cualitativa.

Escala de medición: nominal.

Isquemia recurrente:

Definición conceptual: síntomas recurrentes de isquemia acompañados o no de cambios electrocardiográficos, que duran menos de 30 minutos y se acompañan o no de incremento de las enzimas cardiacas.

Definición operacional: lo mismo que la definición conceptual.

Tipo de variable: cualitativa.

Escala de medición: nominal.

Complicaciones mecánicas:

Se consideraron como tales la disfunción o ruptura del músculo papilar con o sin insuficiencia mitral, la ruptura del septum interventricular y de la pared libre del ventrículo izquierdo.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Las variables continuas se reportaron como media, valor mínimo y valor máximo. Las variables dicotómicas se expresaron como proporciones y se compararon por medio de la prueba exacta de Fisher.

MATERIAL, MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS:

Se revisaron los casos de enfermos que habían sufrido infarto agudo del miocardio antes los 56 años de edad, a quienes se les había practicado la prueba de resistencia la proteína C activada con el propósito de investigar un estado trombofílico como causa del infarto. Se reunieron 52 enfermos menores de 56 años de edad que habían sufrido IAM durante el año previo con el propósito de investigar la presencia de resistencia a la proteína C activada. Se consideró que podrían tomarse las pruebas para coagulación entre 4 a 8 semanas después del diagnóstico de infarto agudo del miocardio, por el hecho de que en la etapa aguda, el fenómeno inflamatorio puede alterar el resultado de las pruebas. El diagnóstico de infarto agudo del miocardio se sustentó mediante los criterios de la Organización Mundial de la Salud.

Se investigaron los antecedentes hereditarios y familiares personales de cada enfermo, en especial investigando la presencia de fenómenos trombóticos arteriales o venosos como un factor dominante en la familia. También se investigaron los factores de riesgo exógenos para infarto agudo del miocardio, como son tabaquismo, obesidad, dislipidemia, diabetes mellitus, hipertensión arterial sistémica, evento vascular cerebral, anticoagulación.

Los pacientes fueron citados al departamento de hematología para tomar una muestra de sangre venosa periférica. El día de la cita y estando en ayuno se practicó una punción venosa antecubital no traumática para evitar hemólisis y la consecuente activación de la coagulación. Las muestras de sangre venosa fueron colocadas en tubos de plástico que contienen citrato de sodio al 3.8% como anticoagulante, para mantener una relación 1:9.

Las muestras fueron colocadas en hielo para mantenerlas a cuatro grados centígrados y evitar la pérdida de actividad de los factores lábiles: V y VIII. En los siguientes 30 minutos las muestras fueron centrifugadas a 3500 rpm por 20 minutos en una centrifuga refrigerada que mantiene la temperatura constante a 4°C; este procedimiento permite preparar un plasma desprovisto de plaquetas y tiene como propósito evitar que las plaquetas o sus productos interfieran con las pruebas coagulométricas. Una vez preparado el plasma desprovisto en plaquetas, este se pasó a un segundo tubo de plástico y se almacenó a -70°C para procesarlas en grupo.

Determinación de la resistencia a la proteína C activada.

La resistencia a la proteína C activada es un fenómeno coagulométrico, que se basa en agregar proteína C activada en forma liofilizada. Debido a que esta proteína tiene efectos anticoagulantes, al adicionarla al plasma y practicar el tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA), se espera que éste se prolongue. Este estudio se realizó en dos etapas de acuerdo al tipo de pruebas empleado para medir la resistencia a la proteína C activada. El hecho de haber llevado a cabo el estudio en dos etapas se debe a que durante ese lapso las técnicas de laboratorio para detectar la resistencia a la proteína C activada fueron modificadas. A continuación se describen los dos métodos y los resultados que se obtienen con cada uno de ellos.

Método original de Dalhbäck:

En este método se emplea el plasma control total, por lo que se está empleando un factor V normal. En caso de resultar positiva por este método implica una resistencia a la proteína C activada adquirida.¹⁶

Método modificado:

Este método se basa en hacer una mezcla del plasma del enfermo con plasma desprovisto de factor V; el propósito es ajustar todos los demás factores de la coagulación a una concentración normal para que no exista alguna deficiencia que pueda proporcionar falsas prolongaciones del tiempo de tromboplastina parcial activado. Debido a que el plasma que se emplea como reactivo es deficiente de

factor V, el único factor V presente en la prueba es en el propio enfermo, por lo que cualquier resultado anormal dependerá única y exclusivamente del plasma del enfermo. Cuando en esta prueba se tiene un resultado positivo esto significa que es el factor V del enfermo el que se encuentra afectado e indica casi con toda seguridad la presencia de la mutación Leiden. Esta prueba coagulométrica tiene una alta correlación (95%) con la mutación Leiden estudiada por el método de la reacción en cadena de la polimerasa.

Muestra: Se tomaron muestras de sangre venosa en tubos de vidrio recubiertos de silicón que contenían citrato de sodio al 3.8%, en una proporción de 9 partes de sangre por 1 de anticoagulante. Las muestras se centrifugaron a 3500 rpm a 4° C por 20 minutos. Al plasma obtenido (desprovisto de plaquetas) se le sometió a una segunda centrifugación bajo las mismas condiciones para eliminar fosfolípidos provenientes de detritos plaquetarios que interfieren con la prueba. Una vez separados los plasmas, se congelaron a -70° C hasta su proceso en grupo. Del mismo modo se trataron las muestras provenientes de donadores sanos que sirvieron como controles para cada grupo de muestras que se trabajaron.

Se emplea un equipo coagulométrico automatizado de lectura óptica, que determina el tiempo que tarda en coagular la muestra de plasma desprovisto de plaquetas que se incuba con tromboplastina; al agregar el cloruro de calcio se inicia la cuenta en segundos hasta la formación del coágulo, momento en cual el equipo registra un cambio en la densidad óptica. El equipo reporta el tiempo en segundos y después se procesan los resultados de pacientes y se utiliza como

referencia los tiempos obtenidos en muestras de controles sanos. La prueba consiste en la realización de dos pruebas de tiempo de tromboplastina parcial activado (basal y con PCA).

Se le llama método modificado porque antes de realizar las pruebas de TTPA, se hace una mezcla 1:5 del plasma de los sujetos en estudio y controles con un plasma deficiente en factor V (PDFV), de forma que se compensan las concentraciones de todos los factores de la coagulación de los sujetos en estudio que intervienen en esta prueba a excepción de factor V, que en caso de tener la mutación Leiden, puede manifestarse de mejor manera.

TTPA Basal:

- 50 μ L de plasma desprovisto en plaquetas (mezcla 1:5 con PDFV)
- 50 μ L de tromboplastina parcial y un activador de contacto.
- 5 minutos a 37° C
- 50 μ L de cloruro de calcio

TTPA PCA:

- 50 μ L de plasma desprovisto en plaquetas (mezcla 1:5 con PDFV)
- 50 μ L de tromboplastina parcial y un activador de contacto
- 5 minutos a 37°C
- 50 μ L de cloruro de calcio/PCA

Los laboratorios establecen de forma previa los valores de referencia para cada prueba de TTPA en al menos 20 sujetos sanos, de forma que cada vez que se trabaja la prueba, se comparan los resultados y se verifica que los obtenidos para controles, caigan dentro de un margen determinado.

Obtención del índice de RPCA: se divide el TTPA con PCA entre el TTPA basal, tanto en controles como en los sujetos en estudio. El valor en controles no debe ser menor a 2.43.

Obtención de la sensibilidad a la proteína C activada: Del valor de TTPA PCA, se resta el valor del TTPA basal de cada sujeto en estudio; a la diferencia obtenida se le divide entre la diferencia obtenida para el promedio de los controles (que se comparan con el acumulado o de referencia) y finalmente, el resultado se multiplica por 100 para reportar el resultado en porcentaje. Los controles no deben estar por debajo de 84% de sensibilidad.

Los sujetos por debajo de un índice de 2.43 y por debajo de 60 % de sensibilidad se consideran positivos para la Resistencia a la Proteína C activada.

Grupos de enfermos.

Los pacientes se dividieron en dos grupos. El primero estuvo integrado por los enfermos que tuvieron resistencia a las proteínas activada positiva y el segundo grupo quedó integrado por los enfermos en esta prueba resultó negativa. Para cada uno de estos grupos se investigó la evolución después del infarto agudo del

miocardio, poniendo especial atención la presencia de complicaciones trombóticas que pudieran estar relacionadas con la resistencia la proteína C activada, en especial la presencia de trombos cavitarios, los fenómenos embolígenos a distancia, sobre todo al sistema nervioso central, así como la presencia de angina o infarto o el re infarto.

Por otra parte, se revisaron los estudios de coronariografía para cada uno de los grupos y se trató de establecer la relación entre la magnitud de la enfermedad arterial coronaria y la presencia o no de resistencia a la proteína C activada en un intento de explicar un mayor daño vascular asociado al estado trombofílico que confiere la resistencia positiva.

Se registro el número de arterias afectadas y el porcentaje de obstrucción de cada una de ellas.

RESULTADOS:

Se estudiaron 52 pacientes de 16 a 56 años de edad (media de 38.06 ± 9.71 años, mediana de 37 años) con diagnóstico de infarto de miocardio de los cuales 37 (71.2%) fueron hombres y 15 (28.8%) mujeres. (Figura 15)

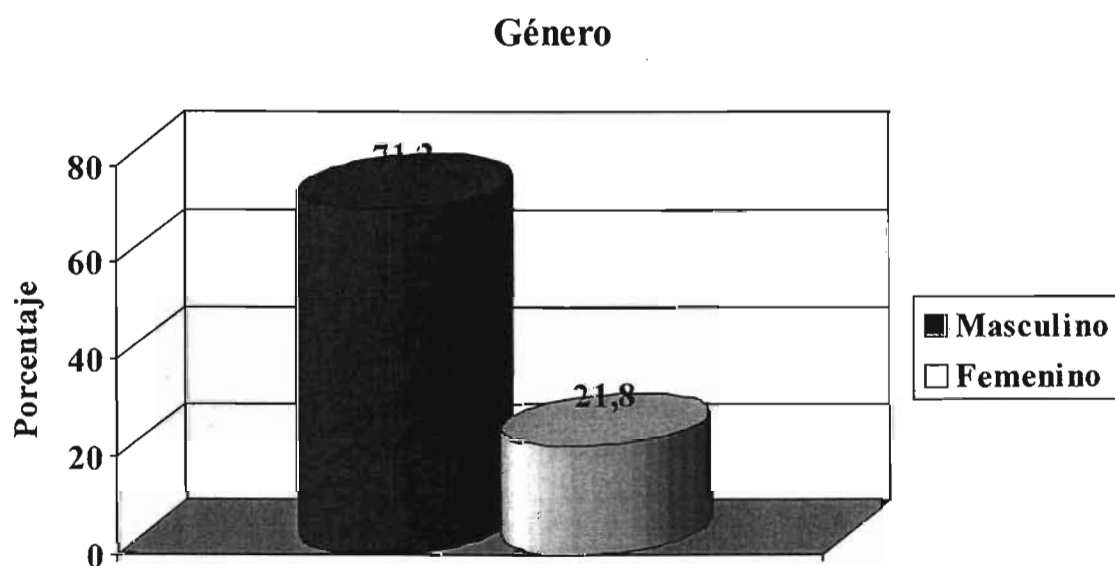


Figura 15. - Porcentaje de pacientes del género masculinos y femeninos en el grupo de pacientes estudiados

La edad promedio entre los pacientes con resistencia a la proteína C activada fue de 38.8 ± 12.37 años y la de los pacientes sin RPCA fue de 37.98 ± 9.55 años. $p = NS$. (Figura 16).

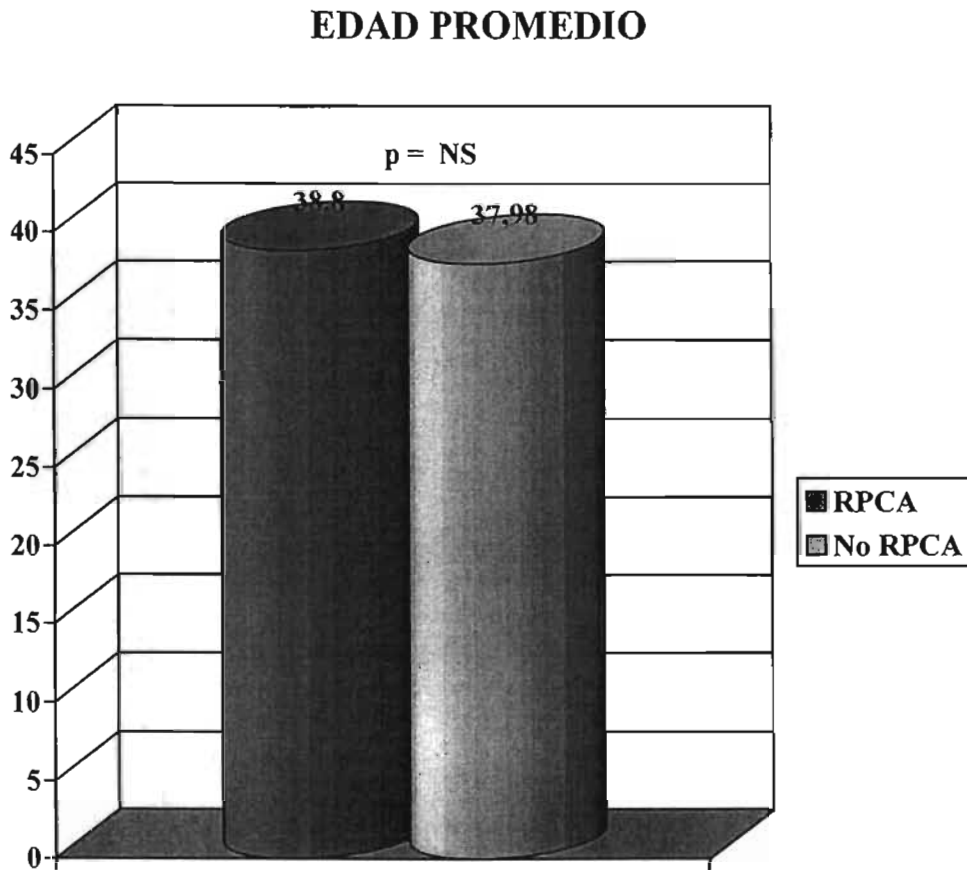


Figura 16. - Edad promedio del grupo de pacientes con resistencia a la proteína C activada comparada con el grupo sin esta.

De los 52 pacientes estudiados, cinco (9.6 %) tuvieron resistencia a la proteína C activada, dos de ellos diagnosticados con el método de Dalhbäck y los 3 restantes con el método modificado. Cuarenta y siete pacientes no tuvieron resistencia a la proteína C activada. (Figura 17)

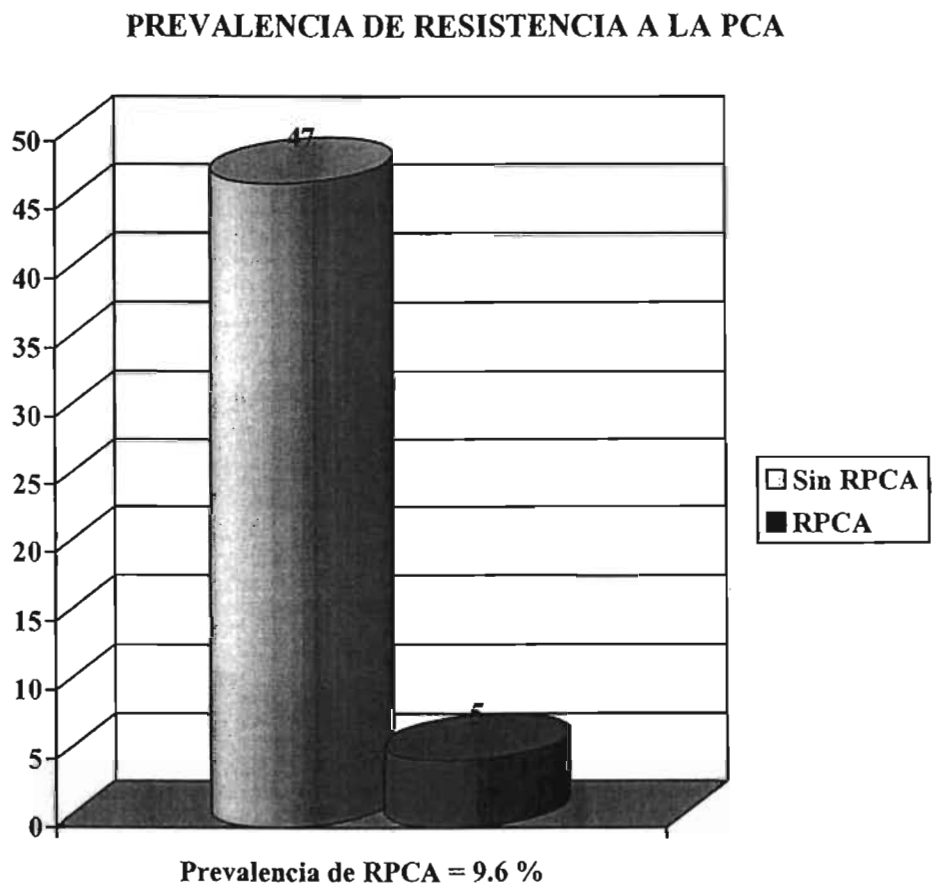


Figura 17. - Prevalencia de la resistencia a la proteína C activada

De los cinco pacientes con RPCA, tres (60%) fueron hombres y dos (40%) mujeres; de los cuarenta y siete pacientes sin RPCA, treinta y cuatro (72.3%) fueron hombres y trece (27.66 %) mujeres. (Figura 18).

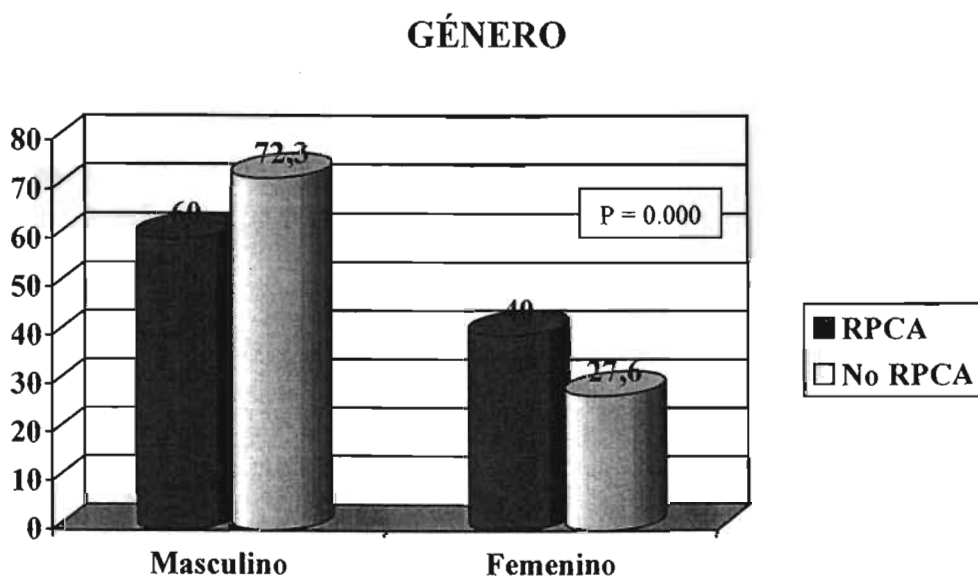


Figura 18. - Porcentaje de pacientes del género masculino y femenino en los grupos con y sin resistencia a la proteína C activada.

ANTECEDENTES HEREDO-FAMILIARES:

Se encontraron los siguientes antecedentes familiares (Figura 19):

Diabetes mellitus: 14 de los 52 (26.92%) pacientes; 0 de los 5 pacientes con RPCA y 14 (29.78%) de los 47 pacientes sin resistencia a la proteína C activada.

Hipertensión arterial: 12 de los 52 pacientes, todos en el grupo sin resistencia a la PCA: 12/47 (25.53 %).

Dislipidemia: 3 pacientes (5.76%) del total de pacientes; 3 de los 47 (6.4%) pacientes sin RPCA, no hubo tal antecedente en el grupo con RPCA.

Infarto de miocardio: 17 (32.7%) de los 52 pacientes, 2 de los 5 (40%) resistentes a la proteína C activada y 15 de los 47 (31.9%) pacientes sin resistencia a la proteína C activada.

Tromboembolia pulmonar o trombosis venosa profunda: se registró en 3 de los 52 pacientes (5.76%), los 3 casos se registraron en el grupo de los pacientes sin resistencia a la proteína C activada (6.4%), no hubo tal antecedente en el grupo con RPCA.

Evento vascular cerebral: 9 (17.3%) de 52 pacientes, 2 de los 5 con RPCA (40%) y 7 de los 47 (14.8%) sin resistencia ala proteína C activada.

ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES

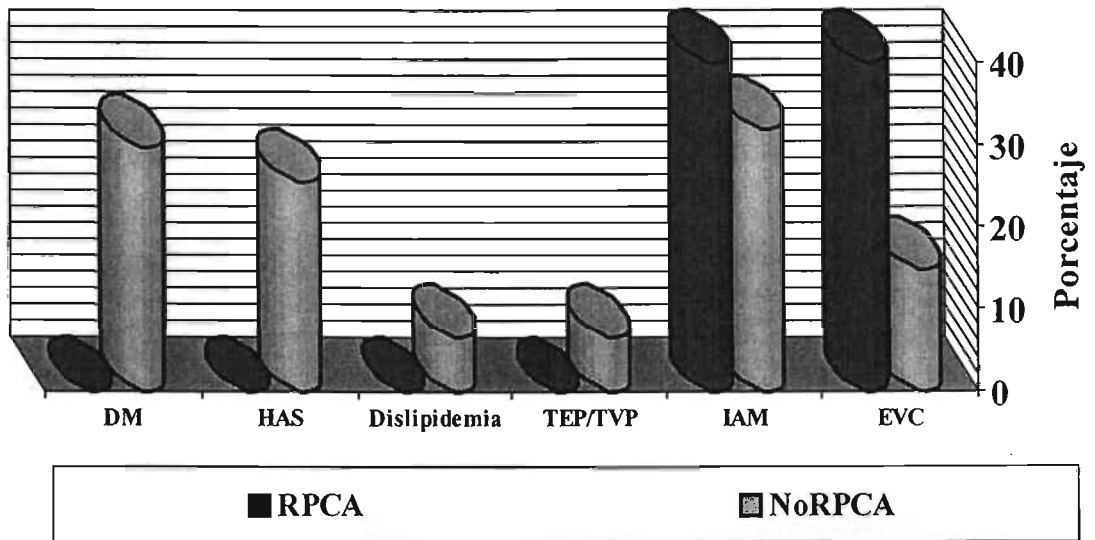


Figura 19. - Porcentaje de pacientes con antecedentes heredo-familiares en los grupos con y sin resistencia a la proteína C activada.

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS:

Se encontraron los siguientes antecedentes (Figuras 20 A y B):

Tabaquismo: 37 (71.2%) de los 52 pacientes estudiados; 4 de los 5 pacientes (80%) con RPCA y 33 de los 47 (70.2%) pacientes sin RPCA.

Obesidad: De los 52 pacientes estudiados, doce (23.1%) fueron obesos, 1 de los 5 pacientes con RPCA (20%) y 11 de los 47 (23.4%) sin RPCA.

Hipercolesterolemia: 14 (26.9%) de 52 pacientes tuvieron hipercolesterolemia, tres de los 5 con RPCA (60%) y 11 de los 47 (23.4%) sin RPCA.

Hipertrigliceridemia: Seis (12.76 %) de los 47 pacientes sin RPCA tuvieron hipertrigliceridemia, ninguno de los pacientes con RPCA tuvo hipertrigliceridemia.

Diabetes mellitus: cuatro (7.7%) de los 52 pacientes, uno de los 5 con RPCA (20%) y 3 de los 47 pacientes sin RPCA (6.4%).

Hipertensión: trece (25%) de los 52 pacientes estudiados, todos ellos dentro del grupo sin RPCA (27.7%).

Uso de anticoagulantes: dos (3.8%) de los 52 pacientes, ambos en el grupo de RPCA.

Evento vascular cerebral: un paciente (1.9%) de los 52 pacientes, en el grupo sin RPCA.

Diagnóstico previo de cardiopatía isquémica previa: seis (11.5%) de los 52 pacientes: tres en el grupo con RPCA y 3 en el grupo sin RPCA.

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS

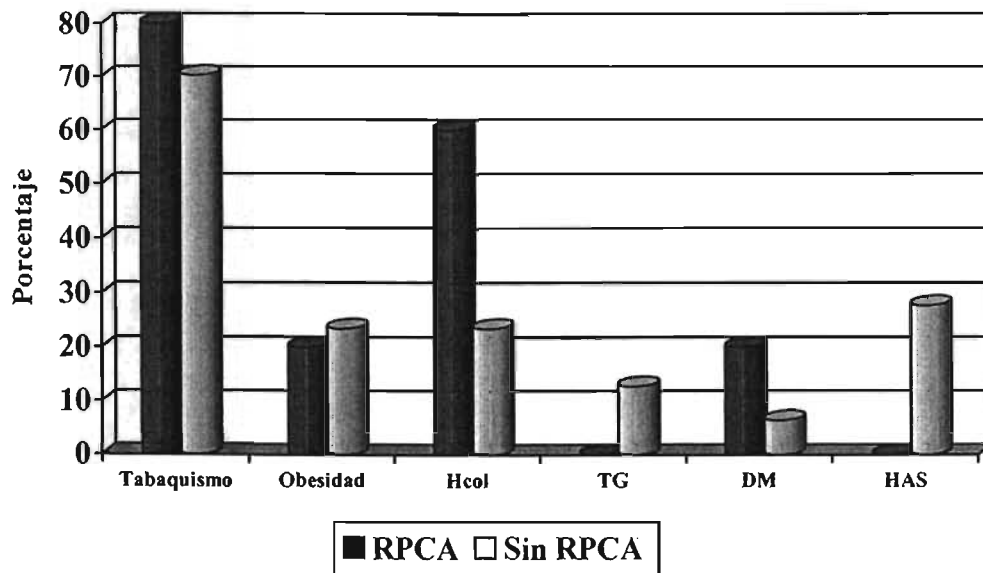


Figura 20 A.- Comparación de antecedentes personales patológicos en el grupo de pacientes con y sin resistencia a la proteína C activada.

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS

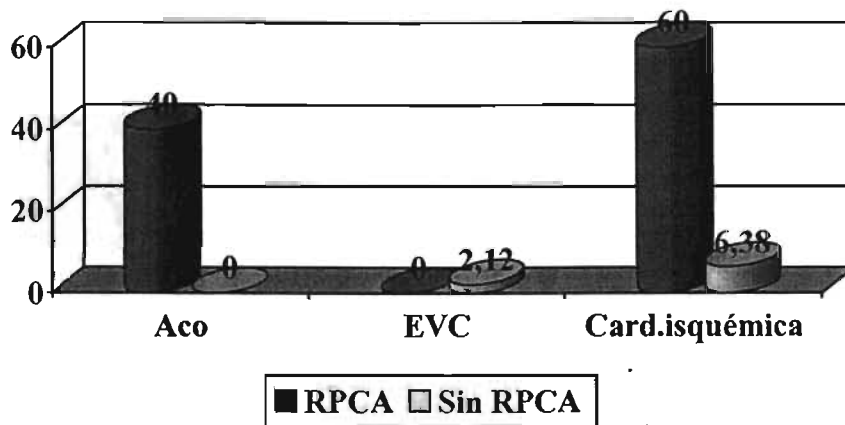


Figura 20 B.- Comparación de antecedentes personales patológicos en el grupo de pacientes con y sin resistencia a la proteína C activada.

LOCALIZACIÓN DEL INFARTO DE MIOCARDIO:

Localización del Infarto de miocardio	Resistencia a la proteína C activada		Total
	No	Sí	
Inferior	12	1	13
Inferior más VD	4	0	4
Anteroapical	12	4	16
Anterior extenso	9	0	9
Anterolateral	2	0	2
Lateral	5	0	5
Inferolateral	3	0	3
Total	47	5	52

Tabla 4. - Diferentes localizaciones del infarto de miocardio en los grupos con y sin resistencia a la proteína C activada.

Ver figuras 21 y 22.

Localización del infarto en los pacientes con RPCA

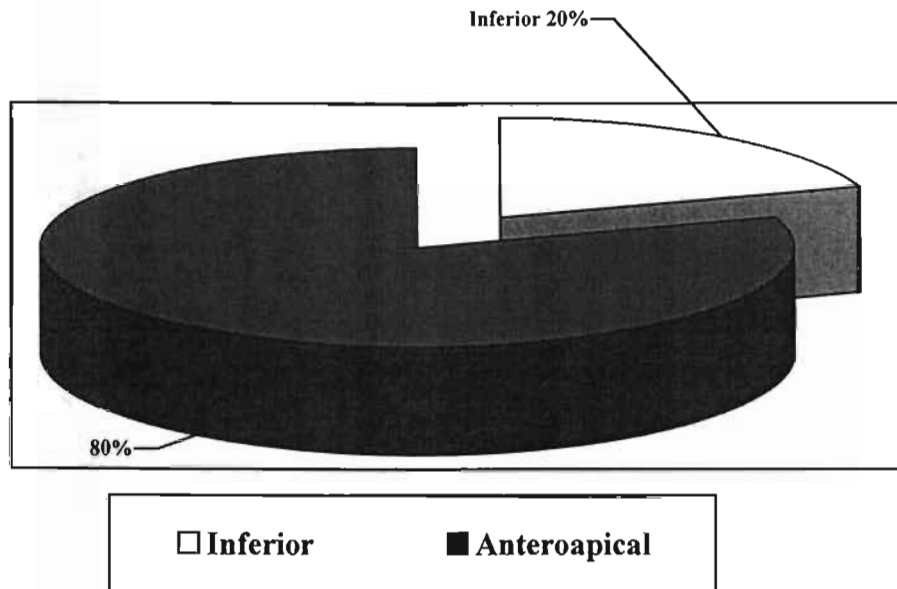


Figura 21. - Localización del infarto de miocardio en el grupo con resistencia a la proteína C activada.

Localización del infarto en los pacientes sin RPCA

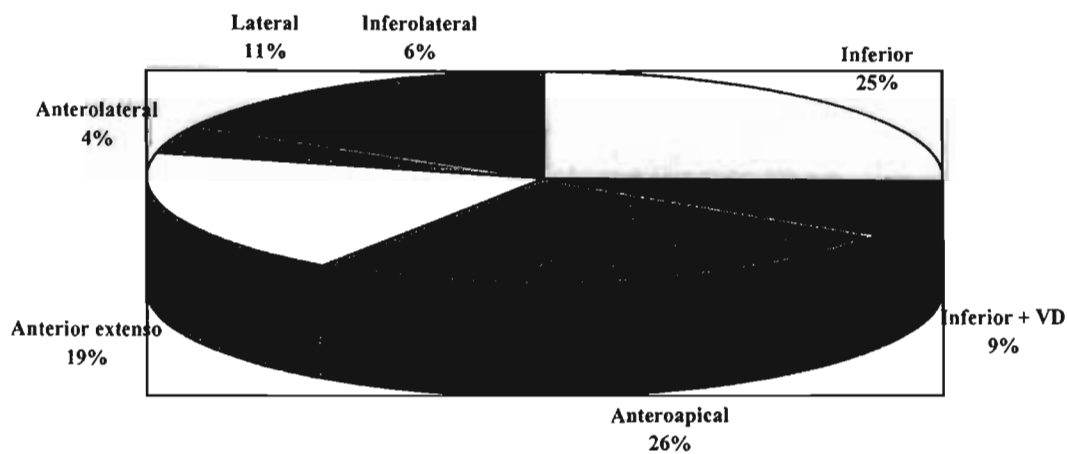


Figura 22. - Localización del infarto de miocardio en el grupo de pacientes sin resistencia a la proteína C activada.

El número de vasos afectados promedio fue de 0.96 ± 0.93 en el grupo de pacientes sin resistencia a la proteína C activada y de 1 ± 0.7 en el grupo de pacientes con resistencia a la proteína C activada. (Figura 23)

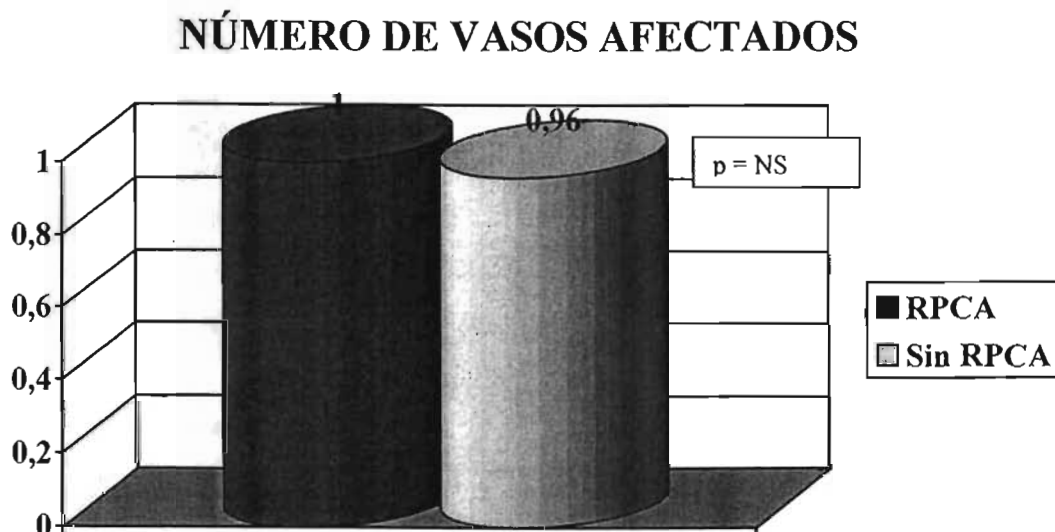


Figura 23. - Promedio de vasos afectados (arterias coronarias) en los grupos con y sin resistencia a la proteína C activada.

La coronariografía de los pacientes en el grupo con resistencia a la proteína C activada encontró los siguientes datos: sin lesiones angiográficas: un paciente (20%); lesión de un vaso en 3 pacientes (60%); lesión de dos vasos en 1 pacientes (20%), no hubo pacientes con lesión en los 3 vasos.

En el grupo sin resistencia a la proteína C activada se encontró: sin lesiones angiográficas: 38.3%; lesión de 1 vaso: en el 34%; lesión de 2 vasos: 21.3%; lesiones trivasculares en 6.4%. (Figura 24)

NUMERO DE VASOS AFECTADOS

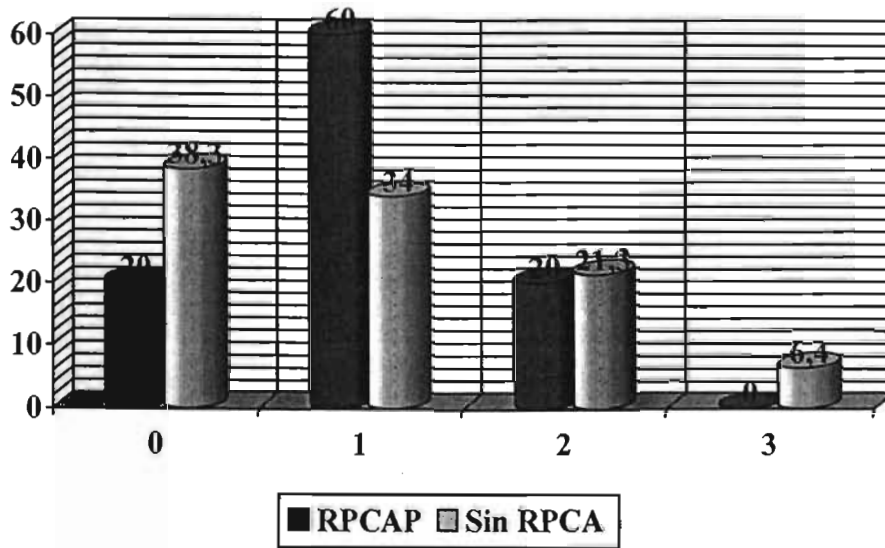


Figura 24. - Relación del número de vasos coronarios afectados en los grupos con y sin resistencia a la proteína C activada.

LESIONES CORONARIAS Y RPCA

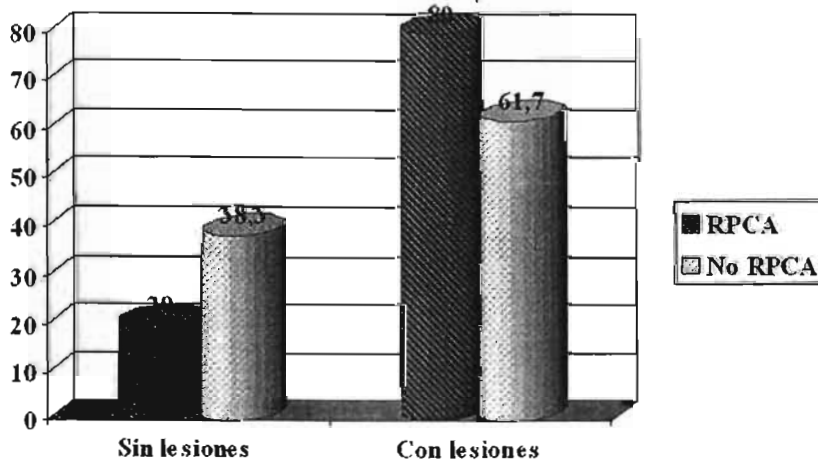


Figura 25. - Porcentaje de pacientes con y sin lesiones coronarias en los grupos con y sin resistencia a la proteína C activada.

Al dividir a los pacientes en 2 grupos, el primero sin lesiones coronarias angiográficamente significativas y el segundo con lesión angiográficamente significativa en por lo menos un vaso, encontramos que 1 de los 5 pacientes con RPCA no tuvo lesiones (20%) y 4 si (80%), mientras que 38.3 % de los pacientes sin RPCA no tuvieron lesiones coronarias y el 61.7% si las tuvieron. (Figura 25)

Lesión del tronco de la coronaria izquierda: se observó en 3 de los 52 pacientes (5.76%): uno de los 5 pacientes con resistencia a la PCA (20%) y 2 (4.3%) de los pacientes sin RPCA. (Figura 26)

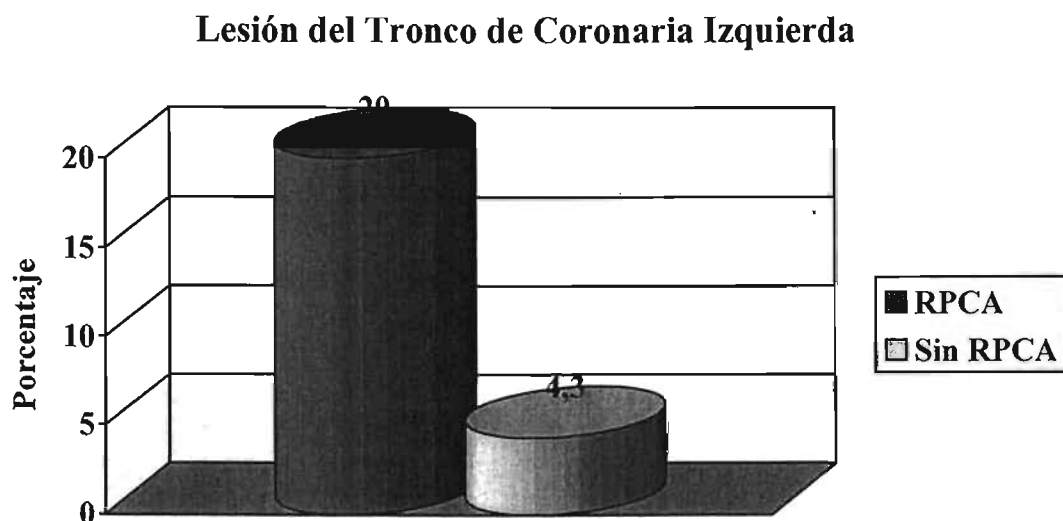


Figura 26. - Porcentaje de pacientes con lesión del tronco de la arteria coronaria izquierda en los grupos con y sin resistencia a la proteína C activada.

TRATAMIENTO:

El tratamiento que recibieron los pacientes fue de la siguiente manera:

En el grupo con RPCA un paciente recibió trombolisis (20%), dos pacientes fueron llevados a tratamiento intervencionista (40%) y 3 pacientes se sometieron a cirugía de revascularización coronaria.

En el grupo sin resistencia a la proteína C activada el 21% recibió trombolisis, 21.3% tratamiento intervencionista y 60% fueron llevados a cirugía de revascularización. La suma de los anteriores porcentajes es más de 100 ya que dentro del grupo de trombolisis algunos pacientes fueron llevados posteriormente a cirugía de revascularización. (Figura 27)

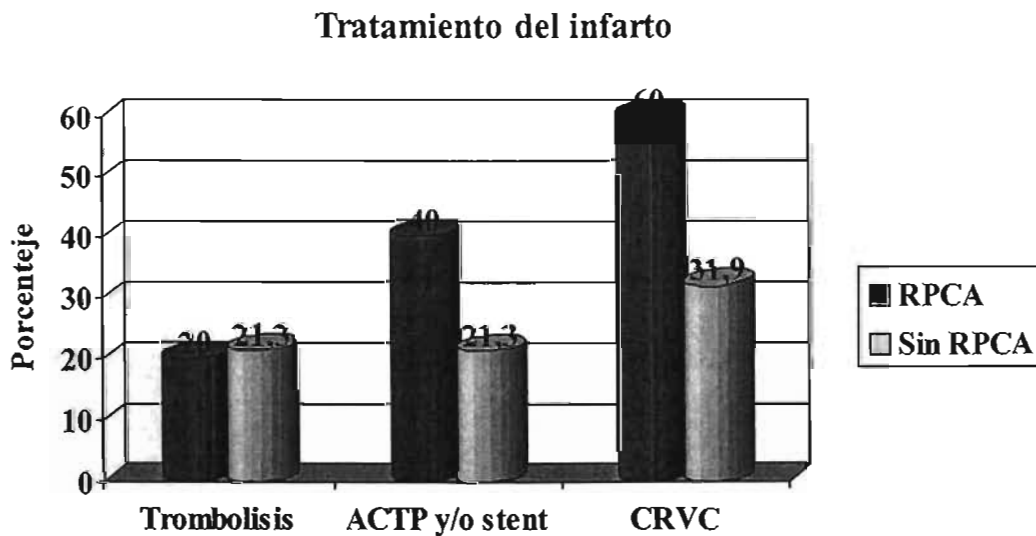


Figura 27. - Tratamiento del infarto de miocardio recibido en los grupos con y sin resistencia a la proteína C activada.

COMPLICACIONES:

Se presentaron complicaciones en 4 de los 5 pacientes con RPCA (80%) y en 20 (40.2%) de los pacientes sin RPCA. (Figura 28)

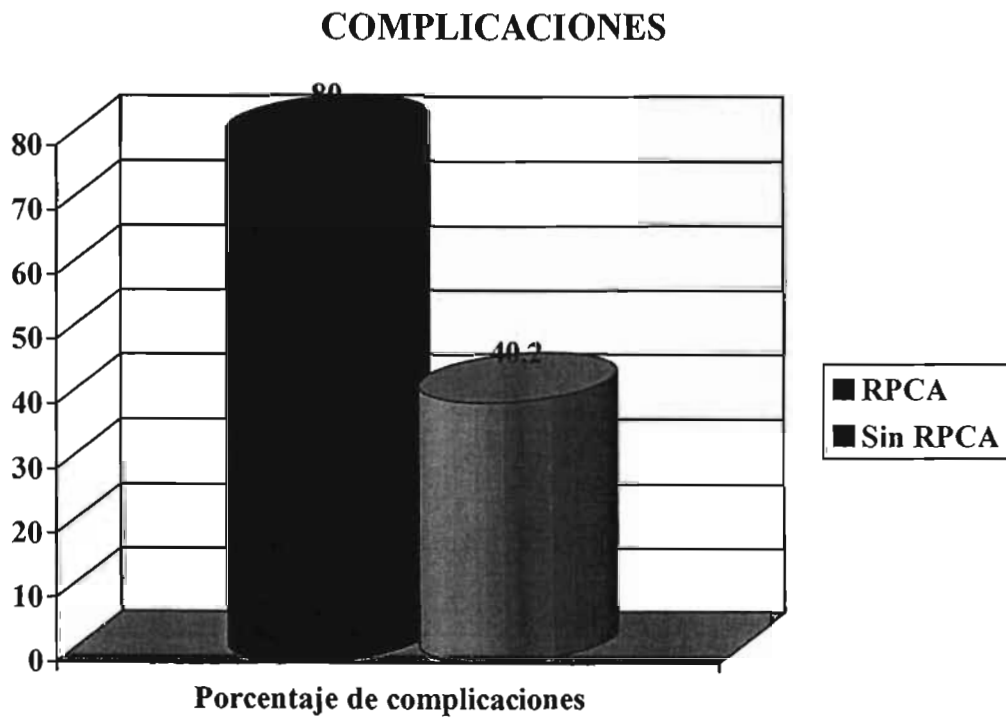


Figura 28. - Porcentaje de complicaciones en general en los grupos con y sin resistencia a la proteína C activada.

COMPLICACIONES POSTINFARTO DE MIOCARDIO:

Se observaron las siguientes complicaciones (Figura 29):

Reinfarto de miocardio: En 1 de los 5 pacientes con RPCA (20%) y en 6 (12.8%) de los pacientes sin RPCA. (Figura 30).

Angina y/o reinfarto: 1 de los 5 pacientes con RPCA (20%) y en 11 (23.4%) de los pacientes sin RPCA.

Evento vascular cerebral: Se observó en 7 de los 47 pacientes sin RPCA (14.9%), no se observó tal complicación en el grupo con RPCA. (Figura 31).

Trombo intracardiaco: Se presentó en 1 de los 5 pacientes con RPCA (20%) y en 2 de los 47 pacientes sin RPCA (4.3%). (Figura 32).

Trombosis arterial: 1 de los 5 pacientes con RPCA (20%) y en 1 de los 47 pacientes sin RPCA (2.1%). (Figura 33)

Complicaciones mecánicas: se presentaron en 3 de los 52 pacientes (5.75%), en 1 de los 5 pacientes con RPCA (20%) y en 2 de los 47 sin RPCA (4.3%). (Figura 34).

COMPLICACIONES POSTINFARTO DE MIOCARDIO

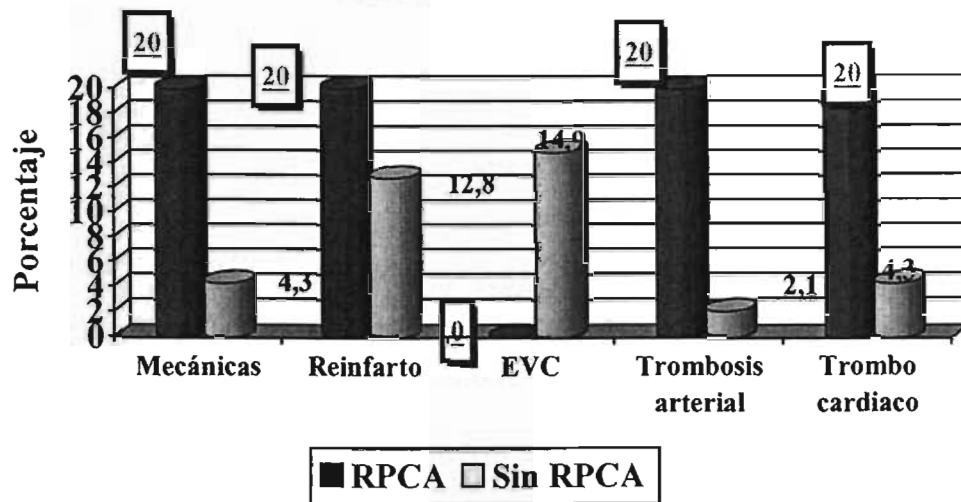


Figura 29. - Complicaciones observadas en el periodo postinfarto de miocardio en los grupos con y sin resistencia a la proteína C activada.

REINFARTO

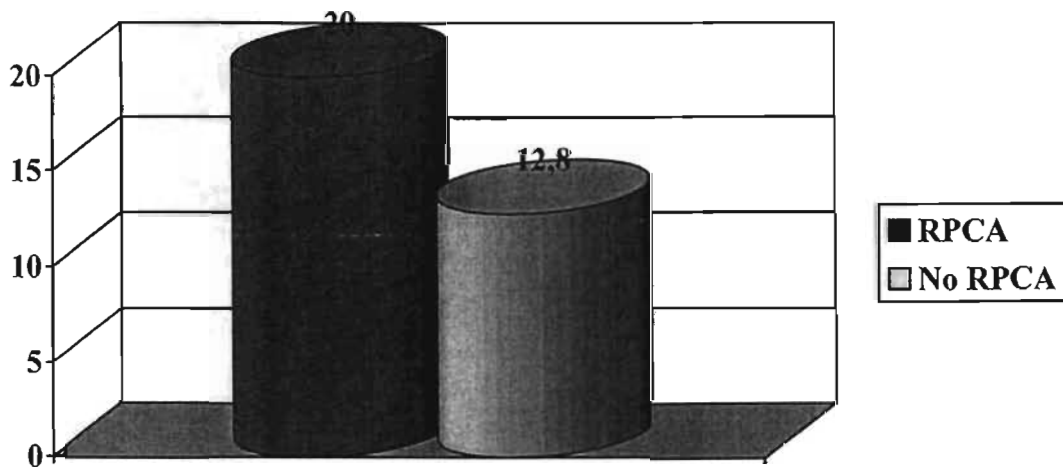


Figura 30. - Se observó reinfarto de miocardio en uno de los 5 pacientes con RPCA (20%) y en seis de los 47 pacientes sin RPCA (12.8%).

EVENTO VASCULAR CEREBRAL

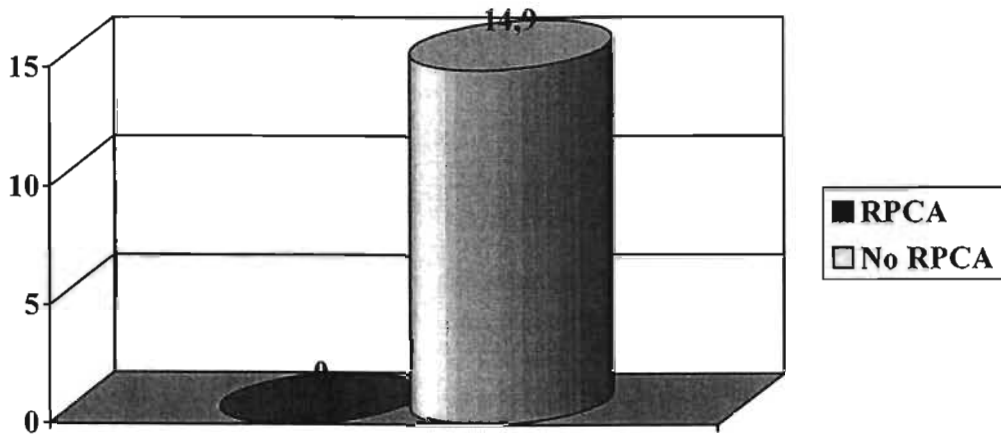


Figura 31. - Se observó EVC en siete de los cuarenta y siete pacientes sin RPCA (14.9%), no se observó tal complicación en el grupo con RPCA.

TROMBO INTRACARDIACO

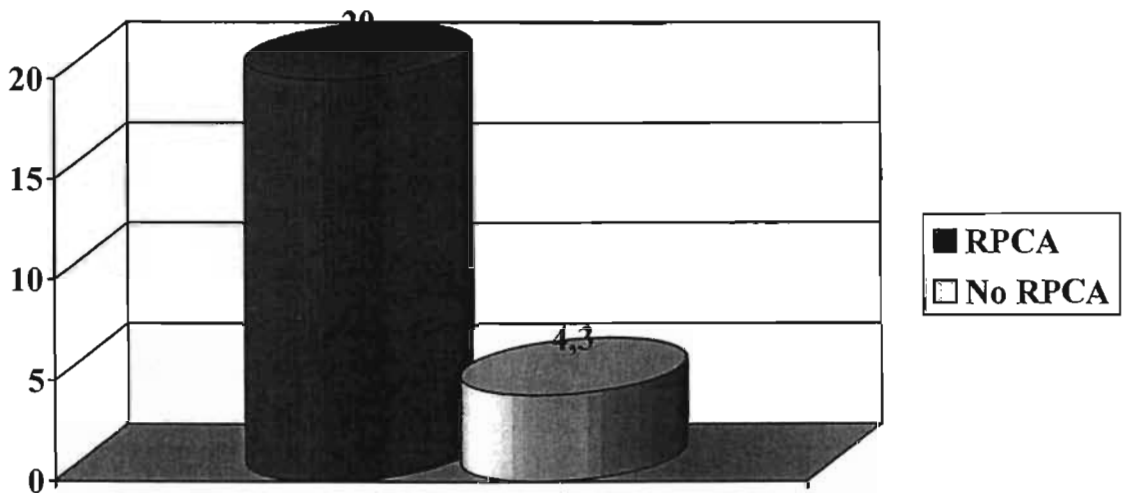


Figura 32. - Se presentó trombo intracardiaco en uno de los 5 pacientes con RPCA (20%) y en dos de los 47 pacientes sin RPCA (4.3%).

TROMBOSIS ARTERIAL

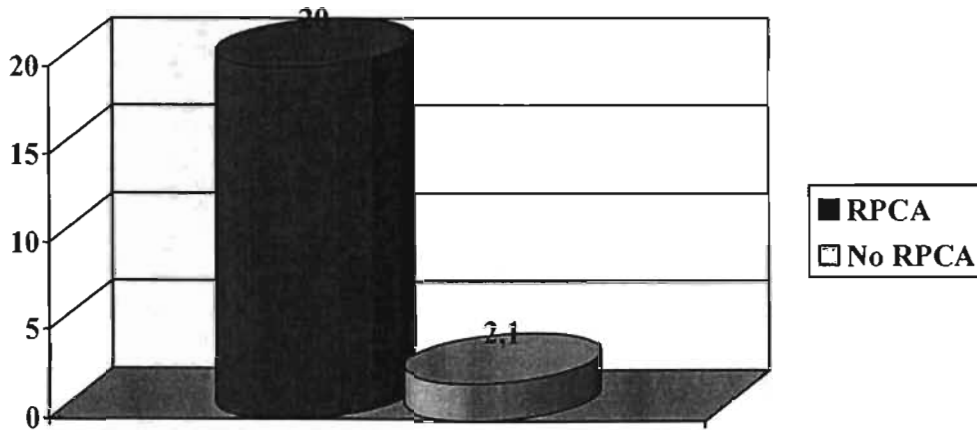


Figura 33. - Se presentó trombosis arterial en uno de los cinco pacientes con RPCA (20%) y en uno de los cuarenta y siete pacientes sin RPCA (2.1%).

COMPLICACIONES MECÁNICAS

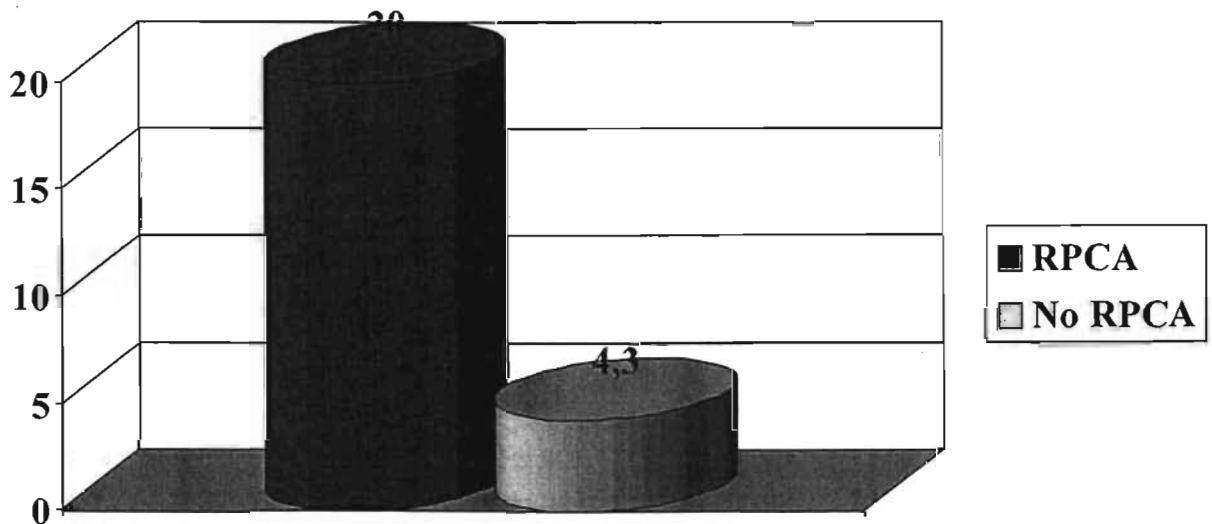


Figura 34. - Se presentaron complicaciones mecánicas en uno de los cinco pacientes con RPCA (20%) y en dos de los cuarenta y siete pacientes sin RPCA (4.3%)

DISCUSIÓN:

La prevalencia de la resistencia a la proteína C activada entre los pacientes con infarto agudo de miocardio en nuestro estudio fue de 9.6%. Al compararla con el 4.5% de la prevalencia de resistencia a la proteína C activada entre una muestra de población mexicana sana estudiada en el departamento de hematología del Instituto Nacional de Cardiología por De la Peña e Izaguirre²⁰ encontramos una diferencia significativa.

Debemos tener en cuenta que el estudio fue realizado en un centro de tercer nivel de atención médica, que por su localización geográfica recibe preferentemente población del sur y centro del país y al no incluir al total de la población en el estudio, los resultados podrían no corresponder al total de la población mexicana. Las mismas limitaciones se tienen con las muestras tomadas en la población sana.

La prevalencia de la resistencia a la proteína C activada varía con la raza; diferentes autores han calculado una prevalencia cercana al cero por ciento entre la población indígena americana¹².

En nuestro estudio la prevalencia de resistencia a la proteína C activada encontrada en la población sana (4.5%) prácticamente fue igual a la encontrada entre la población sana en Europa (4.4%). Si tomamos en cuenta que la mayoría de la población incluida en nuestro estudio fue tomada de los estados del sur de la república (los cuales tienen una mayor población indígena); la inclusión de una mayor población del norte de la república (que tienen una menor población

indígena), pudiera darnos una mayor prevalencia de RPCA entre la población sana mexicana, lo cual estaría en contra de lo postulado por autores europeos.

Aún con la limitante del tamaño de la muestra resulta evidente la mayor prevalencia de resistencia a la proteína C activada entre los pacientes con infarto agudo de miocardio que en la población sana, lo cual sugeriría que la resistencia a la proteína C activada podría representar un factor de riesgo adicional para el desarrollo de infarto agudo de miocardio.

En nuestro estudio no hubo diferencia en la edad media entre el grupo de pacientes con infarto de miocardio y resistencia a la proteína C activada y aquellos que no la tuvieron (38.8 ± 12.37 años versus 37.98 ± 9.55 años), sugiriendo que factores adicionales a la resistencia a la proteína C activada pudieran requerirse para el desarrollo de un infarto de miocardio.

También encontramos una diferencia estadísticamente significativa en cuanto al porcentaje de mujeres en el grupo de pacientes con infarto de miocardio y resistencia a la proteína C activada y aquel sin este factor. Como ya ha sido postulado, esto sería por que los estrógenos tanto endógenos como exógenos incrementan la resistencia a la proteína C activada. Dicho de otra manera los estrógenos disminuyen el grado de inactivación del factor V activado por la proteína C activada (resistencia a la proteína C activada adquirida).¹³

En cuanto a la presencia de factores de riesgo cardiovascular, el tabaquismo se encontró con más frecuencia entre los pacientes con infarto de miocardio y resistencia a la proteína C que en los pacientes sin la RPCA (80% versus 70.2%). Esto podría sugerir un efecto sinérgico entre el tabaquismo y la resistencia a la

proteína C activada como factores de riesgo para el desarrollo de infarto de miocardio ya que, previamente ha sido demostrado que el tabaquismo incrementa el riesgo trombótico al aumentar los niveles del fibrinógeno plasmático.²⁹ Nuestros resultados están en concordancia con los resultados de Rosendaal quien encontró una razón de Momios de 1 para el desarrollo de infarto de miocardio entre los pacientes sin tabaquismo ni factor V de Leiden, de 1.1 si el paciente tenía solamente el factor de Leiden pero sin tabaquismo; de 9 si el paciente tenía solamente tabaquismo y de 32 si se tenía tanto tabaquismo como factor V de Leiden.³¹

A diferencia de lo encontrado por Middendorf¹³, en nuestro estudio se encontró mayor prevalencia de hipercolesterolemia (60 versus 23.4%) y diabetes mellitus (20 versus 6.4%) en el grupo con infarto agudo de miocardio y resistencia a la proteína C activada que el grupo sin esta última, sugiriendo que, o bien la resistencia a la proteína C activada no es por sí sola un factor de riesgo para el desarrollo de infarto de miocardio o bien, que en caso de serlo, requeriría de factores de riesgo adicionales para el desarrollo de éste.

En nuestro estudio los pacientes en el grupo de infarto agudo de miocardio con resistencia a la proteína C activada tuvieron menor proporción de obesidad (20% versus 23.4%), hipertrigliceridemia (0% versus 12.76%) e hipertensión (0 versus 27.7%) en comparación con los pacientes sin resistencia a la proteína C activada. Estos resultados resultan contradictorios ya que la obesidad, la hipertrigliceridemia y la hipertensión también son considerados factores de riesgo cardiovascular tradicionales. Por lo tanto se encontró un incremento en la

prevalencia de un grupo de factores de riesgo cardiovascular convencional (tabaquismo, diabetes e hipercolesterolemia) en el grupo con resistencia a la proteína C activada, mientras que la prevalencia de otro grupo de factores de riesgo también considerados convencionales (hipertensión, obesidad) fue menor en este mismo grupo en comparación con el grupo sin resistencia a la proteína C activada. La muestra de nuestro estudio fue pequeña y se requiere el desarrollo de un nuevo estudio que incluya un mayor número de pacientes para determinar el riesgo relativo de la resistencia a la proteína C reactiva para el desarrollo del infarto de miocardio. Sin embargo, Doggen y cols.¹⁴ ya han postulado que el riesgo de la combinación de los defectos de la coagulación (en este caso resistencia a la proteína C activada) en conjunto con un factor de riesgo convencional excede el riesgo de éste último por si mismo. Por su parte Rosendaal también encontró que la razón de Momios para el desarrollo de infarto de miocardio es de 3.5 si sólo se tiene la mutación Leiden y aumenta hasta 24.8 si se tiene la mutación más uno o más factores de riesgo cardiovascular convencional.³¹

De los antecedentes personales patológicos, se observó una mayor proporción de enfermos con resistencia a la proteína C activada con uso previo de anticoagulantes (40 versus 0%) y de cardiopatía isquémica previa (60 versus 6.38%). El uso de anticoagulantes en el grupo con resistencia a PCA había sido indicado en 1 de los 2 casos por antecedente de trombosis venosa profunda y en el otro caso por haber presentado previamente un infarto anterior extenso con

FEVI disminuida, lo cual indica que la RPCA influye en el desarrollo de eventos trombóticos en diferentes lechos vasculares. No hubo antecedente de EVC en el grupo con RPCA pero hubo solamente 1 en el grupo sin resistencia a la PCA lo cual por lo reducido de la muestra no resulta significativo. Por otra parte, el haber encontrado una mayor prevalencia de cardiopatía isquémica previa sugiere que la resistencia a la proteína C activada también pudiera relacionarse con un incremento en el desarrollo de la aterosclerosis coronaria.

La localización más frecuente del infarto fue la anteroapical en ambos grupos, sin embargo la proporción fue mayor en el grupo con RPCA (80 versus 26%) lo cual fue estadísticamente significativo. Llama la atención que en la coronariografía, a diferencia de lo que se esperaba según la localización de infarto, la arteria más frecuentemente afectada en el grupo de RPCA fue la coronaria derecha y no la descendente anterior, lo cual sugeriría que el evento de infarto de miocardio pudiera haberse debido a trombo coronario que se desapareció por lisis y no se observó en la coronariografía y/o que el paciente padeciera una pancoronariopatía. La distribución de las lesiones coronarias es concordante con la localización del infarto en el grupo sin resistencia a la proteína C activada, sugiriendo que en estos pacientes la aterosclerosis como tal fuera el determinante principal del desarrollo del infarto de miocardio.

El número de vasos afectados promedio no difirió entre el grupo sin resistencia a la proteína C activada (0.96 ± 0.93) y el grupo de pacientes con resistencia a la

proteína C activada (1 ± 0.7). Nuevamente el tamaño de la muestra es una limitante para concluir al respecto.

Se encontró que la lesión de un solo vaso fue la más frecuente en ambos grupos, sin embargo la proporción fue mayor en el grupo con RPCA que en el grupo sin ésta.

Hubo mayor proporción de pacientes con lesión de 3 vasos en el grupo con infarto de miocardio sin resistencia a la proteína C activada que en el grupo con resistencia a la proteína C activada, lo que sugeriría que la aterosclerosis influiría más en el grupo sin resistencia a la proteína C activada en el desarrollo del infarto de miocardio. Esto sugiere que en los individuos con resistencia a la proteína C activada, podría desarrollarse un infarto agudo de miocardio sin la presencia de lesiones aterosclerosas.

Al dividir a los pacientes en 2 grupos, el primero sin lesiones coronarias angiográficamente significativas y el segundo con lesión angiográficamente significativa en por lo menos un vaso, encontramos que: 19 de los 52 (36.5%) pacientes no tuvieron lesiones coronarias y el 63.5% restante tenían por lo menos un vaso con aterosclerosis significativa. De los 19 pacientes sin lesiones coronarias sólo 1 tuvo resistencia a la proteína C activada (5.2%), mientras que de los 33 pacientes con lesiones coronarias en por lo menos 1 vaso, 4 tuvieron resistencia a la proteína C activada (12.1%). Esto es, en nuestra muestra se encontró una prevalencia más alta de resistencia a la proteína C activada entre el grupo de pacientes con lesiones coronarias comparados con el grupo sin lesiones coronarias, lo cual nuevamente sugiere que si bien la resistencia a la

proteína C activada pudiera no ser por si misma un factor de riesgo para el desarrollo de infarto de miocardio pudiera serlo para el desarrollo de la aterosclerosis como ha sido ya postulado por Kiechl y colaboradores²⁶, quienes encontraron una asociación independiente y gradual entre la resistencia a la proteína C activada y la aterosclerosis (estenosis) y enfermedad arterial. März et al²⁸ han postulado que el mecanismo por el cual la resistencia a la proteína C activada acelera la aterosclerosis pudiera estar relacionado a un incremento en la generación del factor X activado y de la trombina, los cuales funcionan tanto como factores de la coagulación como un agonista potente de la respuesta celular aterogénica, como la agregación plaquetaria, quimiotaxis y proliferación celular. Se ha hipotetizado que las anormalidades congénitas de la coagulación pudieran ser la causa del infarto de miocardio en pacientes sin lesiones coronarias angiográficamente significativas.

Dacosta²³ encontró una prevalencia más alta de resistencia a la proteína C activada entre los pacientes con infarto de miocardio sin lesiones angiográficas, que en el grupo de pacientes con placas significativas pero la diferencia no fue estadísticamente significativa. A diferencia de Dacosta, nosotros encontramos una mayor proporción de pacientes sin lesiones angiográficamente significativas en el grupo de pacientes infartados sin resistencia a la proteína C activada que en el grupo con RPCA. Si bien el poder estadístico de nuestro estudio es bajo para detectar una diferencia significativa, sugiere que para que la RPCA se adicione como factor de riesgo para el desarrollo del infarto de miocardio, requiere de cambios ateroscleróticos avanzados. Además de la resistencia a la proteína C

activada, la necesidad de otros factores de riesgo para el desarrollo del infarto de miocardio se apoya en: 1) la mayor prevalencia de factores de riesgo convencional (tabaquismo, hipercolesterolemia y diabetes mellitus) encontrados en el grupo de pacientes infartados con resistencia a la proteína C activada en comparación con el grupo sin RPCA de nuestra muestra; 2) la mayor proporción de pacientes con RPCA con lesiones coronarias angiográficamente significativas en comparación con los del grupo sin RPCA (80 versus 61.7%) y, 3) en la mayor proporción de pacientes con lesión del tronco de la coronaria izquierda con RPCA versus aquellos sin RPCA (20% versus 4,3%).

El tratamiento del infarto difirió en cuanto a que los pacientes con resistencia a la proteína C activada fueron tratados con angioplastia y/o colocación de stent en mayor proporción que aquellos sin RPCA (40 versus 21,3%), lo mismo que con cirugía de revascularización (60 versus 31,9%); esto probablemente en relación con el hecho de que en el grupo con resistencia a la PCA hubo una mayor proporción de pacientes con lesiones coronarias significativas así como mayor número de complicaciones postinfarto como se describirá a continuación.

El porcentaje de complicaciones postinfarto fue mayor en el grupo con RPCA que en el grupo sin esta (80% versus 40,2%); el tamaño de la muestra fue pequeño como para concluir al respecto, pero este resultado sugeriría que los pacientes jóvenes con infarto de miocardio y resistencia a la proteína C activada tienen mayor probabilidad de desarrollar complicaciones posteriores al infarto (particularmente trombóticas) y, de esta manera se apoyaría la solicitud de

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

investigar la presencia de resistencia a la proteína C reactiva en forma rutinaria en este grupo de pacientes.

Al separar las complicaciones por grupos, encontramos que el reinfarto de miocardio se presentó en el 20% de los pacientes con RPCA en comparación con sólo 12.8% de los pacientes sin RPCA, pero al agrupar en conjunto angina y/o reinfarto la proporción fue mayor en el grupo de pacientes sin RPCA (20 versus 23.4%). En este punto comentaremos que si bien la proporción de reinfarto fue mayor en el grupo con resistencia a la proteína C activada, la angina postinfarto/reinfarto en conjunto fue mayor en el grupo sin resistencia a la proteína C activada, lo que sugiere en el primer caso que el estado protrombótico que conlleva la resistencia a la proteína C activada es un factor importante en el desarrollo de complicaciones trombóticas en el postinfarto (en este caso se explicaría el reinfarto por un nuevo evento trombótico en las arterias coronarias), mientras que la aterosclerosis y la obstrucción mecánica de la arteria coronaria que esta conlleva, sería más importante en el desarrollo de angina postinfarto en el paciente sin resistencia a la proteína C activada.

Al comparar las complicaciones trombóticas del sistema nervioso central, encontramos que se presentaron 7 casos de evento vascular cerebral en el grupo con infarto de miocardio sin RPCA, no hubo tal evento en el grupo con resistencia a la proteína C activada; en este caso la diferencia es significativa y difiere de los resultados de estudios previos en que también se ha relacionado a la resistencia a la proteína C activa con el desarrollo de eventos vasculares cerebrales; nuestro tamaño de la muestra es pequeño pero el número de EVC en

el grupo sin resistencia la resistencia a la proteína C activada fue mayor de lo esperado por lo que es necesario ampliar el número de pacientes para concluir al respecto.

Si tomamos en cuenta que en el estudio de Eskandari y col¹⁸ se demostró una asociación entre la resistencia a la proteína C activada (específicamente la debida a la mutación de Leiden) y el desarrollo de eventos trombóticos arteriales (entre los que se incluyen los eventos vasculares cerebrales y el infarto de miocardio), el presente estudio debe servir para apoyar el desarrollo de un nuevo estudio que incluya un mayor número de pacientes para determinar el papel de la resistencia a la proteína C reactiva en el desarrollo de eventos aterotrombóticos en otros territorios vasculares, incluido el cerebral, en la población mexicana, ya que en nuestra muestra se encontró una prevalencia de resistencia a la proteína C activada mayor que la encontrada por otros autores en la población americana.

La mutación Leiden (causa del 95% de los casos de resistencia a la proteína C activada) es la alteración congénita protrombótica que predispone más comúnmente a la trombosis venosa; en nuestro estudio no se presentó esta clase de complicaciones, debiera investigarse si fue debido al uso de heparinas en el postinfarto.

En nuestro estudio se presentó con mayor frecuencia **trombo intracardiaco** en el grupo de pacientes con infarto de miocardio y RPCA que en el grupo sin ésta (20 versus 4.3%). Yetkin²⁵ en su estudio sobre predictores de formación de trombo ventricular izquierdo en pacientes con infarto de miocardio anterior encontró que la resistencia a la proteína C activada fue un factor de riesgo independiente para el

desarrollo de la formación de trombo ventricular izquierdo; en nuestro estudio se encontró una mayor proporción de tabaquismo en el grupo de pacientes con resistencia a la proteína C reactiva, mientras que en el estudio de Yetkin²⁵ se encontró que el tabaquismo era más frecuente en el grupo de pacientes que desarrollaron trombo ventricular que entre los que no lo desarrollaron. Por lo tanto merece la pena revisar el papel del tabaquismo y la resistencia a la proteína C activada como factores que actúan sinérgicamente en el desarrollo de infarto de miocardio y trombosis.

Yetkin²⁵ mediante un análisis de regresión multivariada sobre posibles factores de riesgo relacionados con la formación de trombo ventricular en pacientes con infarto de miocardio anterior encontró que, tanto el tabaquismo como la resistencia a la proteína C activada fueron factores de riesgo independientes para el desarrollo del trombo ventricular; con una p de < 0.05 para el tabaquismo y de 0.012 para la resistencia a la proteína C activada. Dado que en nuestro estudio se encontró un incremento tanto en el tabaquismo en los pacientes con resistencia a la proteína C activada, la importancia de ésta en el desarrollo de trombo ventricular pudiera estar sobreestimado.

El tabaquismo es considerado uno de los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular oclusiva. Rosendaal³¹ en su estudio de mujeres jóvenes con infarto de miocardio, encontró que la resistencia a la proteína C activada tenía mucho más efecto cuando se asociaba con tabaquismo.

Por otra parte, es bien conocido que la trombosis ventricular izquierda es más frecuente en pacientes con infarto de miocardio anterior; en nuestro estudio, el 80% de los pacientes con RPCA tuvieron un infarto de miocardio de localización anteroseptal comparado con sólo 25% de los pacientes sin resistencia a la proteína C activada. Lo anterior podría sugerir un efecto sinérgico del tabaquismo y la resistencia a la proteína C activada en el desarrollo de trombosis ventricular en pacientes con un infarto de miocardio anteroseptal.

Hubo un porcentaje mayor de pacientes con infarto de miocardio y resistencia a la proteína C activada con eventos de trombosis arterial periférica en comparación con el porcentaje de esta complicación encontrado en el grupo sin resistencia a la proteína C activada (20% versus 2.1%); estos resultados coinciden con los encontrados por Eskandari y colaboradores¹⁸ y sugiere que si bien la resistencia a la proteína C reactiva pudiera no ser como tal un factor de riesgo independiente para el desarrollo de infarto de miocardio, si pudiera influir de forma importante en el desarrollo de complicaciones trombóticas.

Así mismo las complicaciones mecánicas se presentaron con mayor frecuencia en el grupo con RPCA que en el grupo sin RPCA, sin embargo no hubo diferencias en cuanto al grupo de complicaciones mecánicas pues se trató en todos los casos de insuficiencia mitral por disfunción del músculo papilar que se explicaría por la localización del infarto y la arteria afectada.

CONCLUSIONES.

La prevalencia de la resistencia a la proteína C activada entre los pacientes con infarto agudo de miocardio en nuestro estudio fue mayor que entre la población sana voluntaria lo cual sugeriría que la resistencia a la proteína C activada podría representar un factor de riesgo adicional para el desarrollo de infarto agudo de miocardio en este caso en el grupo de edad de pacientes menores de 56 años.

En nuestro estudio se encontró una diferencia estadísticamente significativa en cuanto al porcentaje de mujeres en el grupo de pacientes con infarto de miocardio y resistencia a la proteína C activada y aquel sin éste factor; tal vez por que los estrógenos incrementan la resistencia a la proteína C activada.

El tabaquismo se encontró con más frecuencia entre los pacientes con infarto de miocardio y resistencia a la proteína C que en los pacientes sin la RPCA, esto sugiere un efecto sinérgico entre el tabaquismo y la resistencia a la proteína C activada como factores de riesgo para el desarrollo de infarto de miocardio.

El haber encontrado una mayor prevalencia de hipercolesterolemia y diabetes mellitus en el grupo con resistencia a la proteína C activada sugiere que ésta última requiere de la presencia de ciertos factores de riesgo cardiovascular para el desarrollo de infarto de miocardio, ya que también se encontró una menor proporción de pacientes con obesidad, hipertrigliceridemia e hipertensión arterial.

Se observó una mayor proporción de enfermos con cardiopatía isquémica previa lo que sugiere que la resistencia a la proteína C activada pudiera relacionarse con un incremento en el desarrollo de la aterosclerosis coronaria.

Llama la atención que en la coronariografía, a diferencia de lo que se esperaba según la localización de infarto, la arteria más frecuentemente afectada en el grupo de RPCA fue la coronaria derecha y no la descendente anterior, lo cual sugeriría que el evento de infarto de miocardio pudiera haberse debido a trombo coronario que se desapareció por lisis espontánea.

Por otra parte, al dividir a los pacientes en aquellos con y sin lesiones coronarias, se encontró una prevalencia más alta de resistencia a la proteína C activada en el primer grupo comparado con el segundo, lo que sugiere que si bien la resistencia a la proteína C activada pudiera no ser por sí misma un factor de riesgo para el desarrollo de infarto de miocardio, pudiera serlo para el desarrollo de la aterosclerosis. A diferencia de otros autores, nosotros encontramos una mayor proporción de pacientes sin lesiones angiográficamente significativas en el grupo de pacientes infartados sin resistencia a la proteína C activada que en el grupo con RPCA. Si bien el poder estadístico de nuestro estudio es bajo para detectar una diferencia significativa, sugiere que para que la RPCA se adicione como factor de riesgo para el desarrollo del infarto de miocardio, requiere de cambios ateroscleróticos avanzados.

Hubo mayor proporción de pacientes con lesión de 3 vasos en el grupo con infarto de miocardio sin resistencia a la proteína C activada lo que sugeriría que la aterosclerosis influiría más en éste grupo para el desarrollo del infarto de miocardio.

El porcentaje de complicaciones postinfarto fue mayor en el grupo con RPCA que en el grupo sin ésta el tamaño de la muestra fue pequeño como para concluir al respecto, sugiere que los pacientes jóvenes con infarto de miocardio y resistencia a la proteína C reactiva tienen mayor probabilidad de desarrollar complicaciones posteriores al infarto. El reinfarto de miocardio fue más frecuente en el grupo con RPCA pero, agrupar en conjunto angina y/o reinfarto la proporción fue mayor en el grupo de pacientes sin RPCA lo que sugiere en el primer caso que el estado protrombótico que conlleva la resistencia a la proteína C activada es un factor importante en el desarrollo de complicaciones trombóticas en la etapa postinfarto de miocardio (trombosis coronaria que lleva al desarrollo de reinfarto de miocardio, trombosis arterial periférica, trombosis intracoronaria), mientras que la aterosclerosis y la obstrucción coronaria que esta conlleva, sería más importante en el desarrollo de angina postinfarto en el paciente sin resistencia a la proteína C activada.

En nuestro estudio se presentó con mayor frecuencia trombo intracardiaco en el grupo de pacientes con infarto de miocardio y RPCA que en el grupo sin ésta sin embargo, también encontramos una mayor proporción de tabaquismo en el grupo de pacientes con resistencia a la proteína C reactiva, lo que sugiere que ambos factores pudieran actuar en forma sinérgica en el desarrollo de infarto de miocardio y trombosis.

Hubo un porcentaje mayor de pacientes con infarto de miocardio y resistencia a la proteína C activada con eventos de trombosis arterial periférica estos resultados coinciden con los encontrados por otros autores y sugieren que la RPCA

podiera influir de forma importante en el desarrollo de complicaciones trombóticas en el período postinfarto de miocardio.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ . - Inbal A, Freiman D, Modan B: Synergistic effects of prothrombotic polymorfism and atherogenic factors on the risk of myocardial infarction in young males. Blood 1999; 93: 2186-2190.
- ² . - Yusuf S, Hawken S, Dans T: Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. Lancet 2004; 364: 937-952.
- ³ . - Hughes S: Novel cardiovascular risk Factor. The Journal of Cardiovascular Nursing 2003; 18: 131-138.
- ⁴ . - Simmons RE, Rauce J, Lane D: Regulation of coagulation. En Loscalzo J, Schafer A: Thrombosis and haemorrhage. Philadelphia. Blackwell Scientific Publications; 2003:35-61.
- ⁵ . – Ziedins K, Orfeo T, Swords N: bBlood coagulation and fibrinolysis. En Greer J, Foerster J, Lukens J: Wintrobe's clinical hematology. Philadelphia. Lippincontt Williams and Wilkins; 2004:677-743.

⁶ . - Hoffman M, Monroe D: A cell- based model of hemostasis. *Thromb Haemost* 2001; 85: 958-65.

⁷ . - Rice G, Grant P: FVIII coagulant activity and antigen in subjects with ischaemic heart disease. *Thromb Haemost* 1998; 80: 757-62.

⁸.- Izaguirre R, De la Peña A: Estados protrombóticos. En Martínez C, Editor. *Manual de hemostasia y trombosis*. México: Editorial Prado 1996: 333-350.

⁹.- Samani N, Lodwick D, Martin D: Resistance to activated protein C and risk of premature myocardial infarction. *Lancet* 1994; 344:1709-1710.

¹⁰.- Johan Holm, Bengt Zöller, Peter Svensson: Myocardial infarction associated with homozygous resistance to activated protein C. *Lancet* 1994; 344: 952-953.

¹¹.- Kontula K, Ylikorkala A, Miettinen H, et al: Arg506Gln Factor V mutation (factor V Leiden) in patients with ischaemic cerebrovascular disease and survivors of myocardial infarction. *Thromb and Haemost* 1995; 73 (4): 558-60.

¹².- Rees DC, Cox M, Clegg JB: World distribution of factor V Leiden. *Lancet* 1995; 346: 1133-34.

¹³.- Middendorf K, Göhring P, Huehns T: Prevalence of resistance against activated protein C resulting from factor V Leiden is significantly increased in myocardial infarction: investigation of 507 patients with myocardial infarction. Am Heart J 2004; 147:897-904.

¹⁴. - Doggen C, Manger V, Bertina R: Interaction of coagulation defects and cardiovascular risk factors. Increased risk of myocardial infarction associated with factor V Leiden or Prothrombin 20210A. Circulation 1998; 97: 1037-1041.

¹⁵ .- Bertina R, Koeleman B, Koster T, et al : Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. Nature 1994; 369: 64-67.

¹⁶.- Dahlbäck B: Resistance to activated protein C due to V R506Q mutation as a cause of venous thrombosis. Revista de Investigación clínica.1997; 49: 3-5.

¹⁷ .- Ridker P, Hennekens C, Lindpaintner K, et al: Mutation in gene coding for coagulation factor V and the risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in apparently healthy men. NEJM 1995; 332:912-917.

¹⁸ .- Eskandari M, Bontempo F, Cortese A, et al: Arterial thromboembolic events in patients with factor V Leiden mutation. Am J Surg 1998; 176: 122-125.

¹⁹ .- Montiel G, Cabiedes J, Cesarman G: Prevalencia y causas de resistencia a la proteína C activada en donadores de sangre que acuden a hospitales de salud pública en México. XXXVII Jornada Anual. Agrupación Mexicana para el estudio de la Hematología 1996: 138.

²⁰ .- De la Peña A, Izaguirre R, Montante A, et al: Resistencia a la proteína C activada en enfermos con trombosis venosa y/o arterial. Revista Iberoamericana de trombosis y hemostasia 1995; 8:104-105.

²¹.- Williamson D, Brown K, Luddington R: Factor V Cambridge: a new mutation (Arg 306 →Thr) associated with resistance to activated protein C. Blood 1998; 4:1140-1144.

²².- Chan W, Lee C, Kwong Y: A novel mutation Arg 306 of factor V gene in Hong Kong chinese. Blood 1998; 4: 1135-1139.

²³ .- Dacosta A, Tardy-Poncet B, Isaaz K, et al: Prevalence of factor V leiden (APCR) and other inherited thrombophilias in young patients with myocardial infarction and normal coronary arteries. *Heart* 1998; 80: 338-40.

²⁴ . - Redondo M, Watzke R, Stucki H: Coagulation factors II, V, VII and X, prothrombin gene 20201G→A transition, and factor V Leiden in coronary artery disease: high factor V clotting activity is an independent risk factor for myocardial infarction. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19 (4) 1020-1025.

²⁵.- Yetkin E, Erbay A, Ayaz S: Predictors of left ventricular thrombus formation in patients with anterior myocardial infarction: role to activated protein C resistance. *Coronary artery disease* 2000; 11: 269-272.

²⁶.- Kiechl S, Muigg A, Santer P: Poor response to activated protein C as a prominent risk predictor of advanced atherosclerosis and arterial disease. *Circulation* 1999; 99: 614-619.

²⁷ . - Emmerich J, Poirier O, Evans A et al: Myocardial infarction, Arg 506 to Gln factor V mutation, and activated protein C resistance. *Lancet* 1995; 345:321-328.

²⁸ . - März W, Seydewitz H, Winkelmann B, et al: Mutation in coagulation factor V associated with resistance to activated protein C in-patients with coronary artery disease. Lancet 1995; 345: 526-27.

²⁹ . - Ardissino D, Peyvandi F, Merlini P, et al: Factor V (Arg506→Gln) mutation in young survivors of myocardial infarction. Thrombosis and Hemostasis 1996; 75 (5): 701-702.

³⁰ . - Amowitz L, Komaroff A, Miletich J: Factor V Leiden is not a risk factor for myocardial infarction among young women. Blood 1999; 1432-33.

³¹ .- Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM, et al: Factor V Leiden increases the risk of myocardial infarction in young women. Blood 1997; 89: 2817-2821.