



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

**HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA**

**CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI**

**“FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO G20210A EN EL GENE DE LA  
PROTROMBINA EN PACIENTES JOVENES  $\leq$  45 AÑOS CON INFARTO  
MIOCARDICO CON ELEVACIÓN DEL SEGMENTO ST”.**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TITULO DE  
ESPECIALISTA EN CARDIOLOGÍA**

**PRESENTA**

**DR. EDGAR CUEVAS GARCIA**

**TUTORES**

**DRA. IRMA ISORDIA SALAS**

**DR. ARMANDO MANSILLA OLIVARES**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

---

Dr. Rubén Argüero Sánchez  
Director General  
Hospital de Cardiología  
Centro Médico Nacional Siglo XXI

---

Dr. Rodolfo Castaño Guerra  
Director Médico  
Hospital de Cardiología  
Centro Médico Nacional Siglo XXI

---

Dr. Armando Mansilla Olivares  
Director de Investigación y Educación en Salud  
Hospital de Cardiología  
Centro Médico Nacional Siglo XXI

---

Dr. Jesús Salvador Valencia Sánchez  
Jefe de División de Educación en Salud  
Hospital de Cardiología  
Centro Médico Nacional Siglo XXI

---

Dra. Irma Isordia Salas  
Tutor de tesis  
Investigadora de la Unidad de Investigación de Hemostasia,  
Trombosis y Aterosclerosis  
Hospital General Regional 1

---

Dr. Armando Mansilla Olivares  
Tutor de tesis  
Director de Investigación y Educación en Salud  
Hospital de Cardiología  
Centro Médico Nacional Siglo XXI

## **AGRADECIMIENTOS**

*Dios mío por permitirme terminar  
Lo que siempre anhele como profesional;  
Ahora dame la fuerza y la sabiduría  
Para emprender la vocación más difícil y hermosa de la vida:  
Ser Padre...*

*A una mujer que a pesar de no estar en este ambiente  
Supo con paciencia, determinación y coraje guiarme en  
Los momentos de cansancio físico y moral para seguir adelante  
Y por ser el aliento de vida que necesite en esos instantes que  
Solo tú comprendes hoy; mañana me darás el más grande regalo:  
El Hijo que ambos anhelamos, Esthela sin ti no valdría la pena esto, Te amo...*

*A mi madre, mujer de entrega infinita,  
Que lograste guiarme por el buen sendero de la vida,  
Y me diste la chispa que necesitaba para superarme  
Madre gracias por siempre, te quiero mucho...*

*A mi maestro y amigo Dr. Armando Mansilla Olivares  
Por dedicarme el tiempo necesario para hacer de mi un buen profesionalista,  
Pero sobre todo por hacer de mí una persona con espíritu altruista y sensible,  
Gracias maestro...*

## AGRADECIMIENTOS

*A mi tutora y maestra Dra. Irma Isordia Salas,  
Por dedicarme el tiempo necesario para poder realizar este excepcional trabajo,  
Que con gran paciencia me enseñó a ser mejor en este camino profesional,  
Pero sobre todo por confiar en mí, gracias...*

*A todos los profesores del curso, hoy amigos y colegas,  
Por guiarme por el buen camino para poder ver más allá del horizonte clínico,  
Ver al corazón física y moralmente, para aliviar el dolor totalmente,  
Dr. Cancino gracias por sus consejos,  
Dr. Benitez gracias por sus palabras...*

*A mi familia, por haber participado y darme su apoyo  
En el inicio de esta enmienda, gracias...*

*A dos grandes de la vida, que dieron un toque especial a esto  
Ejemplo a seguir en el camino de Dios,  
Don Raulito y Doña Lilia, queridos abuelitos, gracias*

*A mis amigos, los que han estado, los que se fueron y los que llegaron a mi vida,  
Por ser incondicionales con su amistad  
Por el apoyo para con mi esposa siempre  
Por ser una parte importante en esto, gracias...*

*A mis queridos amigos residentes de generación  
Que iniciamos este camino juntos  
Con ustedes este sendero fue más fácil  
Eduardo y Karina, siempre juntos desde el inicio,  
Ricardo (Cubillas), Antonio, Ignacio y Victor (Nilmo), Gracias...*

*Y, Dios a los que hoy están contigo, a tu lado  
A ellos quiero decirles que los extraño mucho,  
Papá, Tía Cholita, Alexita, Suegro,  
Por siempre mi corazón en el corazón de ustedes...*

## INDICE

|       |                                |    |
|-------|--------------------------------|----|
| I.    | ANTECEDENTES                   | 6  |
| II.   | JUSTIFICACIÓN                  | 11 |
| III.  | PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA     | 12 |
| IV.   | HIPOTESIS                      | 13 |
| V.    | OBEJETIVOS                     | 14 |
| VI.   | SUJETOS, MATERIAL Y METODOS    | 15 |
| VII.  | TAMAÑO DE LA MUESTRA           | 16 |
| VIII. | ANALISIS ESTADISTICO           | 17 |
| IX.   | RESULTADOS                     | 18 |
| X.    | DISCUSION                      | 19 |
| XI.   | CONCLUSIONES                   | 21 |
| XII.  | FACTIBILIDAD Y ASPECTOS ETICOS | 22 |
| XIII. | ANEXOS                         | 23 |
| XIV.  | GRAFICOS Y TABLAS              | 28 |
| XV.   | FIGURAS                        | 37 |
| XVI.  | BIBLIOGRAFIA                   | 42 |

## **ANTECEDENTES.**

La hemostasia representa un delicado equilibrio entre los procesos protrombótico y antitrombótico, mediado por componentes celulares, proteínas solubles en plasma y factores derivados del endotelio (Figura 1). Existen diversas anomalías que comprometen la producción, actividad y/o metabolismo de ciertos factores específicos que alteran este balance fisiológico en favor de la coagulación sanguínea, predisponiendo al paciente al desarrollo de eventos vasculares prematuros de origen arterial o venoso.

La fisiopatología de la trombosis arterial incluye interacciones complejas entre la superficie endotelial, las plaquetas y diversos activadores de la coagulación. En 1856 Rudolf Virchow describió tres alteraciones fundamentales que facilitan el desarrollo de trombosis y que continúan siendo vigentes, la estasis venosa, el daño de la pared vascular y las modificaciones en los componentes del tejido hemático, los que interactúan entre sí y desencadenan la formación del coágulo (Figura 2). De tal manera que la vía intrínseca de la coagulación se inicia con la activación del factor XII al cambiar las características microrreológicas del ambiente que le rodea, como sucede con los cambios en la viscosidad, en el flujo laminar o en la temperatura; mientras que la vía extrínseca se activa al quedar expuesto el factor tisular, el que en presencia de las proteínas V y X de la coagulación sobre una base fosfolipídica y  $Ca^{++}$ , provoca la reacción en cascada. Posteriormente, al ejercer este complejo actividad de protrombinasa, transforma a la protrombina en trombina, cuya función estriba en transformar al fibrinógeno en fibrina, proteína soluble que se estabiliza mediante la intervención del factor XIII, que la transforma en insoluble. El sistema fibrinolítico por otro lado, mantiene en equilibrio la formación del coágulo y es a su vez, regulado mediante la intervención del inhibidor tipo 1 del activador del plasminógeno (PAI-1) y de la  $\alpha_2$  antiplasmina. A medida que se consolida este proceso de cristalización proteica, se libera el activador tisular del plasminógeno (tPA) que lo convierte en plasmina, enzima que provoca la lisis de la fibrina.

La enfermedad arterial coronaria es la causa más importante de morbi-mortalidad en el mundo. Diversos estudios han demostrado que en los Estados Unidos de Norteamérica, más de un millón de personas desarrollan infarto miocárdico (IM) y de estas, mueren aproximadamente 500,000<sup>1</sup>. En México, el Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática reporta a la enfermedad cardiovascular como la primera causa de muerte en el año 2005, en la que el IM con elevación del segmento ST (IMCEST) juega un papel

preponderante. En la fisiopatología de esta enfermedad interactúan tanto factores genéticos como ambientales, los que culminan con la producción de aterosclerosis y trombosis; y dado que la placa ateromatosa, constituida principalmente por lípidos, altera las características reológicas de la circulación local, puede inestabilizarse e incluso fragmentarse, precipitando el infarto<sup>2,3</sup>. Los principales componentes del trombo arterial incluyen la generación de trombina y de fibrina, así como la acumulación de agregados plaquetarios, lo que permite la construcción paulatina de la placa aterosclerosa. Aunque la aterosclerosis y el proceso trombótico son de origen diferente, clínicamente son interdependientes y su asociación con el proceso inflamatorio, puede representar el inicio de la génesis del ateroma.

En la respuesta inflamatoria participan tanto las células endoteliales como las del músculo liso; mientras que los linfocitos T y los macrófagos intervienen tanto en el desarrollo del proceso aterogénico, como en la inducción de inestabilidad en la placa, al desencadenar pequeñas fracturas en la misma. Aunado a la anterior, factores epigenéticos como el tabaquismo, los hábitos dietéticos, el sobrepeso y el sedentarismo, así como la hipertensión arterial sistémica (HAS), la diabetes mellitus (DM) y las dislipidemias (DLP) juegan también un papel determinante en este proceso. Sin embargo y no obstante la fuerte asociación bioestadística que se ha descrito desde los años 70s con el estudio Framingham, la participación de estos factores de riesgo solo se logra establecer en aproximadamente el 50% de los pacientes con trombosis arterial (Figura 3). Por esta circunstancia, se ha investigado la participación de otros eventos fisiopatológicos moleculares que por sus características, pueden precipitar la producción de trombosis arterial e IM. De entre estos factores destacan los polimorfismos de algunos factores de la coagulación, como el fibrinógeno, la protrombina y el factor V de Leiden.

Los primeros reportes que aparecen en la literatura con relación al componente genético, fueron publicados por Jorde y cols., quienes demostraron que el antecedente familiar de IM es un factor de riesgo independiente, cuya participación cobra mayor importancia cuando afecta a individuos jóvenes<sup>7,8</sup>. De la misma manera, esta relación se fortalece cuando se analizan gemelos univitelinos, en los que el riesgo se incrementa hasta 4 veces en comparación con el de los familiares en primer grado de sujetos sanos<sup>4-6,9</sup>. En un estudio realizado en 21,004 parejas de gemelos, el riesgo se incrementó significativamente en 7,310 monocigotos en contraste con los dicigotos; y disminuyó paulatinamente en forma directamente proporcional con la edad en la que los gemelos sufrían el primer evento de IM. Berg y Sorensen por otro lado, obtuvieron resultados similares en otro estudio realizado en

gemelos, en los que la enfermedad predominó en el sexo masculino<sup>10-13</sup>. Como se puede observar, la participación genética es evidente; sin embargo, la investigación se ha enfocado fundamentalmente al estudio de los factores predisponentes de riesgo vascular respaldados por el estudio Framingham, olvidando en cierta forma otros eventos fisiopatológicos que desde un punto de vista molecular, estarían directamente relacionados con la producción de trombosis e infarto, como son los sistemas de la coagulación y el fibrinolítico.

Gracias al desarrollo de nuevas técnicas de investigación molecular, en los últimos años se han descrito discretas alteraciones genéticas que repercuten en la expresión fenotípica de los factores de la coagulación y que favorecen el desarrollo de trombosis arterial. Se trata de cambios muy específicos que por su magnitud, no habían sido descubiertos con los métodos de investigación utilizados en el pasado y para los cuales se ha acuñado el término polimorfismo, que se refiere a las variaciones que puede presentar en su secuencia, una de las cadenas del DNA (alelo) de un gen que codifica para una proteína específica; fenómeno que no afecta a más allá del 1% de la población. De tal manera que un polimorfismo puede abarcar desde la sustitución de un solo nucleótido (SNP -Single Nucleotide Polimorphism-) hasta la inserción, deleción o repetición de un segmento o secuencia (VNTR -Variable Number Tandem Repeats-) o incluso, puede afectar a un exón o a un intrón en la región del promotor<sup>17-18</sup>. En las mutaciones así como en los polimorfismos coexisten dos variedades o alelos del mismo gen, el natural (wild type) y el mutante. Pero suele reservarse el término de mutación, para los cambios que alteran gravemente la función de la proteína o enzima codificada, desencadenando irremediabilmente las manifestaciones de enfermedad (alteración monogénica). Son raras y siguen las leyes de la herencia mendeliana, dominante o recesiva. Los polimorfismos en cambio, provocan variaciones en la secuencia del ADN en un determinado locus y pueden o no tener repercusión funcional<sup>19-20</sup>.

Se han descrito numerosos alelos de riesgo y la lista de genes candidatos continúa ampliándose. En la mayoría de los casos, su asociación con enfermedad arterial coronaria es modesta o está en entredicho, pero resulta evidente el que a mayor número de polimorfismos, mayor es el riesgo<sup>19</sup>. De entre estos destacan por su asociación, los polimorfismos de: el gen del inhibidor-1 del activador del plasminógeno (PAI-1)<sup>14</sup>, el gen del receptor de la glicoproteína plaquetaria IIIa (PIA2)<sup>15</sup> y el gen que codifica para la enzima 5,10 metilentetrahidrofolato reductasa<sup>16</sup>. Todos ellos, factores capaces de provocar alteraciones tanto a nivel de la función de las proteínas relacionadas con los sistemas hemostáticos, como con la actividad de las células endoteliales, confluyendo en la producción de un estado

protrombótico. De tal forma que la variabilidad genética individual, desempeña un papel determinante en el riesgo de enfermedad arterial coronaria sobre todo, si se toma en consideración que los factores de riesgo clásico, no son capaces de justificar más del 30-50% de los casos<sup>19</sup> (Figura 4). Se han descrito actualmente otros polimorfismos como los que afectan a los genes de la antitrombina III y los de las proteínas C y S. Este último grupo de hecho, contribuye con la producción de prácticamente el 50% de las trombofilias descritas actualmente<sup>24</sup>. En esta forma, los análisis realizados en distintas poblaciones revelan que la enfermedad vascular en toda su gama de manifestaciones (cardiovascular, cerebrovascular, vascular periférica) es multifactorial y poligénica, por lo que su producción depende de la interacción de influencias tanto ambientales como genéticas<sup>9, 25</sup>.

La protrombina es una proteína de cadena simple dependiente de Vitamina K, que se convierte en trombina mediante la intervención del complejo protrombinasa<sup>34</sup>. El gen de la protrombina humana (Factor II) se encuentra en la región 11p11.2-q12 de 21 kb con 14 exones y 13 intrones. En 1996 se describió el polimorfismo G20210A del gen de la protrombina, que implica la sustitución de una guanina por una adenina en la posición 20210; provocando el cambio del aminoácido Arginina en posición 622, por una Glicina. Esta pequeña modificación, incrementa en 3 veces el riesgo de trombosis venosa y se estima que del total de pacientes que padecen esta enfermedad, el 5.5% es portador del polimorfismo; asociación que incluye eventos trombóticos en lugares tales como el sistema venoso cerebral y el porta-hepático<sup>28</sup>. El polimorfismo G20210A forma cadenas de ARNm que incrementan en un 30% la producción de una protrombina anormal, provocando el desarrollo de trombofilia<sup>31, 32, 35</sup>. Montes R. y cols., al estudiar 28 individuos pertenecientes a familias con historia de trombosis de repetición, encontraron que este polimorfismo se expresaba en el 18% de los casos, en comparación con un grupo de individuos sanos, en el que la prevalencia fue del 1%; mientras que la actividad de la protrombina fue del 115% en el 85% de los portadores<sup>29</sup>. Rosendaal y cols., en un estudio multicéntrico en 9 países diferentes, encontraron que la prevalencia de portadores en la población general es del 1 al 4% con grandes diferencias en cuanto a su distribución geográfica, siendo más frecuente en los países del sur que en los del norte de Europa. En contraposición, De Stefano y Caprini reportan resultados contradictorios con relación a la asociación de esta mutación con trombosis arterial (Figura 5)<sup>27, 28, 30</sup>. Sin embargo Doggen CJM y cols., demostraron que este polimorfismo se asociaba también a enfermedad cardiovascular en un estudio que realizaron en 560 pacientes menores de 70

años con diagnóstico de IM<sup>42</sup>. De la misma manera Van de Water y cols., observaron esta asociación, pero con los polimorfismos G20210A y el del factor XIII-A L34<sup>44</sup>.

Con base en lo anterior, es posible afirmar que el polimorfismo G20210A representa un verdadero factor de riesgo coronario aún sin la asociación descrita en la literatura, con los denominados factores clásicos de riesgo vascular<sup>45-47</sup>. Sin embargo, es necesario todavía fundamentar la incidencia y prevalencia de esta asociación, así como la relación que guarda respecto al territorio vascular afectado y distribución geográfica<sup>48, 49</sup>.

## **JUSTIFICACIÓN**

Al igual que en el mundo entero, en México la enfermedad arterial coronaria representa una de las causas más importantes de morbi-mortalidad, por lo que constituye un problema de salud pública. En el año 2005 esta entidad nosológica en su variedad de IM con elevación del segmento ST, conformó el 16.4% del total de las muertes registradas; de las que el 9% afectó al grupo poblacional de  $\leq 45$  años. A pesar de lo anterior, en nuestro país sólo se consideran como factores de riesgo para el desarrollo de IM a algunos factores ambientales y ciertas enfermedades como la hipertensión arterial sistémica (HAS), la diabetes mellitus (DM), el tabaquismo, el sedentarismo, la dislipidemia, la obesidad y la hiperfibrinogenemia. Existen sin embargo, otro tipo de alteraciones genéticas denominadas polimorfismos, las que al ser transmitidos genéticamente, contribuyen como factores de riesgo con el desarrollo del IM. Dichos polimorfismos se expresan en la síntesis de algunas proteínas que forman parte del sistema hemostático, como es el caso del gen que codifica a la molécula de Protrombina, la que al transformarse en trombina, activa a toda una serie de cascadas enzimáticas que culminan con la producción del coágulo. El polimorfismo G20210A de este gen, se ha asociado a un incremento en la síntesis y actividad de la Protrombina, lo que condiciona un factor de riesgo para trombosis venosa y arterial.

La información con la que se cuenta actualmente en nuestro país, es la que se ha obtenido de otras áreas geográficas con rasgos poblacionales diferentes y por ende, con factores de riesgo vascular distintos. Es precisamente por este motivo, que cobra una gran importancia el estudio en nuestra población, de los factores de riesgo vascular que a nivel molecular, pueden contribuir con un incremento en la incidencia y prevalencia de enfermedad arterial coronaria, la que de acuerdo con la pirámide de salud en nuestra población, representa uno de los problemas más graves de mortalidad en nuestro país.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

1. ¿Cuál es la prevalencia del polimorfismo en el gene de la protrombina (G20210A), en pacientes jóvenes  $\leq 45$  años con Infarto Miocárdico con elevación del ST?

## **PREGUNTAS ESPECÍFICA**

1. ¿Cuál es la prevalencia del polimorfismo en el gene de la protrombina (G20210A), asociada o no a factores tradicionales de riesgo vascular (hipertensión, diabetes, tabaquismo, obesidad, dislipidemia) en pacientes jóvenes  $\leq 45$  años con Infarto Miocárdico con elevación del ST?

## **HIPOTESIS:**

**Ho:** El Infarto Miocárdico en pacientes jóvenes  $\leq 45$  a. se asocia a factores de riesgo vascular independientes del polimorfismo G20210A del factor II de la protrombina.

**Hi:** El Infarto Miocárdico en pacientes jóvenes  $\leq 45$  a. se asocia a la expresión del polimorfismo G20210A del factor II de la protrombina.

## **OBJETIVOS:**

### **GENERAL:**

Determinar la prevalencia del polimorfismo del factor II de la coagulación, en pacientes jóvenes  $\leq 45$  a. con IM con elevación del ST.

### **ESPECIFICO:**

Determinar si se asocia el polimorfismo del factor II de la coagulación y los factores tradicionales de riesgo vascular en pacientes  $\leq 45$  a. con IM con elevación del ST.

## **SUJETOS, MATERIAL Y METODOS**

### **LUGAR DONDE SE REALIZO EL ESTUDIO.**

Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Unidad de Investigación Médica en Trombosis, Hemostasia y Aterogénesis (UIMTHA), del Hospital General Regional No. 1 Gabriel Mancera. (HGR. No. 1 GM), del Instituto Mexicano del Seguro Social.

### **DISEÑO DE LA INVESTIGACION**

Estudio de casos y controles.

### **UNIVERSO DE TRABAJO**

En la UIMTHA se contó con un banco de ADN y plasmas correspondientes a 127 pacientes con diagnóstico de Infarto Miocárdico en  $\leq$  de 45 años y con 127 muestras de sujetos sin Infarto Miocárdico.

### **GRUPOS DE ESTUDIO:**

- A) CONTROL. Sujetos sin presencia de Infarto Miocárdico (sanos).
- B) DE ESTUDIO. Pacientes con diagnóstico de Infarto Miocárdico.

### **CRITERIOS DE INCLUSION:**

- 1.- Sujetos del género masculino y femenino.
- 2.- Mayores de 18 y menores o igual a 45 años
- 3.- Pacientes con diagnóstico clínico, por laboratorio y electrocardiográfico de infarto miocárdico.

Nota: Ver Grafica 7

## **TAMAÑO DE LA MUESTRA**

En la UIMTHA se contó con un banco de ADN y plasmas correspondientes a 127 pacientes con diagnóstico de Infarto Miocárdico en  $\leq$  de 45 años y con 127 muestras de sujetos sin Infarto Miocárdico.

## **VARIABLES**

DEPENDIENTE

Presencia de polimorfismo

INDEPENDENTES

Presencia de Infarto Miocárdico.

## **DEFINICIONES.**

Polimorfismo.- El término polimorfismo se refiere a la presencia de una variación en la secuencia del DNA en múltiples alelos en un determinado locus en una frecuencia de 1% en una población determinada.

Infarto Miocárdico.- Es la máxima expresión de la insuficiencia coronaria y se traduce patológicamente por la existencia de necrosis de una zona del músculo cardiaco. El diagnóstico fue basado en la interpretación electrocardiográfica, resultados de estudios de laboratorio, y datos clínicos del pacientes (síntomas y signos) de acuerdo a lo establecido por la Sociedad Europea de Cardiología y el Colegio Americano de Cardiología <sup>36,37</sup>.

## **ANALISIS ESTADISTICO**

Los datos se presentan con medidas de tendencia central y dispersión de acuerdo a la distribución de los datos. Se calculó el riesgo relativo, con Intervalos de Confianza (IC) de 95% para las variables dependientes.

Para variables de confusión se realizó análisis multivariado.

Las variables dicotómicas se analizaron con medidas porcentuales y de chi cuadrada.

Para el análisis de variables escalares se uso la *t* de Student.

La significancia estadística entre las medias de los niveles de las variables entre los genotipos fue examinada mediante el análisis de una vía ANOVA.

Se consideró con significancia estadística un valor de  $p < 0.05$ .

Todos los análisis se llevaron a cabo con el SPSS

## **RESULTADOS**

Se estudió un grupo de 127 pacientes de la Unidad Coronaria del Hospital de Cardiología del CMN SXXI, con el diagnóstico de IM CEST y se comparo con un grupo similar sin IM equiparado de acuerdo a edad y sexo como puede observarse en la tabla No. 1. La edad promedio fue de  $40 \pm 4.6$  años en el grupo en estudio y de  $40 \pm 4.1$  en el grupo control ( $p < 0.53$ ), con predominio en el sexo masculino en ambos grupos sin una diferencia significativa, tal y como sucedió con índice de masa corporal que fue muy similar en ambos grupos también.

Los factores tradicionales de riesgo vascular que se detectaron en el grupo en estudio en comparación con el control, revelaron los siguientes datos por orden de frecuencia: tabaquismo en el 65.87% vs 13.3% ( $p < 0.001$ ); diabetes mellitus en el 46.03% vs 7.8% ( $p < 0.001$ ); hipercolesterolemia en el 47.65% vs 8.6% ( $p < 0.001$ ); hipertensión arterial sistémica en el 43.65% vs 9.4% ( $p < 0.001$ ); y finalmente historia familiar de enfermedad arterial coronaria en el 42.06% vs 11.8% ( $p < 0.001$ ).

Con relación al polimorfismo G20210A del gen del factor II, este fue detectado en 4 de los 127 pacientes estudiados (3.15%) y en uno de los casos del grupo control (0.78%); sin embargo, el valor de esta diferencia estadística carece de importancia en este estudio.

## **DISCUSIÓN.**

En la actualidad, la cardiopatía isquémica ocupa el primer lugar en las estadísticas de mortalidad en nuestro país, por lo que es sin lugar a dudas, uno de los problemas clínicos que con mayor frecuencia enfrenta el especialista en este campo, a lo largo de su quehacer cotidiano; probablemente como resultado del fracaso en los métodos de prevención así como de la influencia que ejercen los distintos factores epigenéticos que surgen del progreso de la humanidad y de un estilo de vida moderno y aparentemente práctico, sin olvidar el componente genético que caracteriza a nuestra población. Por otro lado además, nuestro país vive una transición epidemiológica en la que individuos cada vez más jóvenes presentan como manifestación de esta enfermedad, el infarto miocárdico. Es por ello que resulta imperativo escrudñar y analizar de una manera más detallada y profunda, el papel que juegan los denominados factores tradicionales de riesgo vascular y los que actualmente desde un punto de vista molecular, se han relacionado directamente con el desarrollo de enfermedad ateromatosa. Ante estas circunstancias, el estudio de los mecanismos de la coagulación, de la anticoagulación, de la fibrinolisis, de las moléculas de adhesión, del sistema inmunológico y de otros eventos moleculares, cobra cada vez mayor importancia ante la influencia directa que ejercen sobre la fisiopatología de la aterosclerosis. Las trombofilias por ejemplo, que involucran a los inhibidores de la coagulación como la antitrombina III y las proteína C y S, representan un factor de incremento de riesgo para el desarrollo de eventos trombóticos.

Recientemente se han descrito 2 tipos de polimorfismos relacionados con la resistencia a la acción de la proteína C activada, el G1691A del factor V de Leiden y el G20210A del gen 11p11.2-q12 que provoca el cambio de una arginina en la posición 622 por una glicina. Sin embargo, son numerosos los polimorfismos que se han descrito con relación a los genes que codifican para las proteínas de la coagulación y que están ligados con el desarrollo de enfermedad arterial coronaria, como el gene del inhibidor-1 del activador del plasminógeno (PAI-1), el gene del receptor de la glicoproteína plaquetaria IIIa (PIA2) y el gene que codifica para la enzima 5,10 metilentetrahidrofolato reductasa. Todos ellos, factores capaces de provocar alteraciones tanto a nivel de la función de las proteínas relacionadas con los sistemas hemostáticos, como con la actividad de las células endoteliales, confluyendo en la producción de un estado protrombótico. De tal forma que la variabilidad genética individual, desempeña un papel determinante en el riesgo de enfermedad arterial coronaria sobre todo,

si se toma en consideración que los factores de riesgo clásico, no son capaces de justificar más del 30-50% de los casos.

En este estudio de naturaleza epidemiológico-molecular, se abordó el análisis de la cardiopatía isquémica en pacientes  $\leq 45$  años con IM, con el objeto de demostrar por un lado, la existencia del polimorfismo G20210A en el gen de la protrombina, por considerarlo como un factor de riesgo vascular capaz de provocar enfermedad arterial coronaria y por el otro, de establecer la posible relación entre este polimorfismo y los factores tradicionales. Con los resultados obtenidos, tomando en consideración los reportes de la literatura internacional, encontramos que la frecuencia de este riesgo específicamente en el grupo poblacional que sometimos a estudio es relativamente baja, pero equiparable a lo ya reportado. Si bien, esta investigación no está diseñada para demostrar la influencia que el polimorfismo G20210A ejerce sobre la expresión fenotípica de una de las proteínas de la coagulación, si tomamos en consideración la fisiología endotelial, resulta evidente la repercusión que este polimorfismo puede provocar en un individuo en el que se asocian otros factores de riesgo como son el tabaquismo, la diabetes mellitus y la hipertensión arterial sistémica, tal y como ha sido reportado en la literatura internacional.

Es imperativo continuar buscando los factores de riesgo molecular que en forma directa, pueden dañar el endotelio, pero también es necesario determinar la influencia que molecularmente ejercen los factores epigenéticos que han sido descritos como factores tradicionales de riesgo vascular. Con los resultados obtenidos se fundamenta la necesidad de aplicar medidas terapéuticas de prevención en el grupo poblacional en el que se ha detectado este polimorfismo, las que van desde el tratamiento de aquellas enfermedades cuya influencia epidemiológica ya ha sido demostrada, hasta el control de la coagulación sanguínea.

## **CONCLUSIONES.**

1. La cardiopatía isquémica ocupa el primer lugar en las estadísticas de mortalidad en nuestro país, por lo que es sin lugar a dudas, uno de los problemas clínicos que con mayor frecuencia enfrenta el especialista en este campo.
2. Los resultados de esta investigación son equiparables a los reportados en la literatura internacional con relación a la prevalencia del polimorfismo G20210A; cuya influencia se ha asociado directamente con el desarrollo de enfermedad arterial coronaria.
3. Es evidente la repercusión que este polimorfismo puede provocar en un individuo en el que se asocian otros factores de riesgo como el tabaquismo, la diabetes mellitus y la hipertensión arterial sistémica, tal y como ha sido reportado en la literatura internacional.
4. Es necesario continuar buscando los factores de riesgo molecular que en forma directa, pueden dañar el endotelio, pero también es necesario determinar la influencia que molecularmente ejercen los factores epigenéticos que han sido descritos como factores tradicionales de riesgo vascular.
5. Con base en el punto anterior, se podrá en un futuro próximo, ofrecer una alternativa de tratamiento a nuestra población en riesgo.

## **FACTIBILIDAD Y ASPECTOS ETICOS**

En la Unidad de Investigación del Hospital Gabriel Mancera contamos con 127 muestras de pacientes menores de 45 años con Infarto Miocárdico y 127 muestras de sujetos sin IM, además cuenta con banco de sangre en el cual se llevara a llevara acabo la colección de muestras para el grupo control (sujetos sanos). También se cuenta con la infraestructura para la realización de pruebas de biología molecular.

Con relación a los aspectos éticos, a todos los pacientes se les dará hoja de consentimiento informado de acuerdo a la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, sobre los Principios Éticos para la Investigación Médica que involucra sujetos humanos, adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki Finlandia 1964, modificada en Tokio, Japón 1975. Quien establece los siguientes lineamientos:

1. El objetivo principal de la investigación médica en humanos consiste en mejorar los procedimientos de diagnóstico, terapéuticos y profilácticos, así como también, la comprensión de la etiología y patogénesis de la enfermedad. Aún los métodos profilácticos, de diagnóstico y terapéuticos más probados deben ponerse a prueba de modo continuo a través de la investigación para su efectividad, eficacia, accesibilidad y calidad.
2. Constituye el deber del médico en una investigación médica el proteger la vida, la salud, la privacidad y la dignidad del ser humano.
3. En cualquier investigación sobre seres humanos, cada paciente potencial debe estar debidamente informado respecto a los objetivos, métodos, fuente de los fondos, cualquier conflicto de interés, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios anticipados y peligros potenciales del estudio, así como también, de la incomodidad que el mismo pueda implicar. Se le debe de informar que tiene plena libertad de rehusarse a participar en el estudio y que dicha libertad también alcanza la facultad de retirarse su consentimiento para participar en el estudio en cualquier momento sin ningún tipo de represalia. Luego de asegurarse que el paciente ha entendido la información, el médico deberá obtener el consentimiento informado otorgado voluntariamente por el paciente, de preferencia por escrito. Si el consentimiento no se puede obtener por escrito, el consentimiento no escrito debe documentarse de modo formal y se debe dar testimonio del mismo.
4. El médico deberá de informar al paciente acerca de los aspectos de la atención profesional que se relaciona con la investigación. La negativa del paciente a participar en un estudio nunca ha de interferir con la relación médico-paciente.

## **ANEXO 1**

**Extracción de la muestra sanguínea:** Se extraerá de la vena antecubital 10 ml de sangre total (teniendo cuidado de que el torniquete no sea aplicado con mucha tensión), la cual será colectada en un tubo conteniendo EDTA (Ácido Etilenodiaminatetracético), el cual será centrifugado a 2500 g por 10 minutos. Posteriormente la capa superior (plasma) será retirada cuidadosamente tratando de no perturbar la siguiente capa en donde se encuentra localizado el contenido de células mononucleares (buffy coat), la cual será transferida con una pipeta de transferencia de plástico estéril a un tubo de plástico eppendorf estéril de 1.5 ml libre de enzimas (RNasas y DNasas). Finalmente el concentrado eritrocitario, el cual se encuentra en la capa inferior se desechará en un contenedor destinado para material (residuos peligrosos).

**Extracción de ADN:** Se utilizará el equipo comercialmente disponible de la marca Qiagen (QIAamp DNAMini Kit) de acuerdo a las instrucciones establecidas por la compañía. Una vez extraído el ADN se procederá a su conservación en un refrigerador a -70 ° C, hasta que sea utilizado para la amplificación de los segmentos correspondientes.

**Determinación del genotipo de la Protrombina:** Posterior a la extracción de ADN, se procederá a llevar a cabo la amplificación mediante el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) bajo las siguientes condiciones para la búsqueda del polimorfismo G20210A en el gen de la protrombina: Para la reacción de PCR se utilizarán los oligonucleótidos específicos (sentido) 5' TCTAGAAACAGTTGCCTGGC-3' y el oligonucleótido (contrasentido) 5' ATAGCACTGGGAGCATTGAAGC-3'. La reacción se llevará a cabo mediante la reacción de PCR conteniendo lo siguiente: en un volumen final de 50 µl conteniendo 2 ng/µl de ADN, 0.8 U de la enzima Pfu polimerasa, una concentración final de 1 X del buffer de la reacción de PCR, 1.6 mmol/L de MgCl<sup>2</sup>, 100 µmol/L de mezcla de alelos específicos de dNTP, 800 nmol/L de cada uno de los oligonucleótidos específicos. La reacción de PCR se realizará bajo las siguientes condiciones térmicas; 35 ciclos consistentes en 94°C (1 min.), 55°C (1 min.) y 72°C (3 min.) Una vez obtenido el producto amplificado de la reacción de PCR, y mediante el uso de la enzima de restricción *Hind III* por técnica de RFLP, se procederá a la identificación de las bandas.

**Identificación de la distribución alélica y fragmentos polimórficos.**

El análisis de los fragmentos polimórficos se realizará mediante el corrimiento electroforético de un gel de agarosa al 2% y será posteriormente teñido con bromuro de etidio a una

concentración de 1  $\mu\text{g/mL}$  y se visualizara usando un transiluminador de luz ultravioleta cuya imagen será grabada en un film y cada paciente será clasificado según la distribución alélica. En los sujetos sin la presencia del polimorfismo se apreciara una banda de 345 pb (pares de bases). **En los heterocigotos se apreciara bandas de 345 y 322 pb**, mientras que en los homocigotos para el polimorfismo solo se apreciara una banda de 322 pb.

**ANEXO 2**

UNIDAD DE INVESTIGACION MEDICA EN TROMBOSIS, HEMOSTASIA Y  
ATEROGENIS (UIMTHA)

HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Por medio de la presente yo \_\_\_\_\_ doy mi autorización al Dr. Edgar Cuevas García y colaboradores para participar en el estudio de investigación titulado "PREVALENCIA DEL POLIMORFISMO (G20210A) DE LA PROTROMBINA EN PACIENTES CON INFARTO MIOCARDICO", mismo que consiste en la toma de muestra sanguínea (10ml) para la determinación de la presencia de dichos polimorfismos mediante técnicas de biología molecular, y forma parte del estudio integral de mi padecimiento; mi participación es voluntaria. En caso de negarme, dicha decisión no repercutirá en lo absoluto en mi tratamiento.

Se me ha explicado ampliamente el procedimiento y debido a que no implica ningún riesgo y conozco de manera precisa la gravedad de mi enfermedad, firmo de conformidad.

Firma del paciente \_\_\_\_\_

Domicilio \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_

Testigos \_\_\_\_\_

### ANEXO 3

#### HOSPITAL DE CARDIOLOGIA CMN SIGLO XXI

#### HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

PROTOCOLO "FRECUENCIA DE LA MUTACIÓN G20210A EN EL GENE DE LA PROTROMBINA EN PACIENTES JOVENES < 45 AÑOS CON INFARTO MIOCARDICO CON ELEVACIÓN DEL SEGMENTO ST".

Nombre: \_\_\_\_\_

No. Afiliación: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_ Género: \_\_\_\_\_ TEL: \_\_\_\_\_

Peso: \_\_\_\_\_ Talla: \_\_\_\_\_ Sedentarismo: \_\_\_\_\_

DM \_\_\_\_\_ HAS: \_\_\_\_\_ Tabaquismo: \_\_\_\_\_

CK \_\_\_\_\_ CKMB \_\_\_\_\_ DHL \_\_\_\_\_

Troponina \_\_\_\_\_ HDL \_\_\_\_\_ VLDL \_\_\_\_\_

Microalbuminuria \_\_\_\_\_ LDL \_\_\_\_\_

Glucosa: \_\_\_\_\_ Colesterol: \_\_\_\_\_

Triglicéridos: \_\_\_\_\_ Fibrinógeno: \_\_\_\_\_

Hemoglobina: \_\_\_\_\_ Hematocrito: \_\_\_\_\_

Leucocitos \_\_\_\_\_ Plaquetas \_\_\_\_\_

Presión diastólica \_\_\_\_\_ Presión sistólica \_\_\_\_\_

Medicamentos antihipertensivos: \_\_\_\_\_

Medicamentos hipoglucemiantes: \_\_\_\_\_

Otro tipo de medicamentos \_\_\_\_\_

Colocación de stent: \_\_\_\_\_

Realización de angioplastia: \_\_\_\_\_

Polimorfismo en el gen de la Protrombina: \_\_\_\_\_

OBSERVACIONES: \_\_\_\_\_

---

DM: Diabetes Mellitus

HAS: Hipertensión Arterial Sistémica

DHL: Deshidrogenasa Láctica

PAI-1: Inhibidor del activador del plasminógeno

HDL: Lipoproteínas de alta densidad

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad

LDL: Lipoproteínas de baja densidad

CK: Creatininfosfoquinasa

## **TABLAS Y GRAFICOS**

**Tabla 1. Datos clínicos y demográficos y la prevalencia de factores de riesgo para IM en ambos grupos.**

| Características                      | Controles<br>(n=127) | Pacientes con IM<br>(n=127) | Valor de <i>p</i>   |
|--------------------------------------|----------------------|-----------------------------|---------------------|
| Edad <sup>§</sup> (años, media DE ±) | 40.0 ± 4.1           | 40.0 ± 4.6                  | 0.53 <sup>∞</sup>   |
| Género (masculino) <sup>§</sup>      | 82.6                 | 83.3                        | 0.88 *              |
| IMC (kg/m <sup>2</sup> )             | 27.10 ± 3.9          | 28.14 ± 3.4                 | < 0.50 <sup>∞</sup> |
| Tabaquismo (%)                       | 13.3                 | 65.87                       | <0.001*             |
| Hipertensión (%)                     | 9.4                  | 43.65                       | <0.001*             |
| Diabetes Mellitus (%)                | 7.8                  | 46.03                       | <0.001*             |
| Hipercolesterolemia (%)              | 8.6                  | 47.62                       | <0.001*             |
| Historia Familiar de EAC (%)         | 11.8                 | 42.06                       | <0.001*             |
| Tipo de IM (%)                       |                      |                             |                     |
| Pared Anterior                       | --                   | 92%                         |                     |
| Pared Inferior                       | --                   | 8%                          |                     |
| Historia de Angor Pectoris           |                      | NP                          |                     |

**IM Indica Infarto Miocárdico**

**n Denota el número de pacientes**

**§ Estas variables fueron usadas como criterios para parear los grupos.**

**∞ Prueba de la *t* de Student**

**EAC Denota Enfermedad Arterial Coronaria**

**AP Denota angina pectoris**

**Tabla 2. Distribución Genotípica y frecuencia alélica del polimorfismo en el gene G20210A de la Protrombina entre los grupos control y pacientes con IM.**

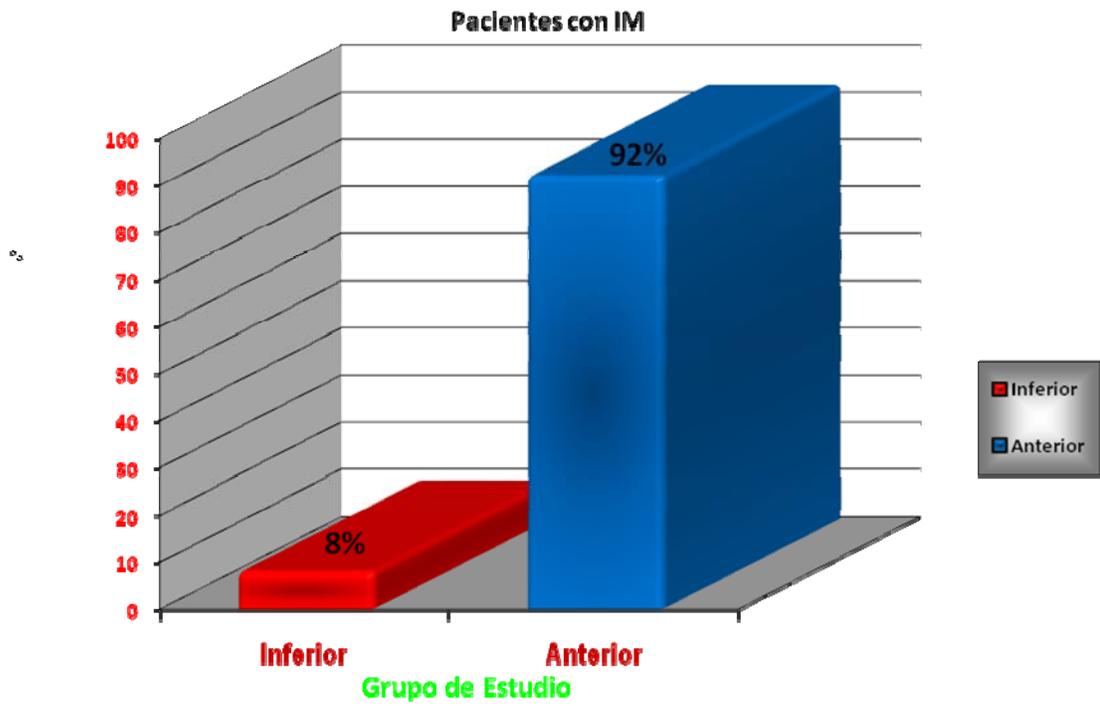
|                           | Controles n=127 (%) | Pacientes con IM n=127 (%) | Valor de P   |
|---------------------------|---------------------|----------------------------|--------------|
| <b>Genotipo</b>           |                     |                            | <b>0.366</b> |
| G/G                       | 126 (99.2%)         | 123 (96.85%)               |              |
| G/A                       | 1 (0.78%)           | 4 (3.15%)                  |              |
| A/A                       | 0 (0%)              | 0 (0%)                     |              |
| <b>Frecuencia Alélica</b> |                     |                            | <b>0.177</b> |
| G                         | 253 (99.6%)         | 250 (98.42%)               |              |
| A                         | 1 (0.4%)            | 4 (1.57%)                  |              |

**Prueba de análisis de la Chi cuadrada**

**IM Denota Infarto Miocárdico**

**n Denota el número de pacientes**

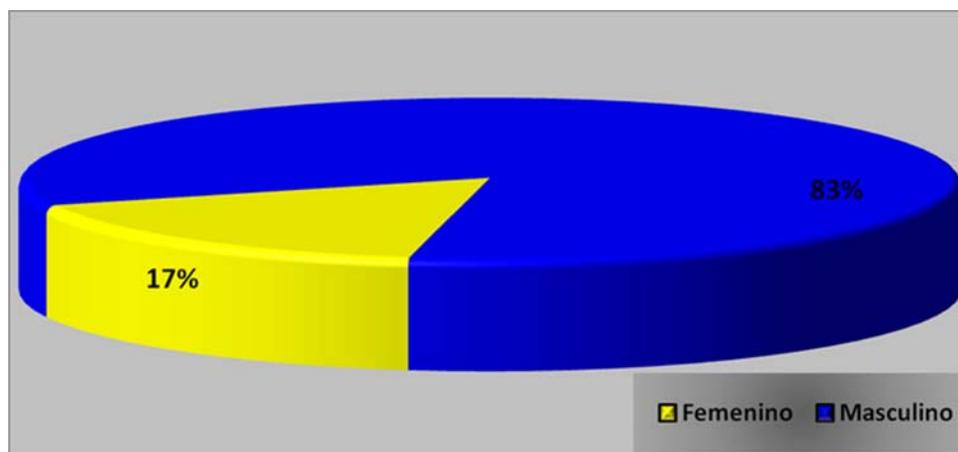
**Distribución de la Región del Infarto en el grupo de estudio.**



**Grafica No. 1**

Datos clínicos, demográficos y prevalencia de factores de riesgo para Infarto Miocárdico en ambos grupos.

### Género en el grupo de IM



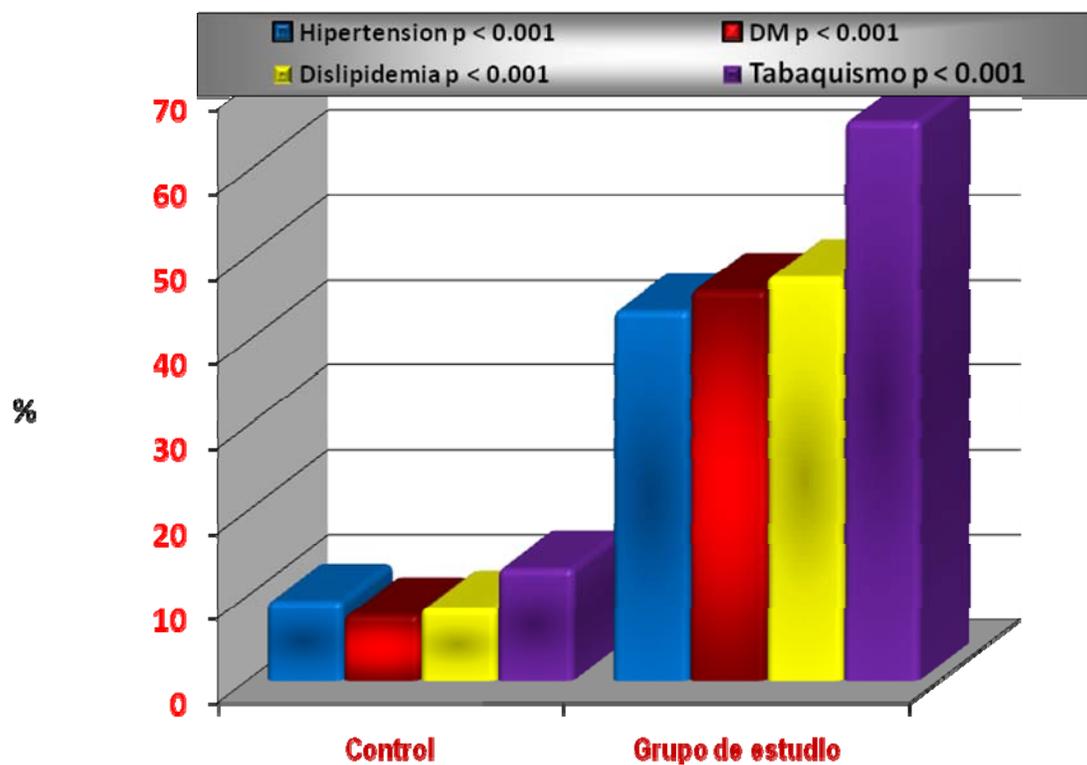
*Grafica No. 2*

Datos clínicos, demográficos y prevalencia de factores de riesgo para Infarto Miocárdico en ambos grupos.



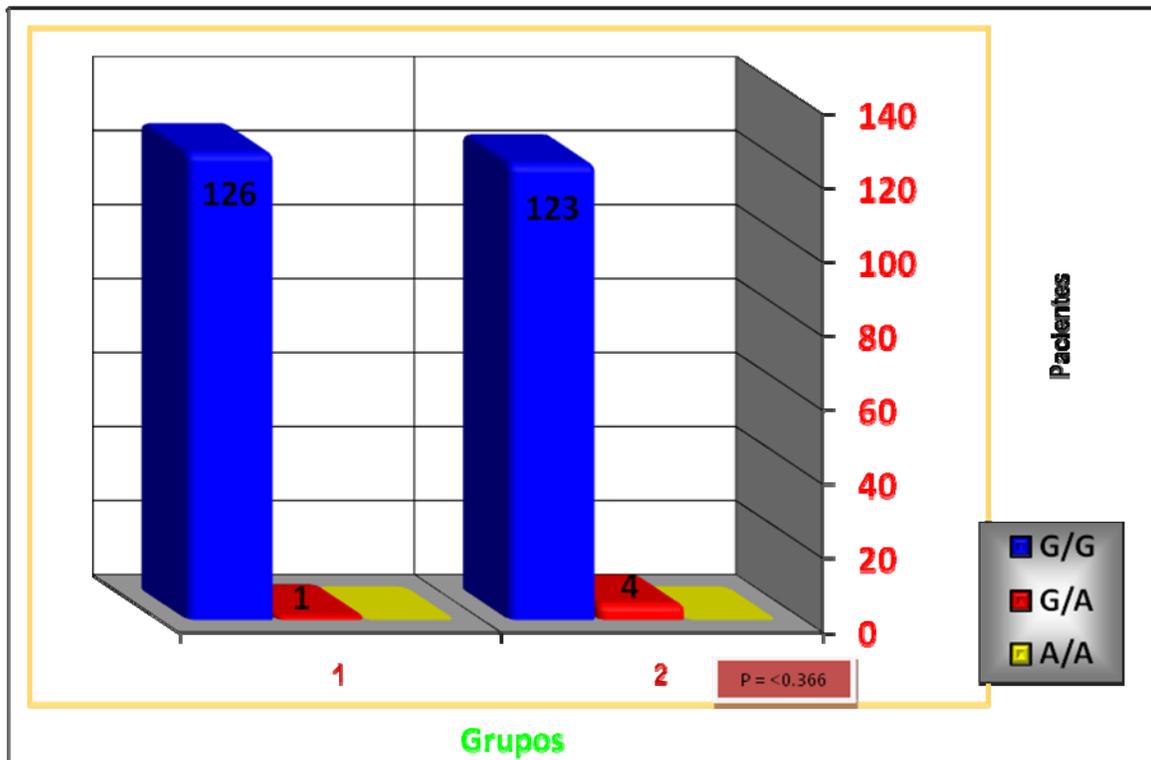
Grafica No. 3

**Datos clínicos, demográficos y prevalencia de factores de riesgo para Infarto Miocárdico en ambos grupos.**



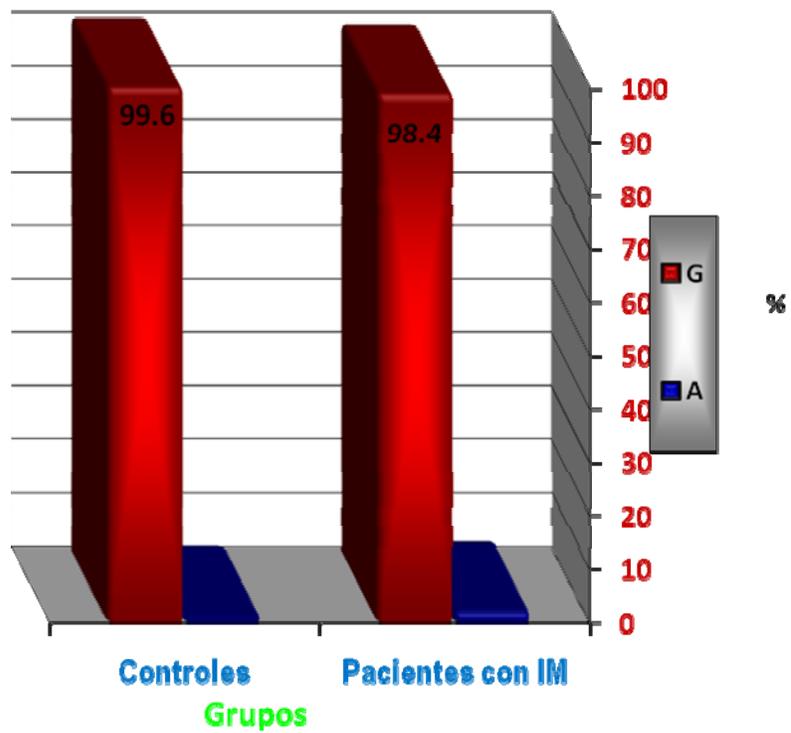
**Grafica No. 4**

Distribución Genotípica del polimorfismo en el gene G20210A de la Protrombina entre los grupos control y pacientes con Infarto Miocárdico.

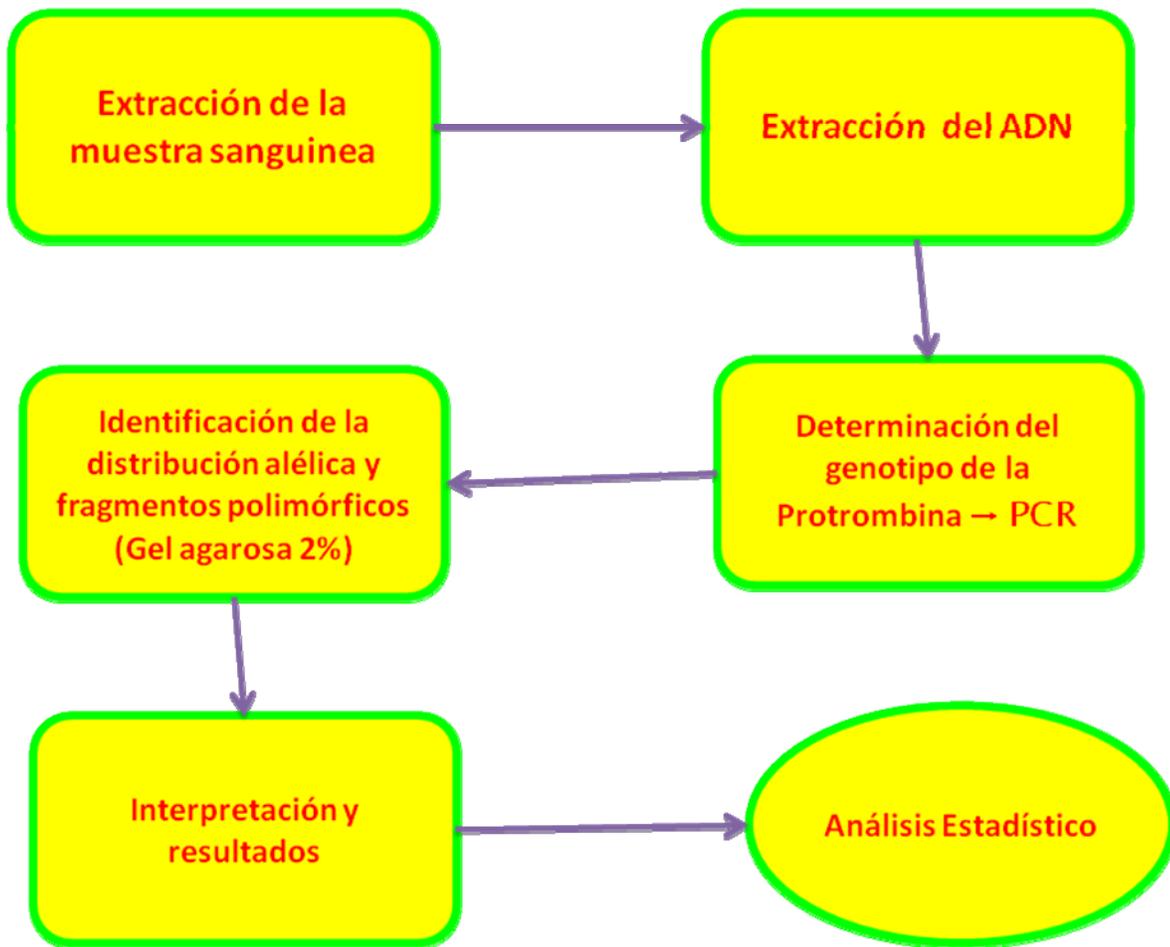


Grafica No. 5

Frecuencia alélica del polimorfismo en el gene G20210A de la Protrombina entre los grupos control y pacientes con Infarto Miocárdico.

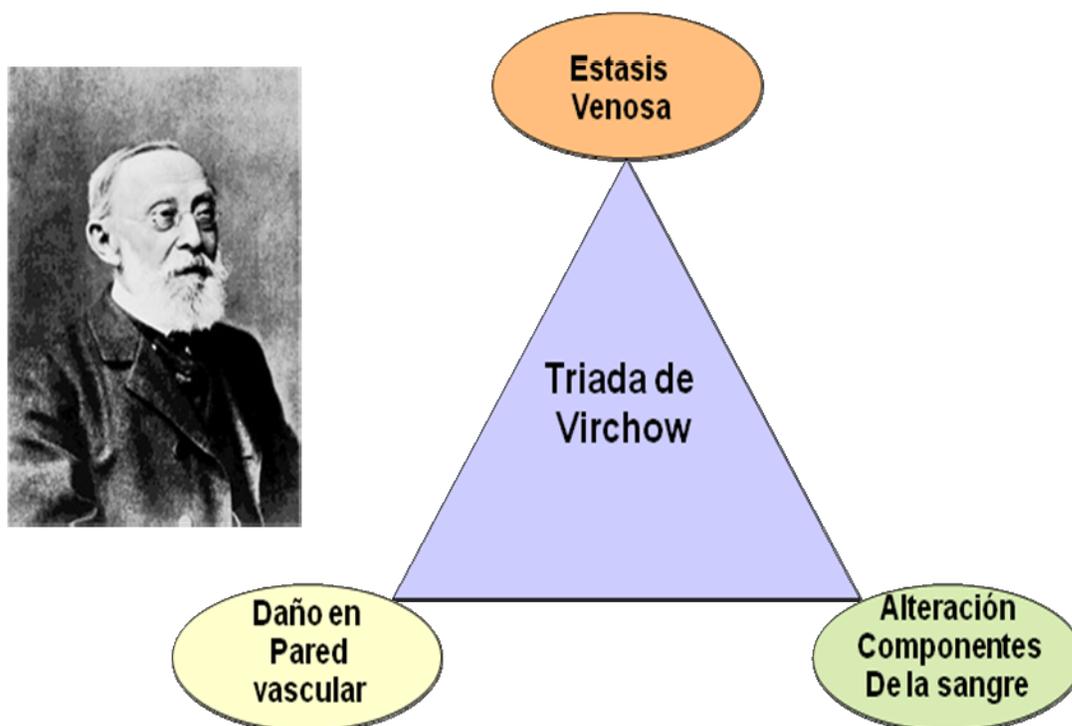


Grafica No. 6

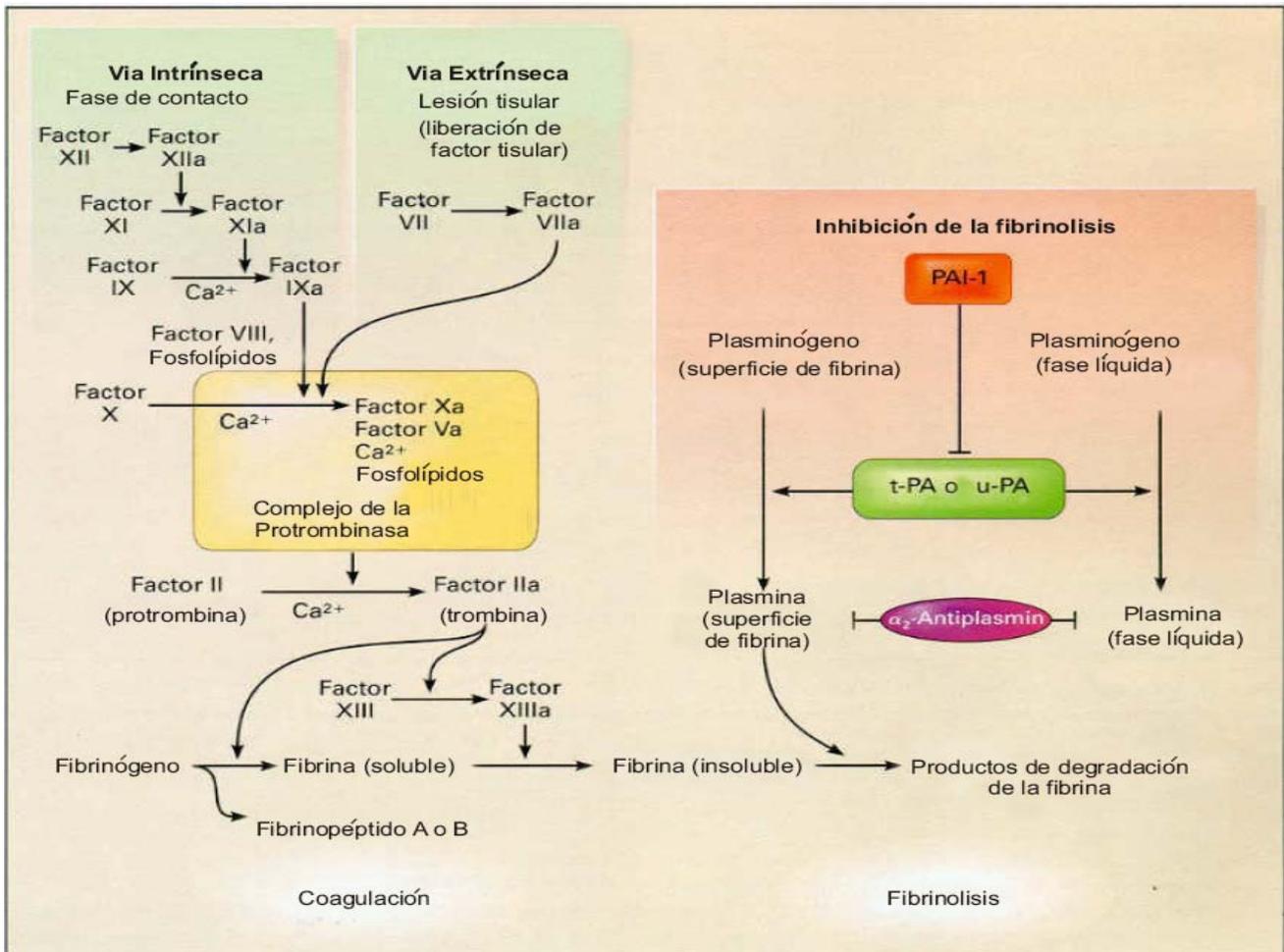


**Grafica No. 7**

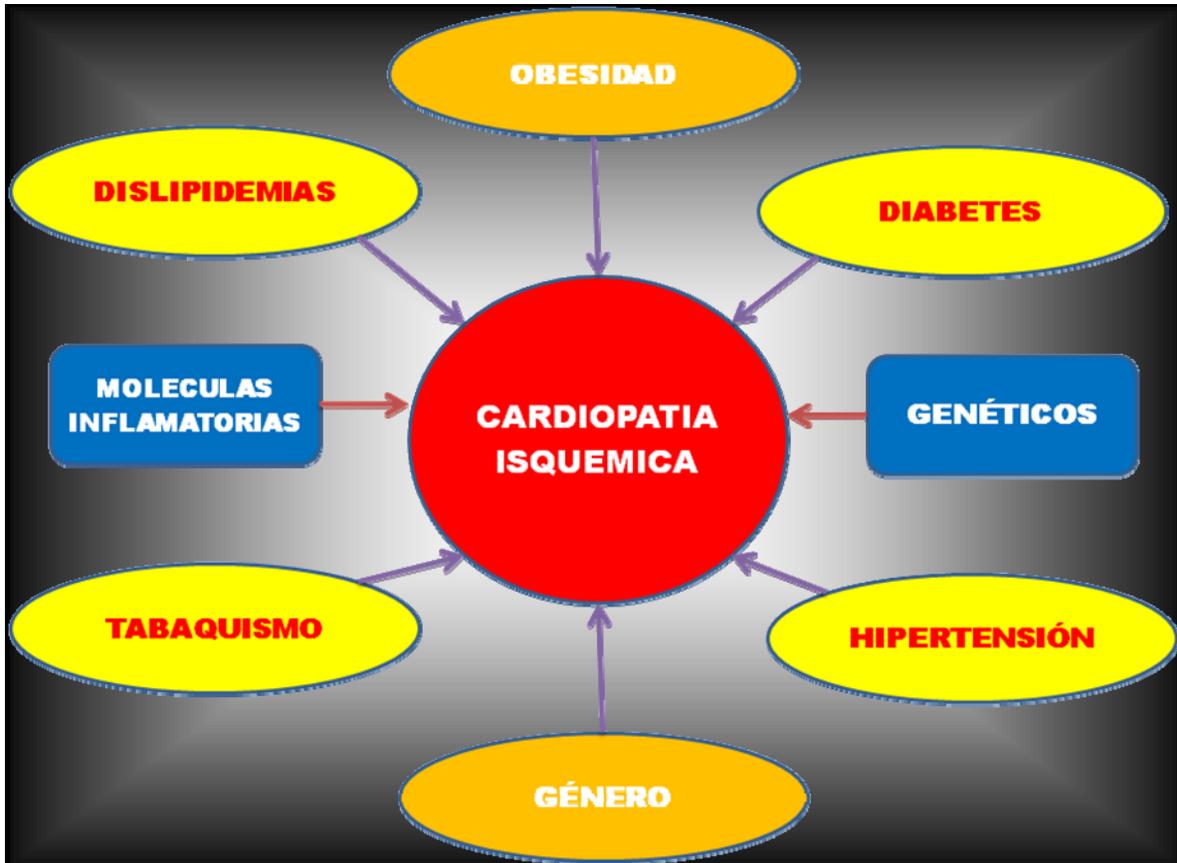
## FIGURAS



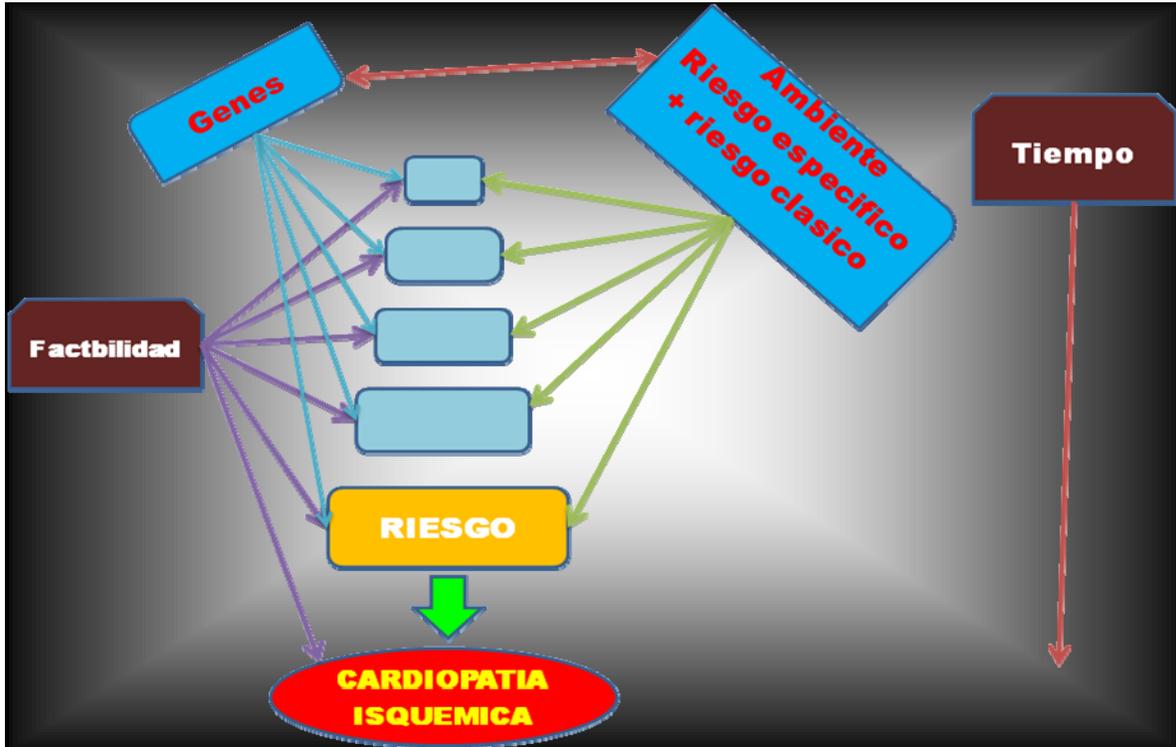
**Figura 1.** En 1856 Rudolf Virchow describió tres alteraciones fundamentales que facilitan el desarrollo de trombosis y que continúan siendo vigentes.



**Figura 2.** Son dos los grandes sistemas hemostáticos los que mantienen en equilibrio la economía, el de la coagulación que evita la pérdida del contenido de tejido hemático ante una lesión vascular y el fibrinolítico, cuya activación contrarresta el consumo indiscriminado y masivo de las proteínas que forman parte del sistema de la coagulación. La activación del proceso puede seguir dos vías, una intrínseca que depende del factor Hageman y otra extrínseca ligada a la liberación de un componente tisular. Una vez que este sistema se ha activado, el equilibrio se logra hasta el momento en que la fibrinólisis se inicia con la transformación del plasminógeno en plasmina.



**Figura 3.** Relación entre factores de riesgo cardiovascular clásicos y la cardiopatía isquémica.



**Figura 4.** Variabilidad genética y riesgo de cardiopatía isquémica.

| Población             | N   | FII G20210A |     |
|-----------------------|-----|-------------|-----|
|                       |     | G           | A   |
| Afroamericanos        | 185 | 99.78       | 0.3 |
| Asiáticos             | 89  | 99.4        | 0.6 |
| Caucásicos            | 192 | 98.7        | 1.3 |
| Hispanos              | 82  | 97.6        | 2.4 |
| Coreanos              | 94  | 100         | 0   |
| Americanos<br>nativos | 87  | 100         | 0   |

**Figura 5.** Distribución por raza del Polimorfismo G20210A.

## **BIBLIOGRAFIA.**

1. American Heart Association. 2002 Heart and Stroke statistical update. Dallas. American Heart Association.
2. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Eng J Med.* 1999; 340: 115-126.
3. Kullo IJ, Gau GT, Tajik A. Novel risk factor for atherosclerosis. *Mayo Clin Proc* 2000; 75: 369-380.
4. Thordarson O, Fridriksson S. Aggregation of deaths from ischemic heart disease among first-and second-degree relatives of 108 males and 42 females with myocardial infarction. *Acta Med Scand* 1977; 205: 493-500.
5. Rose G. Familial patterns in ischemic hearts disease. *Br J Prev Soc Med.* 1964; 19: 75-80.
6. Slack J, Evans KA. The increased risk of death from ischemic heart disease in first-degree relatives of 121 men and 96 women with ischemic heart disease. *J Med Genet* 1966; 3: 329-357.
7. Jorde LB, Williams RR. Relation between family history of coronary artery disease and coronary risk variables, *Am J Cardiol* 1988; 62: 708-713.
8. Rissanen AM. Familial occurrence of coronary heart disease: Effect of age at diagnosis. *Am J Cardiol* 1979; 44: 60-66.
9. Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, Floderus B, de faire U. Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. *N Engl J Med* 1999; 340: 1555-1564.
10. Berg K. The genetics of the hyperlipidemias and coronary artery disease. *Prog Clin Biol Res* 1982; 103: 111-125.
11. Sorensen TI, Nielsen G, Andersen OK, Teasdale TW. Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptee. *N BNG J Med.* 1988; 318: 727-732.
12. Harvald B. Hauge. Coronary occlusion in twins. *Acta Genet Med Gemellol* 1970; 19: 248-250.
13. Pastinen T, Perola M, Niini P, Terwilliger J, Salomaa V, Vartiainen E, PeltonenL, Syvanen A. Array-based multiplex analysis of candidate gen reveals two independent and additive genetic risk factors for myocardial infarction in the Finnish population. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 1453- 1462.

14. Ericsson P, Tallin B, van' Hooft FM, Bavenholm P, Hamsten A. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995; 92: 1851-1855,
15. Scaglione L, Bergeroe S, Gaschino G, Imazio M, Maccagnani A, Gambino R, Cassader M, Di Leo M, Macchia G, Brusca A, Pagano G, Cavello-Perin P. Lack of relationship between the PI<sup>A1/A2</sup> polymorphisms of platelet glycoprotein IIa and premature myocardial infarction. *Eur J Clin Inv* 1998; 28: 385-8.
16. Frosst P, Blom HJ, Milos R. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995; 10:111-3.
17. Slack J, Evans KA. The increased risk of death from ischaemic heart disease in first degree relatives of 121 men and 96 women in ischaemic heart disease. *J Med Genet* 1966; 2:239-57.
18. Rojas A, Ortiz R, Delgado I. Genética y medicina molecular en cardiología. *Rev Esp Cardiol* 2001;54:91-108.
19. Lusis AJ, Weinreb A, Drake TA. Genetics of atherosclerosis. En: Topol EJ, editor. *Textbook of cardiovascular medicine*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998; p. 2389-496.
20. Cambien F, Tiret L. Genotype and risk of coronary heart disease. *Cardiovasc Risk Factors* 1997; 7:118-28.
21. Betteridge J. Lipids and vascular disease. *Current Issues*. London: Martin Dunitz, 2000; p. 1-39.
22. Behague I, Poirier O, Nicaud V, Evans A, Arveiler D, Luc G, et al. Beta fibrinogen gen polymorphism are associated with plasma fibrinogen and coronary artery disease in patients with myocardial infarction. The ECTIM Study. *Circulation* 1996; 93:440-9.
23. Zito F, Di Castelnuovo A, Amore C, D'Orazio A, Donati MB, Iacoviello L. Bcl I polymorphism in the fibrinogen b-chain gene is associated with the risk of familial myocardial infarction by increasing plasma fibrinogen levels. A case-control study in a sample of GISSI-2 patients. *Atheroscl Thromb Vasc Biol* 1997; 17:3489-94.
24. Beckman, *Diseases of the veins*. *Circulation* 2002; 106: 2170-2172
25. Lander ES, Shork NJ. Genetic dissection of complex traits. *Science* 1994; 265:2037-2048.
26. Zhonghua Tang, Russell P. Tracy, Candidate Gen and Confirmed Genetic Polymorphisms Associated with Cardiovascular Diseases: A Tabular Assessment, *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, Volume 11, Issue 1, February 2001, Pages 49 – 81

27. De Stefano V. The risk of recurrent deep venous thrombosis among heterozygous carriers of both factor V Leiden and the G201210A prothrombin mutation. *N Engl J Med.* 1999; 341: 801-806.
28. Caprini JA, Glase CJ, Anderson CB, y colaboradores. Marcadores de laboratorio en el diagnóstico de tromboembolismo venoso. *Circulación.* 2004; 109(12 Suppl 1):I4–I8.
29. Montes R, Zabalegui N, Ayape M, Orue MT, Paloma MJ, Páramo JA et al. Incidence of factor V Leiden and the Prothrombin variant 20210 G to A in the Navarrese patients with venous thrombosis. *Fibrinolysis Proteolysis* 1998; 12 (Suppl 1): 89.
30. Rosendaal FR, Doggen CMJ, Zivelin A, Arruda VR, Aiach M, Siscovich DS et al. Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. *Thromb Haemost* 1998; 79: 706-708
31. Swibertus R, Poort, S. R, Rosendaal, F. R.; Reitsma, P. H.; Bertina, R. M: A common genetic variation in the 3-prime-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 88: 3698-3703, 1996.
32. Gehring, N. H.; Frede, U.; Neu-Yilik, G.; Hundsdoerfer, P.; Vetter, B.; Hentze, M. W.; Kulozik, A. E. : Increased efficiency of mRNA 3-prime end formation: a new genetic mechanism contributing to hereditary thrombophilia. *Nature Genet.* 28: 389-392, 2001
33. Federman DG, Kirsner RS. An Update on Hypercoagulable Disorders. *Arch Intern Med* 2001; 161:1051-1056.
34. Osorio G. Hematología: Diagnóstico y Terapéutica. Segunda Edición. Editorial Mediterráneo.
35. Degen SJF, Davie EW. Nucleotide sequence of the gene for human prothrombin. *Biochemistry* 1987; 26: 6165-77.
36. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. Myocardial Infarction Redefined-A Consensus Document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 959–69.
37. Ferguson JL, Beckett GJ, Stoddart M, Walker SW, Fox KA. Myocardial infarction redefined: the new ACC/ESC definition, based on cardiac troponin, increases the apparent incidence of infarction. *Heart* 2002; 88:343–7.

38. Kapur RK, Mills LA, Spitzer SG, Hultin Mae B. A Prothrombin gene mutation is significantly associated with venous thrombosis. *Arterioscler, Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 2875-2879.
39. Ferraresi P, Marchetti G, Legnani C, Cavallari E, Castoldi E, Palareti FG, Bernardi F. The heterozygous 20210 G/A prothrombin genotype is associated with early venous thrombosis in inherited thrombophilias and is not increased in frequency in artery disease.
40. Linfert DR, Tsongaglis GJ. Coexistence of the Methylentetrahydrofolate reductase single-nucleotide polymorphism (C677T) in patients with the factor V Leiden or prothrombin G20210A polymorphism. *Diagn Mol Pathol.* 2001; 10: 111-115.
41. Almawi WY, Tamim H, Kreidy R, Timson G, Rahal E, Nabulsi M, Finan RR, Irani-Hakime N. A case control study on the contribution of factor V-Leiden, Prothrombin G20210A, and MTHFR C677T mutation to the genetic susceptibility of deep venous thrombosis. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis.* 2005, 19: 189-196.
42. Doggen CJM, Cats VM, Bertina RM, Rosendaal FR. Interaction of coagulation defects and cardiovascular risk factor. Increased risk of myocardial infarction associated with Factor V Leiden or Prothrombin 20210A. *Circulation.* 1998, 97: 1037-1041.
43. Van de Water NS, French JK, Lund M, Hyde TA, White HD, Browett PJ. Prevalence of factor V Leiden and prothrombin variant G20210A in patients age < 50 years with no significant stenoses at angiography three to four weeks after myocardial infarction. *Cardiol* 2000; 36: 717-22.
44. Butt C, Zheng H, Randell E, Robb D, Parfrey P, Xie YG. Combined carrier status of prothrombin 20210A and factor XIII-A leu34 alleles a strong risk factor for myocardial infarction. Evidence of a gene-gene interaction. *Blood.* 2003; 101: 3037-3041.
45. Burzotta F, Paciaroni K, De Stefano V, Chiusolo P, Manzoli A, Casorelli A, Leone M, Rossi E, Leone G, Maseri A, Andreotti F. Increased prevalence of the G20210A prothrombin gene variant in acute coronary syndromes without metabolic or acquired risk factor or with limited extent of disease. *Eur Heart J.* 2002, 23: 26-30.
46. Burzotta F, Leone AM, Paciaroni K, de Stefano V, Rossi E, Testa L, Giannico F, Leone G, Maseri A, Crea F, Andreotti F. G20210A prothrombin gene variant and clinical outcome in patients with a first acute coronary syndrome. *Haematologica.* 2004; 89: 1134-1138.

47. Botto N, Mariani M, Manfredi S, Andreassi MG. A case report of myocardial infarction in young patient with a parental history of premature cardiovascular death: Contribution of prothrombotic gene mutations. *Int J Cardiol.* 2007 Oct 4. (En prensa).
48. Redondo M, Watzke HH, Stucki B, Sulzer I, Biasiutti D, Rinder BR, Furlan M, Lammle B, Willemin A. Coagulation Factors II, V, VII, and X, prothrombin gene 20210 A→ transition, and Factor V Leiden in coronary artery disease. High Factor V clotting activity is an independent risk factor for myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999; 1020-1025.
49. Longstreth WT, Rosendaal FR, Siscovick D, Vos HL, Schwartz SM, Psaty BM, Raghunathan TE, Koepsell TD, Reitsma PH. Risk of stroke in young women and two prothrombotic mutations; Factor V Leiden and prothrombin gene variant (G20210A). *Stroke.* 1998; 29, 577-580.