

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI**



UMAE HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA
DIVISION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

PROTOCOLO DE TESIS

**Frecuencia de la mutación G1691A en el gene del Factor V de
la coagulación en pacientes jóvenes ≤ 45 años con infarto
miocárdico con elevación del segmento ST**

Tesista:

Dr. Gustavo Eduardo García Becerril

Tutores:

Dra. Irma Isordia Salas

Dr. Armando Mansilla Olivares



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

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

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

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

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

Agradecimientos

A mi madre, lo mas valioso de mi vida y
mi más importante expresión de amor.

A mi padre, el mejor ejemplo que un medico
puede tener. Y a quien le dedico mi profesión.

A Jacqueline, con quien quiero compartir
y escribir toda mi vida.

A mis hermanos, de quienes siempre
estaré orgulloso.

A los Drs. Argüero y Mansilla, más
que maestros, dos figuras paternas
que han enriquecido mi vida, alumbrando
el camino a cada paso que doy, Gracias.

Índice

1.	Antecedentes	5
2.	Planteamiento del problema	8
3.	Objetivos del estudio	9
4.	Hipótesis a desarrollar	10
5.	Material y métodos	11
6.	Diseño de la muestra	12
7.	Grupos de estudio	13
8.	Criterios de inclusión	14
9.	Tamaño de la muestra	15
10.	Análisis estadístico	16
11.	Variables	17
12.	Resultados	18
13.	Discusión	19
14.	Conclusiones	22
15.	Tablas y gráficos	23
16.	Anexos	29
17.	Bibliografía	33

Antecedentes

Dentro de las enfermedades cardiovasculares de mayor prevalencia en la República Mexicana destaca el infarto miocárdico (IM), cuya importancia se refleja en el elevado costo que para nuestro país representa la atención de esta entidad nosológica. Su mortalidad llega a alcanzar hasta un 40% en los centros especializados de diagnóstico y tratamiento (1,2).

Tanto el IM como la angina inestable son la manifestación aguda de la cardiopatía isquémica, mientras que a la angina estable, se le considera como su manifestación crónica. Los factores de riesgo que se han identificado para el desarrollo de este proceso son la edad, el género, la obesidad exógena, el sedentarismo, la hipertensión arterial sistémica, el tabaquismo, las dislipidemias, la diabetes mellitus y otros; sin embargo, existen otra serie de factores que al interactuar a nivel celular y molecular pueden predisponer al individuo, al desarrollo de esta patología. De entre estos últimos factores destacan la infección por *Chlamydia pneumoniae*, la alteraciones fenotípicas de algunas lipoproteínas como la Lp(a) y su interrelación con el sistema de la homocisteína y las moléculas de adhesión.

Desde el siglo XIX, se describió una serie de alteraciones capaces de desencadenar procesos pretrombóticos, como el incremento en la celularidad del tejido hemático con su consecuente repercusión sobre la viscosidad, la disminución del componente líquido de la sangre o bien, la trombocitosis. Actualmente y de acuerdo a su origen, los estados trombofílicos son considerados como primarios y secundarios (adquiridos). Los procesos primarios representan el 50% de las trombofilias y afectan fundamentalmente a los inhibidores de la coagulación como la antitrombina III y las proteína C y S, los que representan un factor de incremento de riesgo para el desarrollo de eventos trombóticos del 2-4% por año; de tal forma que un paciente a los 50 años de edad, tendría entre un 60 y un 70% de posibilidades de haber sufrido isquemia en algún órgano o sistema. Bertina y colaboradores en 1994, describen por primera vez la mutación del factor V de Leiden, que es considerada como la más común en los Estados Unidos de

Norteamérica, ya que afecta al 5% de la población caucásica y al 2% de la afroamericana, incrementando considerablemente el riesgo de desarrollo de trombosis venosa (6,7,9); Desde luego, la magnitud del riesgo es distinta en el homocigoto (30 a 140 veces mayor) que en el heterocigoto (3 a 8 veces) en comparación con la población abierta (8). Desde un punto de vista fisiopatológico, se han descrito 2 tipos de polimorfismos relacionados con la resistencia a la acción de la proteína C activada: 1. El G por A en la porción 1691, que se caracteriza por el reemplazo de una Arginina por una Glicina 506 en el factor V de Leiden; y 2. La mutación Factor II 20210 G-A en el 11p11.2-q12, de 21 Kb con 14 exones y 13 intrones, lo que provoca el cambio del aminoácido arginina en posición 622 por una glicina (9-12). Estos dos polimorfismos incrementan la incidencia de trombosis venosa en la población general, de un 4-6% a un 20-60% (13); considerando que la mortalidad en el 40% de estos casos es de origen cardiovascular y de ellos, el 50% es por cardiopatía isquémica (14,15).

Sin embargo, específicamente el polimorfismo del factor V no se ha podido relacionar directamente con la cardiopatía isquémica sino con la trombosis venosa, ya que la frecuencia de esta mutación es muy variable (16-18). Por ejemplo, en un estudio Francés en el que reportan 75 casos de 36 a 39 años de edad con IM, la prevalencia fue del 9.1% pero curiosamente, asociada a arterias coronarias epicárdicas en las que angiográficamente, no se demostraron lesiones obstructivas (19). Por otro lado, en un estudio realizado en los Estados Unidos de Norteamérica, se encontró una relación directa entre el polimorfismo del Factor V de Leiden y la progresión de la enfermedad aterosclerosa carotídea (20). Esta asociación, también se demostró en un estudio de casos y controles realizado en Brasil, en el que se analizaron tanto el factor V como el alelo 20210 de la protrombina y la actividad de la metilentetrahidrofolato reductasa en un grupo poblacional del género masculino menor de 45 años de edad con cardiopatía isquémica (21). En contraposición, en un estudio Sudafricano y en otro Danés, no fue posible establecer esta asociación (22,23). Dentro de la población japonesa en cambio, se ha reportado en el 3.1% de los pacientes diabéticos y en el 7.4% de los no diabéticos (24).

De la misma manera, en un estudio realizado en 84 pacientes sometidos a trasplante cardiaco, en los que la incidencia y prevalencia de tromboembolismo fue muy elevada, se detectó esta asociación en el 22% de los casos (25). Finalmente, en un análisis de las características fenotípicas de los factores hemostáticos en un grupo poblacional con trastornos de la coagulación radicados en los EUA pero de ascendencia mexicana, se observó un alto índice de correlación con los polimorfismos del factor Von Willbrand (0.60), del inhibidor de la fibrinolisis activado por trombina (0.57), del factor V de Leiden (0.53) y de la proteína C (0.54) (27).

Con base en los datos descritos previamente, la incidencia del polimorfismo del Factor V de Leiden varía por un lado, con las características genotípicas del grupo poblacional que se estudie y por el otro, con la entidad nosológica con la que se asocie. De tal forma que no se ha logrado establecer una clara correlación epidemiológica ni fisiopatológica entre la presencia de este polimorfismo y el desarrollo de enfermedad isquémica. Además en nuestra población, se desconocen actualmente las características de la expresión de los polimorfismos del factor V de Leiden, por lo que se decidió analizar la incidencia del polimorfismo G-A 1691 del gen del factor V, en un grupo de pacientes menores de 45 años de edad con IM.

Planteamiento Del Problema

Con base en los datos previamente mencionados y partiendo del hecho de que los polimorfismos de los factores de la coagulación pueden representar un factor de riesgo molecular directo para desarrollo de cardiopatía isquémica, consideramos de gran importancia el determinar su prevalencia en la población Mexicana.

Por este motivo, este estudio se ha diseñado para determinar la prevalencia del polimorfismo G1691A del factor V de Leiden en pacientes menores de 45 años de edad con infarto miocárdico y su relación estadística con los factores de riesgo vascular tradicionales.

Objetivos del estudio:

GENERAL:

- Determinar la prevalencia del polimorfismo del factor V de Leiden de la coagulación, en pacientes jóvenes (≤ 45 años), con infarto miocárdico con elevación del segmento ST.

ESPECIFICO:

- Determinar si se asocian el polimorfismo del Factor V de Leiden y los factores tradicionales de riesgo vascular en pacientes ≤ 45 años con infarto miocárdico con elevación del segmento ST.

Hipótesis a desarrollar:

- **Hi:** El infarto miocárdico en pacientes jóvenes ≤ 45 años de edad se asocia a la expresión del polimorfismo G1691A del factor V de Leiden.

- **Ho:** El infarto miocárdico en pacientes jóvenes ≤ 45 años de edad se asocia a factores de riesgo vascular independientes del polimorfismo G1691A del factor V de Leiden.

Material y Métodos.

Lugar del estudio:

Hospital de Cardiología del CMN 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 investigación:

Estudio de casos y controles anidado en una cohorte.

Diseño de la Muestra.

Universo de trabajo:

En la Unidad contamos con un banco de ADN y plasmas correspondiente a 127 pacientes con diagnóstico de Infarto Miocárdico menores de 45 años.

Grupos de Estudio:

Control:

Sujetos sin presencia de Infarto Miocárdico (sanos).

De Estudio:

Pacientes con diagnóstico de Infarto Miocárdico.

Criterios de inclusión:

- 1.- Sujetos de uno u otro género
- 2.- Mayores de 18 años e iguales o menores de 45 años
- 3.- Con diagnostico de infarto miocárdico.

Tamaño de la Muestra:

El tamaño de la muestra dependió exclusivamente de la concentración de los plasmas disponibles en el banco de ADN de la Unidad de Investigación, Hemostasia y Aterogénesis del Hospital General Regional Gabriel Mancera, cuyos productos procedían de los pacientes estudiados y seleccionados en el departamento de la Unidad Coronaria del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

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

VARIABLES.

Dependiente:

Presencia de polimorfismo

Independiente:

Presencia de Infarto Miocárdico.

RESULTADOS

En el Hospital de Cardiología del CMN SXXI, se estudiaron 221 sujetos, 127 con IM y sus respectivos controles (94). La edad promedio fue de 40 ± 4.6 años en el grupo en estudio, mientras que en el grupo control fue de 40 ± 4.1 años, sin una diferencia significativa. El 75% correspondió al género masculino y el 25% al femenino; el resto de los datos demográficos puede consultarse en la tabla 1. Se detectaron los siguientes factores tradicionales de riesgo asociado en el grupo en estudio contra el grupo control, descritos en el estudio Framingham: 1. Diabetes Mellitus 34:7.8% ($p < 0.001$); 2. Hipertensión arterial sistémica 37.2:7.0% ($p < 0.001$); 3. Tabaquismo 59.5:5.5% ($p < 0.001$); Hipercolesterolemia 41.4:8.6% ($p < 0.001$); y 4. Antecedentes familiares de enfermedad arterial coronaria isquémica 32:17.4: % ($p < 0.001$)(Tabla 2). En cuanto al polimorfismo G1691A en los 127 pacientes con infarto miocárdico y sus respectivos controles, se detectó que todos los sujetos presentaban una base homocigota G/G; es decir, el polimorfismo G1691A estuvo ausente en ambos grupos, demostrando en esta forma la integridad de la región 1q23, al menos en este grupo poblacional.

DISCUSIÓN

La cardiopatía isquémica es una enfermedad cuyo costo social es extraordinariamente elevado, por lo que su estudio, prevención y tratamiento son prioritarios en países que como el nuestro, su incidencia y prevalencia van en constante incremento. El estudio de esta entidad nosológica debe abarcar desde los mecanismos de prevención y solución de los factores predisponentes, hasta el análisis de los eventos moleculares que contribuyen con la génesis del fenómeno y las estrategias moleculares para la solución del mismo.

Curiosamente, nuestro país vive una transición epidemiológica en la que individuos cada vez más jóvenes presentan como manifestación de esta enfermedad, el infarto miocárdico. Ante estas circunstancias, resulta imperativo escrudinar y reanalizar el papel que juegan los denominados factores tradicionales de riesgo vascular, cuya descripción se inició con el estudio Framingham, así como los nuevos factores que en la actualidad y desde un punto de vista molecular, se han relacionado directamente con el desarrollo de enfermedad ateromatosa. De hecho, son diversos los estudios que cuestionan la influencia que pueden ejercer los factores de riesgo tradicional, sobre la génesis de la enfermedad vascular. Mientras que por otro lado, el estudio de los mecanismos de la coagulación, de la anticoagulación, de la fibrinólisis, de las moléculas de adhesión, del sistema inmunológico y de otros eventos moleculares, va cobrando cada vez mayor importancia, por la influencia que ejercen de manera directa en la fisiopatología de la aterosclerosis. Por ejemplo, las trombofilias 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 o bien, la mutación del factor V de Leiden, que incrementa sustancialmente la incidencia de trombosis venosa y la progresión de la enfermedad aterosclerosa carotídea. De hecho, desde un punto de vista fisiopatológico, se han descrito 2 tipos de polimorfismos relacionados con la resistencia a la acción de la proteína C activada: 1. El G por A en la porción 1691, que se caracteriza por el reemplazo de una Arginina por una Glicina 506 en el factor V de Leiden; y 2. La mutación F2 20210 G-A en el 11p11.2 -q12 que provoca el cambio de una Arginina en la posición 622 por una Glicina. 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 esta investigación epidemiológico-molecular, se ha abordado a la cardiopatía isquémica desde el punto de vista de su manifestación como infarto miocárdico, pero en pacientes con una edad ≤ 45 años, en quienes desde un punto de vista probabilístico, existe la posibilidad de que sea un polimorfismo el que esté relacionado directamente con el desarrollo de la enfermedad. En estas circunstancias, en el grupo poblacional estudiado se demostró un predominio de 3:1 en el género masculino, con una edad promedio de inicio de las manifestaciones clínicas de enfermedad arterial coronaria en su modalidad de infarto miocárdico, de 40 años. Los factores tradicionales de riesgo vascular que se encontraron ligados a estos pacientes, ejercieron una influencia estadísticamente significativa con relación al desarrollo de IM en comparación con el grupo control, en el que esta asociación fue menor al 12%.

Con los resultados obtenidos específicamente en este grupo poblacional, se demostró que ninguno de ellos expresaba el polimorfismo G1691A que caracteriza el cambio de una Arginina por una Glicina en la posición 506 de la proteína que conforma al Factor V de Leiden. Esta asociación, tampoco la han podido demostrar otros investigadores en diversos grupos poblacionales, no obstante que en los japoneses tiene una incidencia del 3.1% en el grupo de pacientes diabéticos y del 7.4% en el de no diabéticos y que en un grupo poblacional de mexicanos

radicados en los Estados Unidos de América, en los que la incidencia de tromboembolismo fue muy elevada, se detectó hasta en un 22%. Este hecho, se ha fundamentado con relación al desarrollo de infarto miocárdico sin obstrucción arterial coronaria, a la trombosis venosa profunda de miembros inferiores y en asociación con otros polimorfismos como el del factor vón Willbrand, el del inhibidor de la fibrinólisis activado por trombina y el de la proteína C.

Con base en lo anterior, no se debe de perder de vista la influencia determinante que ejercen las alteraciones en la función de los distintos factores de coagulación, sobre la génesis de la placa ateromatosa. De tal manera que modificaciones insignificantes de segmentos tan pequeños representados por una base púrica o pirimídica al sustituir un aminoácido por otro en la expresión fenotípica de las proteínas involucradas, pueden repercutir a tal grado en el metabolismo, que llegan a modificar parámetros como la constante de Michaelis en cuanto a la velocidad de reacción enzimática, la actividad procoagulante o anticoagulante de la proteína e incluso, la capacidad de los sistemas enzimáticos para degradar a la proteína anormal. De la misma manera, se debe destacar que en este estudio, únicamente se documenta la expresión fenotípica en los pacientes que sobrevivieron al infarto miocárdico, no así en aquellos casos que fallecieron por la gravedad de la enfermedad, los cuales pueden hipotéticamente presentar dicha mutación y expresarla incluso, con la penetrancia suficiente para provocar un evento fisiopatológico capaz de acabar con la vida y la función del organismo. También se debe hacer hincapié en la importancia de la detección de estos polimorfismos, ya que el tratamiento farmacológico ya sea preventivo o correctivo, deberá dirigirse a la anticoagulación mas que a la intervención sobre los mecanismos moleculares de agregabilidad plaquetaria.

Conclusiones

1. Es imperativo investigar la existencia de todos aquellos factores que desde un punto de vista molecular, pueden predisponer al desarrollo de enfermedad vascular, con el objeto de ejercer un control preventivo o regulatorio del proceso.
2. A pesar de que en este estudio se demostró la ausencia del polimorfismo G1691A en el grupo de pacientes estudiado, es necesario proyectar investigaciones de naturaleza epidemiológico-molecular de la magnitud necesaria, que permita valorar la prevalencia de esta alteración en la población mexicana, ya que de demostrarse su existencia, es susceptible de recibir tratamiento farmacológico preventivo.
3. Sin embargo, dada la baja incidencia y prevalencia con que se ha reportado este polimorfismo en la literatura internacional, y con base en los resultados de esta investigación, no se justifica el realizar estudios de escrutinio cuyo costo es elevado, en los pacientes que con el diagnóstico de infarto miocárdico son atendidos en las unidades coronarias de los distintos hospitales de nuestro país.

Figuras y Tablas

Vía Extrínseca

Vía Intrínseca

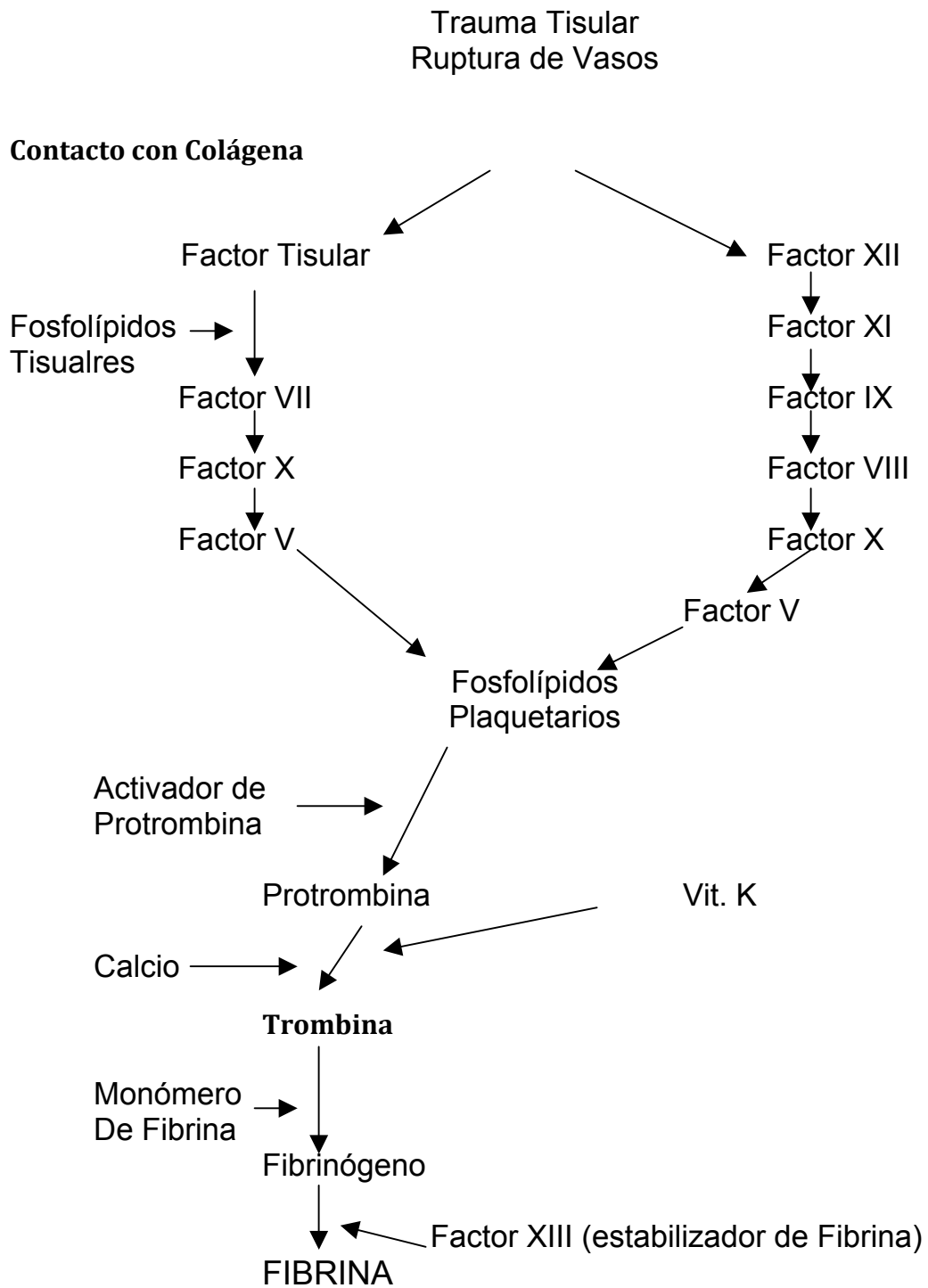


Figura 1. Cascada de coagulación

Variable	Control n=127	Pacientes con IM n=94
<u>Edad</u> (años \pm DE)	40.4\pm4.1	40.0\pm4.6
<u>Género:</u>		
Femenino: (%)	83.3	16.4
Masculino: (%)	82.6	17.3

Tabla 1. Edad y genero de de los grupos de estudio y control

Variable	Control n=127	Pacientes IM n=94	p*	RR	CI 95%
<u>Factores de riesgo:</u>					
Diabetes (%)	7.8	34.0	<0.001	5.76	2.53-13.95
Hipertensión (%)	7.0	37.2	<0.001	10.17	4.09-28.47
Tabaquismo (%)	5.5	59.5	< 0.001	25.26	10.18-70.05
Antecedente familiar cardiovascular (%)	3.2	17.4	<0.001	12.15	8.02-14.72
Hipercolesterolemia (%)	8.6	41.4	<0.001	7.48	3.41-17.31

Tabla 2. Factores de riesgo cardiovascular.

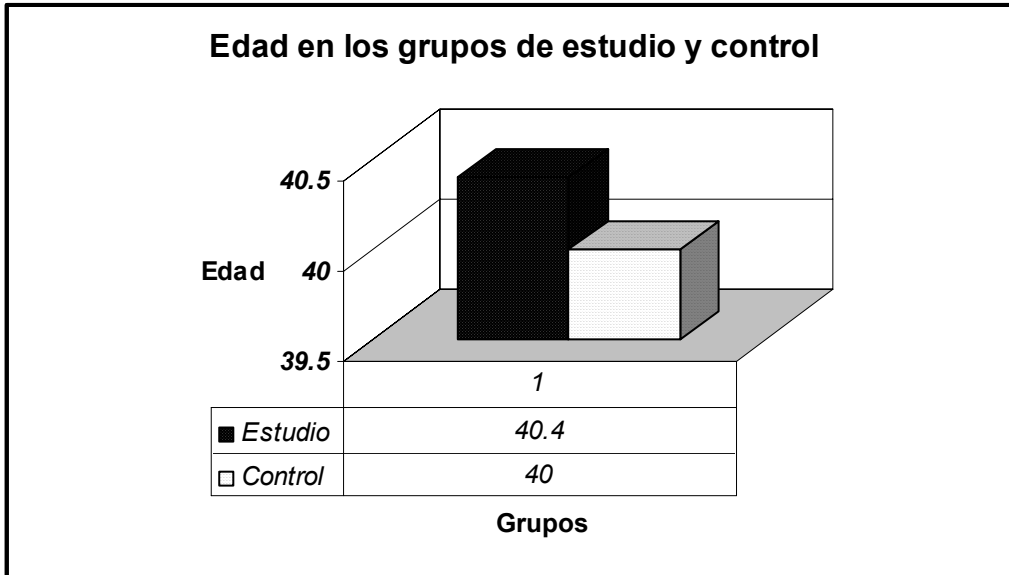


Figura 2 Edad de de los grupos de estudio y control.

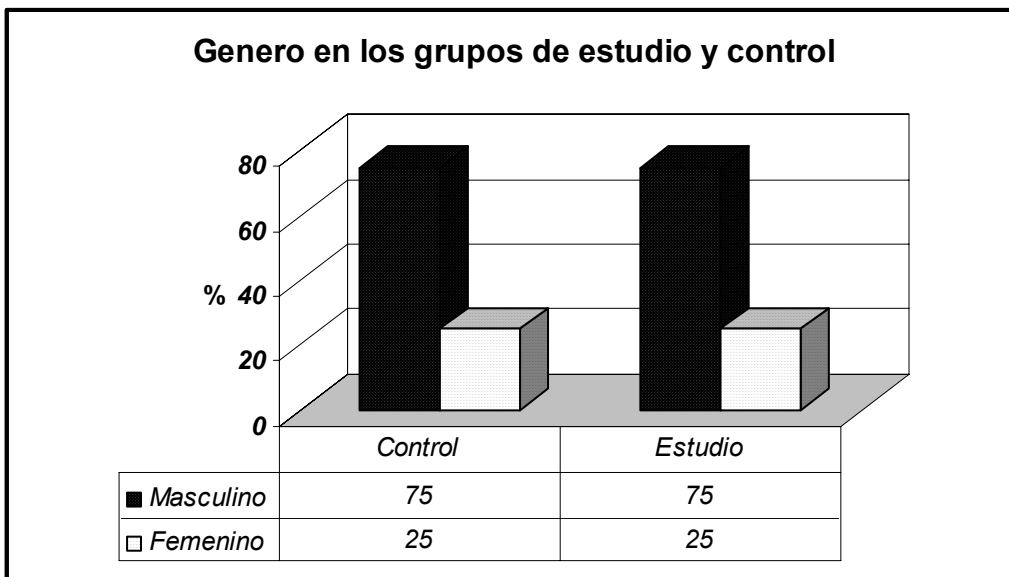


Figura 3. Genero de de los grupos de estudio y control.

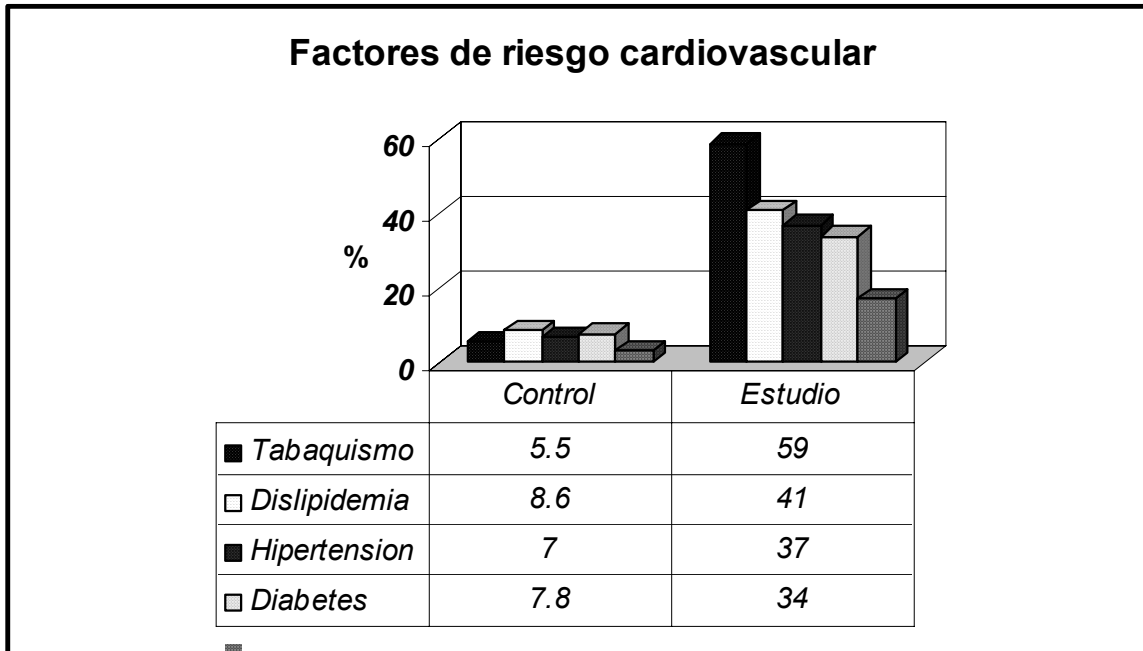


Figura 4. Factores de riesgo cardiovascular.

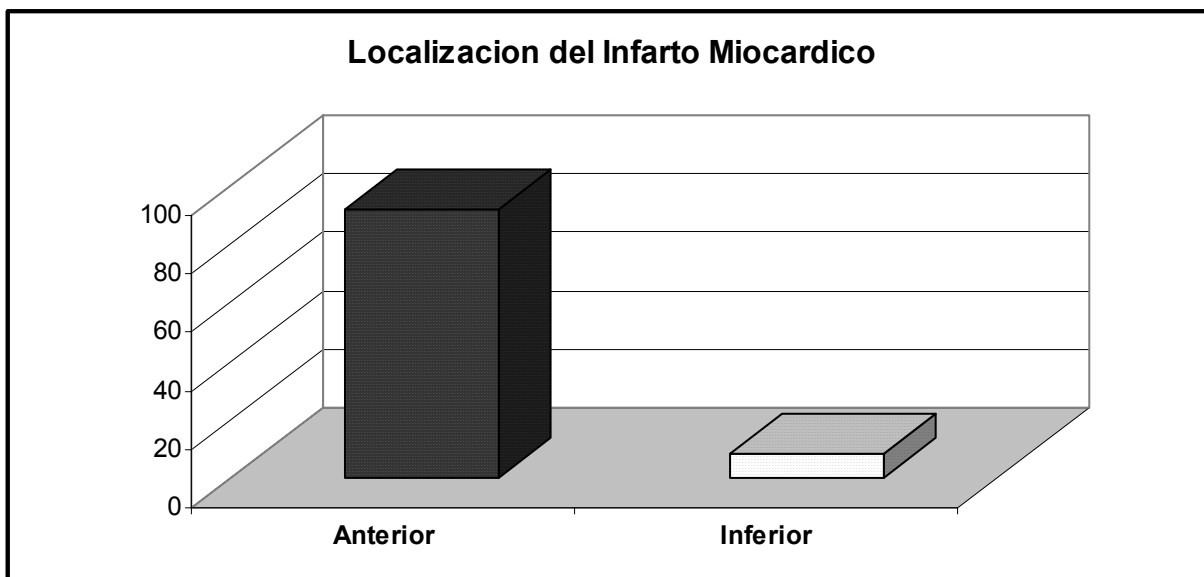


Figura 5. Localización del infarto miocárdico.

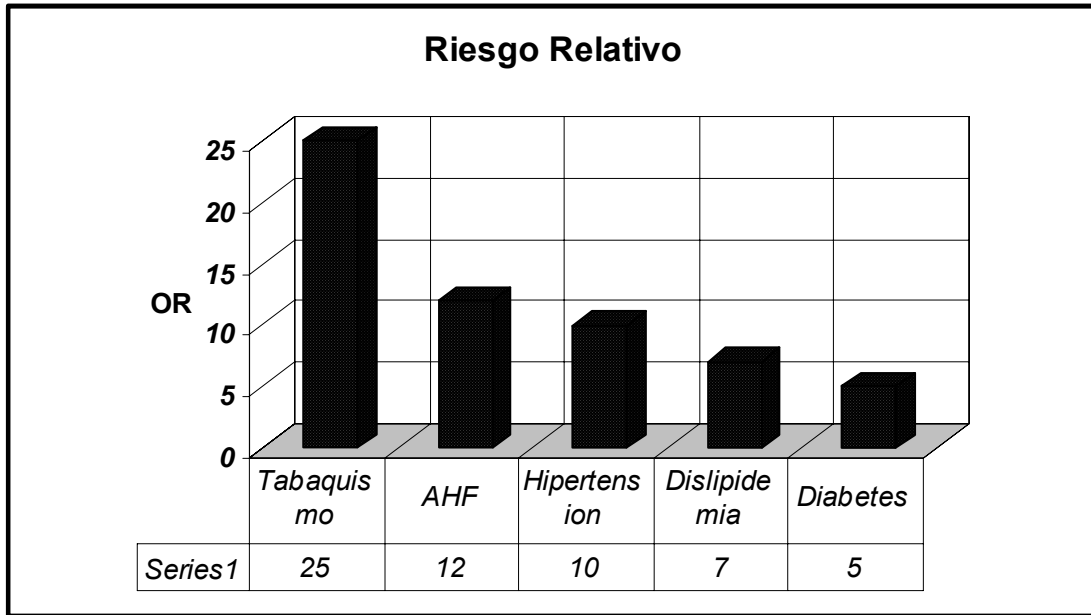


Figura 6. Riesgo relativo de los factores de riesgo cardiovascular para infarto miocárdico.

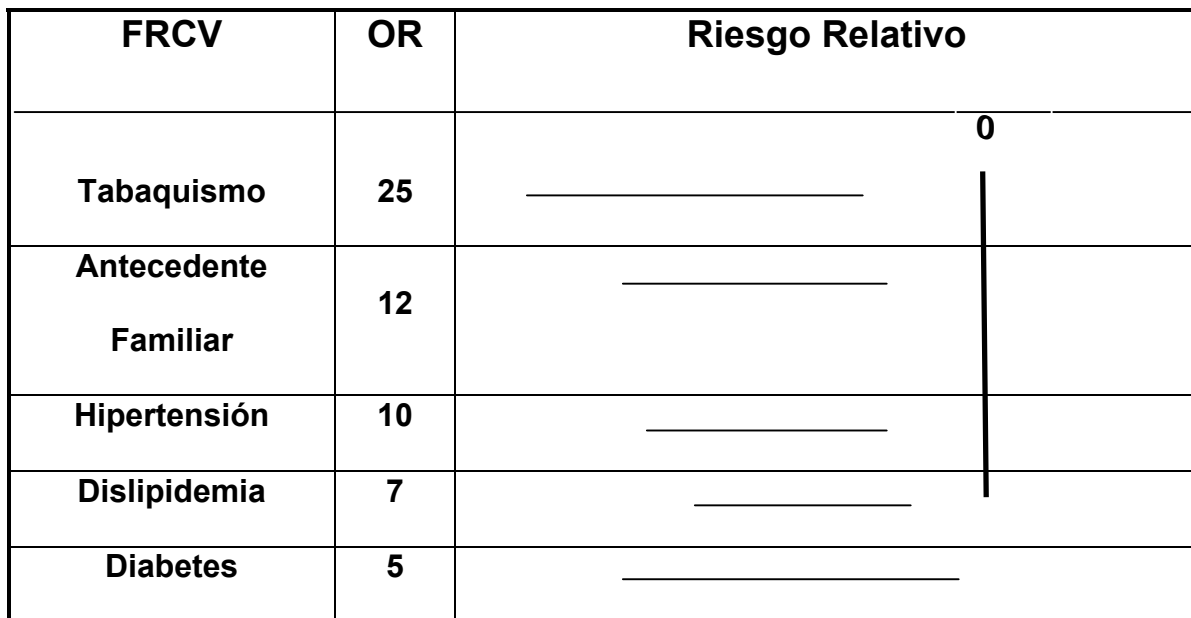


Figura 7. Riesgo relativo de los factores de riesgo cardiovascular para infarto

Anexo 1

Factibilidad y aspectos éticos

En la Unidad de Investigación del Hospital Gabriel Mancera contamos con 200 muestras de pacientes menores de 45 años con Infarto Miocárdico, además cuenta con banco de sangre en el cual se llevara a llevará 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 (véase infraestructura).

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 Medica 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 diagnostico 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 2

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, 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 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 correspondiente.

Anexo 3

Formato de consentimiento informado para su inclusión en el protocolo:

HOSPITAL REGIONAL No. 1 GABRIEL MANCERA
UNIDAD DE INVESTIGACION MEDICA EN TROMBOSIS, HEMOSTASIA Y
ATEROGENESIS (UIMTHA)
HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Por medio de la presente yo _____ doy mi autorización a la Dra. Irma Isordia Salas y colaboradores para participar en el estudio de investigación titulado "PREVALENCIA DEL POLIMORFISMO (G1691A) DEL GEN DEL FACTOR V 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 _____

Bibliografía:

1. Salud Pública Méx 2005; Vol. 47(6):451-457
2. E. Jiménez, J Alvarez et al Mortalidad de cardiopatía isquémica en países latinoamericanos. Salud Publica Mex 2003; Vol 25 (3): 56-8
3. Basinkevich AB, Shakhnovich RM, Martynova VR, Kolkova NI, Rakovskaya IV, Karazhas NV et al. [Role of Chlamydia, mycoplasma and cytomegalovirus infection in the development of coronary artery disease]. Kardiologija 2003;43:4-9.
4. Saikku P, Leinonen M, Tenkanen L, Linnanmaki E, Ekman MR, Manninen V et al. Chronic Chlamydia pneumoniae infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. Ann Intern Med 1992;116:273-278
5. Islam S, Gutin B, Smith C, Treiber F, Kamboh MI. Association of apolipoprotein (a) phenotypes in children with family history of premature coronary artery disease. Arterioscler Thromb 1994; 14: 1609-1616.
6. Beckman, Diseases of the veins. Circulation 2002; 106: 2170-2172
7. Endler G, Mannhalter C. Polymorphisms in coagulation factor genes and their impact on arterial and venous thrombosis. Clin Chim Acta 2003; 330: 31-55.
8. Herrington, Howard., et al. Factor V Leiden, hormone replacement therapy and risk of venous thromboembolic events in women with coronary artery disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2002; 22:1012-1017

9. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, Dehonde et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature*. 1994;369: 64–66
10. Gowda MS, Zucker ML, Vacek JL, et al. Incidence of Factor V Leiden in patients with acute myocardial inf-arction. *J Thromb Thrombolysis* 2000; 9: 43-5.
11. Rosendaal FR, Bertina RM, Reitsma PH: Evaluation of activated protein C resistance in stored plasma. *Lancet* 343:1289, 1994
12. Iván Palomo, Jaime Pereira, Marcelo Alarcón L, Carmen Pinochet, María T Vélez SM, Patricia Hidalgo, Karin Skagerberg, Fernando Poblete. Factor V Leiden y mutación de la protrombina G20210A en pacientes con trombosis venosa y arterial. *Rev Méd Chile* 2005; 133: 1425-1433
13. Dahlback B. Resistance to activated protein C caused by the factor VR506Q mutation is a common risk factor for venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1997; 78: 483-8.
14. Elyse´ e T.M. Hille, Rudi G.J. Westendorp, Jan P. Vandenbroucke, and Frits R. Rosendaal. Mortality and Causes of Death in Families With the Factor V Leiden Mutation (Resistance to Activated Protein C) *Blood*, Vol 89, No 6 (March 15), 1997: pp 1963-1967
15. Holm J, Zoëller B, Svensson PJ, Berntop E, Erhardt L, Dahl back B: Myocardial infarction associated with homozygous resistance to activated protein C. *Lancet* 344:952, 1994

16. Vandembroucke et al. Increased risk of venous thrombosis in oral contraceptive users who are carriers of factor V Leiden mutation. *Lancet* 344:1453-7
17. Tzipora C Falik-Zaccai; Yafa Haron; Danny Eilat; Bakky Harash; et al
Coronary heart disease among Circassians in Israel is not associated with mutations in thrombophilia genes. *Human Biology*; Feb 2003; 75, 1
18. Mansourati J, Da Costa A, Munier S et al: Prevalence of factor V Leiden in patients with myocardial infarction and normal coronary angiography. *Thromb Haemost*, 2000, 83:822-5
19. A Dacosta; B Tardy-Poncet; K Isaaz; A Cerisier; P Mismetti; et al.
Prevalence of factor V Leiden (APCR) and other inherited thrombophilias in young patients with myocardial infarction and normal coronary arteries. *Heart*; Oct 1998; 80, 4; ProQuest Medical Library pg. 338
20. Caroline S. Fox, MD, MPH; Martin G. Larson, ScD; Diane Corey, et al.
Absence of Association Between Polymorphisms in the Hemostatic Factor Pathway Genes and Carotid Intimal Medial Thickness. *The Framingham Heart Study*, *Stroke* March 2004
21. Antonio P. Mansur, Joyce M, Annicchino-Bizzacchi, Jos~ A. F. Ramiros.
Polymorphisms of Factor V Leiden, Prothrombin e
Methylenetetrahydrofolate Reductase in Patients With Coronary Disease.
University of S~o Paulo Medical School, S#,o Paulo, Brazil. *JACC* February 2001

22. Naresh Ranjith, Rosemary J. Pegoraro, Lee Rom. Haemostatic gene polymorphisms in young Indian Asian subjects with acute myocardial infarction. *Med Sci Monit*, 2003; 9(10): CR417-421 Clinical Research
23. K. Juul, A. Tybjaerg-Hansen, R. Steffensen, S. Kofoed, G. Jensen, . Factor V Leiden And Risk Of Arterial Thrombosis: 3 Case-Control And 3 Prospective Studies Based On The Copenhagen City Heart Study And 2 Meta-Analyses. 73rd EAS Congress
24. Maser, Miele, Lenhard, Serra. Lack of association of Factor V Leiden and Coronary Heart Disease in individuals with and without diabetes. *Diabetes Care*; Jan 1998; 21, 1; ProQuest Medical Library pg. 198
25. Miriuka, Langman, Ross, Cole et al. Thromboembolism in heart transplantation: Role of Prothrombin G20210-A and Factor V Leiden. Toronto, Canada *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, Volume 24, Number 2S
26. Klaus Juul, Anne Tybjærg-Hansen, Rolf Steffensen, . Factor V Leiden: The Copenhagen City Heart Study and 2 meta-analyses. *BLOOD*, 1 July 2002 _ Volume 100, Number 1
27. Diane M Warren; José Manuel Soria; Juan Carlos Souto; Anthony Comuzzie; et al. Heritability of Hemostasis Phenotypes and Their Correlation with Type 2 Diabetes Status in Mexican Americans. *Human Biology*; Feb 2005; 77, 1
28. Rees DC, Cox M, Clegg JB. World distribution of factor V Leiden. *Lancet* 1995; 346: 1133-4

29. Adamczuk Y, Iglesias Varela MI, Forastiero R, Martinuzzo M, Cerrato G, Pombo G Et Al. Factor V Leiden and prothrombin G20210A variant are risk factors for venous thromboembolism in the Argentinean population. *Thromb Haemost* 2000; 83: 509-10
30. 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.
31. 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.
32. Beckman, Diseases of the veins. *Circulation* 2002; 106: 2170-2172
33. Lander ES, Shork NJ. Genetic dissection of complex traits. *Science* 1994; 265:2037-2048.
34. 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
35. 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.

36. 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.
37. 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.
38. 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
39. 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.
40. 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
41. Federman DG, Kirsner RS. An Update on Hypercoagulable Disorders. *Arch Intern Med* 2001; 161:1051-1056.
42. Osorio G. *Hematología: Diagnóstico y Terapéutica*. Segunda Edición. Editorial Mediterráneo.
43. Degen SJF, Davie EW. Nucleotide sequence of the gene for human prothrombin. *Biochemistry* 1987; 26: 6165-77.

44. 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.