

EFECTO DEL POLIMORFISMO FACTOR XIII VAL34LEU SOBRE TERAPIA TROMBOLITICA EN PACIENTES CON INFARTO AGUDO DEL MIOCARDIO CON ELEVACIÓN DEL ST*

Néstor Ospino¹, Freddy Díaz¹, Susana Blanco S², Freddy Contreras³.

RESUMEN

*Dos polimorfismos pueden tener un importante papel protector contra el infarto de miocardio, debido a que se asocian a una notable disminución de los niveles plasmáticos del factor VII y de la propensión a la trombosis. **Objetivo:** 1-. Determinar la presencia del polimorfismo Val34leu del Factor XIII en pacientes con infarto del miocardio que ingresan a la unidad de cuidados coronarios (UCC) del HMPC y reciben terapia trombolítica; 2-. Contrastar el efecto de la terapia trombolítica en pacientes con presencia de la mutación y aquellos que no la presentan. **Métodos:** Se realizó un estudio de campo, descriptivo y correlacional, desde mayo a septiembre del 2007, en la unidad de cuidados coronarios del HMPC-Caracas. La población fue seleccionada mediante criterios de AHA: SCA con elevación del ST, susceptibles a recibir terapia trombolítica. La muestra definitiva, quedo conformada por 30 pacientes. La eficacia de la fibrinólisis fue evaluada por criterios clínicos, electro cardiográfico y enzimático. Una disminución del ST mayor de 50 % a los 90 min y una elevación temprana de las enzimas cardiacas antes de las 12 h fueron considerados criterios de reperfusión. El ADN genómico fue evaluado mediante reacción en cadena de polimerasa. **Resultados:** El polimorfismo se presento en 39 % de los pacientes estudiados. Se demostró la asociación entre polimorfismo y niveles de fibrinógeno. **Conclusiones:** Los valores de fibrinógeno estaban disminuidos en la población con polimorfismo en comparación con la que no lo presentaba. La respuesta terapéutica a la terapia trombolítica se relaciono con el fibrinógeno.*

Palabras Clave: SCA, elevación del ST, Polimorfismo genético, fibrinógeno, factores de riesgo.

ABSTRACT

*Two polymorphisms may have an important protective role against myocardial infarction, because it is associated with a significant decrease in plasma levels of factor VII and the propensity to thrombosis. **Objective:** 1 -. To determine the presence of Factor XIII Val34Leu polymorphism in patients with myocardial infarction admitted to coronary care unit (CCU) of the HMPC and receives thrombolytic therapy, 2 -. To compare the effect of thrombolytic therapy in patients with presence of the mutation and those without. **Methods:** We conducted a field study, descriptive, correlation, from May to September 2007 in the coronary care unit of HMPC-Caracas. The population was selected by AHA criteria: ST elevation ACS, likely to receive thrombolytic therapy. The final sample was composed of 30 patients. The effectiveness of fibrinolysis was assessed by clinical, electro cardiograph and enzyme. ST A decrease greater than 50% at 90 min and an early elevation of cardiac enzymes before 12 h reperfusion criteria were considered. DNA was assessed by polymerase chain reaction. **Results:** The polymorphism was present in 39% of the patients studied. Demonstrated the association between polymorphism and fibrinogen levels. **Conclusions:** Fibrinogen levels were decreased in the population with polymorphism in comparison with which it had not. The therapeutic response to thrombolytic therapy was associated with fibrinogen.*

Key words: SCA, ST elevation, genetic polymorphism, fibrinogen, factors of risk.

¹ Médico Internista, Residente del Postgrado de cardiología del Hospital Miguel Pérez Carreño- Caracas Venezuela

² Medico Cardiólogo adjunto, jefa del post-grado de Cardiología del Hospital Miguel Pérez Carreño- Caracas Venezuela

³ Editor – Director. Prof. Asociado de Fisiopatología. Facultad de Medicina UCV. MsC en Gerencia Educativa. Médico Internista.

* Trabajo Especial de Grado presentado ante la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela,

para optar al grado de Especialista en Cardiología

Recibido: 28.10.2011

Aceptado: 12.01.2012

INTRODUCCIÓN

La enfermedad arterial coronaria (EAC) constituye la principal causa de mortalidad en hombres mayores de 45 años y mujeres mayores de 65 años¹. En Venezuela, para el año 2000, la tasa de muerte por enfermedades del corazón se ubicó entre 79 y 103 por 100.000 habitantes². La obstrucción de la arteria coronaria epicárdica ha sido implicada en la producción del infarto del miocardio desde 1910 y a principios de la década de 1980 se comienza hablar y utilizar los agentes fibrinolíticos en el tratamiento de esta patología, conllevando a un aumento de la supervivencia y a la restauración de la función ventricular. Sin embargo, hasta un 40% de los pacientes que reciben la terapia fibrinolítica no llegan a presentar criterios de re-perfusión (Disminución de más 50 % de la elevación del segmento ST, incremento de las concentraciones séricas de los marcadores de necrosis) pocos han sido los factores identificados como causales de este hecho entre ellos, la heterogeneidad, la edad, el hábito de fumar y el tamaño y tipo de infarto³.

El factor XIII de la coagulación es una molécula tetramérica compuesta de 2 subunidades A de 83,2 Kd y 2 subunidades B de 79,7 Kd que están unidas en forma no covalente formando un tetrámero heterólogo de 325,8 Kd⁴ Fig 1. Además, 50% de la actividad total estabilizante de fibrina en sangre se encuentra en las plaquetas donde el factor XIII existe en forma de una molécula dimerica compuesta de solo 2 subunidades A⁵.

La subunidad A contiene el sitio activo de la enzima y es sintetizada en los hepatocitos, monocitos y megacariocitos, esta dividida en 4 dominios, en un diseño de β -sándwich, donde el núcleo constituye el sitio catalítico^{5,6}. La subunidad B sirve como un transportador de la subunidad catalítica A en plasma, es sintetizada por el hígado, y es secretada como un monómero que se une en plasma.

El Calcio y la trombina activan al factor XIII en la fase final del proceso de coagulación. El factor XIII activado cataliza la formación de uniones covalentes gamma-glutamil-gamma-lisina entre monómeros de fibrina, incrementando la resistencia de la fibrina a la degradación por plasmina.

Los polimorfismos son mutaciones del ADN, que apenas alteran la función de la proteína codificada, pero son frecuentes y pueden ser un factor de riesgo genético

cuando el organismo se enfrenta a determinados factores de riesgo ambientales (colesterol, estrés, tabaco). Múltiples polimorfismos han sido descritos en el gen que codifica la subunidad A del factor XIII. Un polimorfismo común de Guanina por Timina en el exon 2 causa una sustitución de Valina (Val) por Leucina (Leu) en la posición 34, aminoácidos claves en el sitio de clivaje de la trombina. Este polimorfismo Val34Leu afecta la función del factor XIII por incrementar su tasa de activación por trombina, resultando en un incremento y más rápida estabilización de la fibrina. Sin embargo, el papel trombotico de este polimorfismo es controversial y podría ser específico para distintas poblaciones⁷.

Uno de los primeros trabajos realizados que correlaciona el polimorfismo con la EAC es el de Kohler y colaboradores⁸. En el mismo, a 398 pacientes caucásicos se les realizó Cateterismo Coronario con 196 controles sanos, la prevalencia del polimorfismo del factor XIII, Val34Leu fue de 43% en general siendo más baja en pacientes con enfermedad arterial coronaria. Wartiovaara y col, en 1999 encuentran una asociación significativa entre el Polimorfismo del factor XIII alelo 34Leu y la ausencia de cardiopatía isquémica⁹. Veysel y colaboradores recientemente demuestran asociación significativa entre el polimorfismo del factor XIII Val34Leu y la baja frecuencia de EAC¹⁰.

Por otra parte existen otras publicaciones que no han encontrado una relación directa entre la presencia del polimorfismo y la disminución del riesgo de presentar EAC. Warner y colaboradores en 191 pacientes asiáticos no encontró asociación del polimorfismo del factor XIII Val34Leu con Infarto al miocardio¹¹, Aleksic y colaboradores reclutaron 423 pacientes con EAC y 479 pacientes sanos, realizándoles estudios angiográficos, no encontrando asociación entre la presencia del polimorfismo del factor XIII Val34Leu y EAC, ni diferencias genotípicas entre las distintas poblaciones¹². Vanessa y colaboradores realizaron otro estudio en pacientes caucásicos menores de 45 años, de un total de 585 pacientes 180 tenían EAC, la cual no se asoció con la presencia de infarto del miocardio prematuro⁷.

En un estudio retrospectivo de sobrevivientes de infarto agudo del miocardio, en 180 pacientes menores de 45 años se observó que los que presentaban el polimor-

fismo del factor XIII alelo Leu34 tenían mayor resistencia a la terapia trombolítica¹³.

Más recientemente, Marin y col⁴ encontraron que la presencia del polimorfismo del factor XIII Val34 Leu reduce la eficacia de la terapia fibrinolítica en los pacientes con SCA³.

Asimismo, a comienzos del siglo XXI, las enfermedades cardiovasculares son las responsables de la mitad de las muertes a nivel de la población mundial y se prevé, que para el año 2021, sean las responsables de aproximadamente 25 millones de decesos anuales, siendo el 44% de las mismas por enfermedad coronaria^{14,15}. Estos cambios en los patrones de morbilidad y mortalidad se conocen como transiciones epidemiológicas, constituidos por modificaciones en el status personal o colectivo, estructura social y cambios demográficos, siendo estas las causas por las cuales existen tantas diferencias alrededor del mundo. Dichas diferencias son muy marcadas entre países cuyas economías están establecidas, son emergentes o están en vías de desarrollo.

De hecho, en aquellos países industrializados, o de economías establecidas, las campañas costosas y reiterativas tendientes a atacar aquellos factores de riesgo como el tabaquismo, han obtenido un éxito relativo en cuanto a retardar a leve escala el aumento de la enfermedad cardiovascular, estas a su vez experimentan un aterrador ascenso en la población joven, y esto se debe a la presencia cada día mayor de obesidad y sedentarismo infantil (era cibernética) con la consecuente aparición de diabetes mellitus e hipertensión arterial.

Actualmente en América Latina la enfermedad cardiovascular representa un 36% de la mortalidad global y si se une con la frecuencia de aparición de los accidentes cerebrovasculares, el porcentaje aumenta hasta 80%¹⁶. En vista que la enfermedad aterotrombótica es una causa mayor de morbi-mortalidad en el mundo, y constituye el sustrato de la enfermedad arterial coronaria con el desarrollo posterior de eventos cardiovasculares mayores como el infarto agudo del miocardio con elevación del ST, se han realizado estudios que demuestran la influencia de nuevos factores de riesgo en el mecanismo fisiopatológico de esta enfermedad⁴. Algunos estudios relacionan el polimorfismo del Factor XIII con enfermedad arterial coronaria^{13,5,6}; específicamente con eventos agudos¹⁷. Dado que la relación entre pacientes con SCA tipo IM que tengan el polimorfismo y su respuesta a la terapia trombolítica es cada día más evidente y los métodos diagnósticos son más numerosos e imprecisos se plantean las siguientes interrogantes ¿Existe asociación

entre factores de riesgo y polimorfismo del factor XIII para el desarrollo de enfermedad arterial coronaria? ¿Existe alguna relación entre la presencia del polimorfismo Val34leu del Factor XIII, y la resistencia a la terapia trombolítica en los pacientes con infarto agudo del miocardio?. Estas interrogantes dieron origen a los objetivos que se señalan a continuación: Correlacionar la presencia del polimorfismo Val34leu del Factor XIII con la resistencia a la terapia trombolítica en los pacientes con infarto agudo del miocardio. 1-. Describir los factores de riesgo DM, Tabaquismo. HTAS, Dislipidemia y valores de fibrinógeno en pacientes con infarto del miocardio con elevación del ST que reciben Terapia trombolítica en la unidad de Cuidados Coronarios del Hospital Miguel Pérez Carreño. 2-. Determinar la presencia del polimorfismo Val34leu del Factor XIII en pacientes con infarto del miocardio que ingresan a la unidad de cuidados coronarios (UCC) del Hospital Miguel Pérez Carreño y reciben Terapia Trombolítica;3-. Contrastar el efecto de la terapia trombolítica en pacientes con presencia de la mutación y aquellos que no la presentan.

MÉTODOS

Se realizó un Estudio descriptivo, correlacional, prospectivo de corte transversal desde Mayo del 2007 hasta Septiembre 2007 en la Unidad de cuidados coronarios de la unidad de cardiología del Hospital Miguel Pérez Carreño. La población fue seleccionada entre los pacientes que acudieron a la emergencia del hospital Miguel Pérez Carreño en el lapso comprendido desde mayo 2007 hasta septiembre del 2007, con criterios clínicos y paraclínicos de SCA con elevación del ST según criterios de AHA, susceptibles a recibir terapia Trombolítica e ingresados en la Unidad de cuidados coronarios, desde mayo 2007 hasta septiembre 2007. A tales efectos se aplicaron los siguientes criterios de inclusión: Pacientes sometidos a terapia trombolítica con factores de riesgo para IM; Consentimiento del paciente para participar en el estudio Criterios de Exclusión: Se excluyeron pacientes con coagulopatias e historia de ictus isquémico en el último año. La muestra definitiva, la cual se calculó con la intención de detectar diferencias significativas entre los grupos estudiados, siempre que ésta no excediera al 10%, a su vez, se asumió un nivel de significación de la estimación del 5% y una potencia de estudio superior al 80%. Ello implicó que fuese necesario incluir en el estudio 30 pacientes.

Evaluación de la eficacia de la fibrinólisis: La eficacia de la fibrinólisis fue evaluada por una combinación

de criterios clínicos electrocardiográficos y enzimáticos. El electrocardiograma de 12 derivaciones realizado a los 30, 60, 90, 120, 180, 240 y 300 min después de iniciada la fibrinólisis. La determinación de las enzimas cardíacas se realizó a las 0, 3, 6, 12 y 21 h después de iniciada la fibrinólisis. Una disminución del ST mayor de 50 % a los 90 min y una elevación temprana de las enzimas cardíacas antes de las 12 h fueron considerados criterios de reperfusión.

Obtención de muestras hematológicas.

En un plazo no mayor de 24 horas y previa autorización firmada por el paciente o su familiar más cercano, se obtuvieron los datos de la historia clínica, la cual contiene elementos de relevancia en relación al cuadro clínico actual y a los antecedentes de importancia para la patología. Se extrajeron mediante venopunción y tomando todas las medidas de asepsia pertinentes, 30 ml de sangre los cuales se distribuyeron de acuerdo al siguiente esquema:

Trasladados al Laboratorio Central del Hospital Miguel Pérez Carreño.

1 tubo tapa morada con EDTA conteniendo 2 ml de sangre total, la cual se mezcló por inversión con el objeto de realizar Hematología completa. En un tubo de vidrio seco tapa roja se añadieron 6 ml de sangre total para realizar perfil lipídico y enzimas cardioespecíficas: Creatin-fosfoquinasa fracción miocárdica y Troponina I.

Trasladados al Banco de Sangre del Hospital Miguel Pérez Carreño:

Dos tubos de plástico conteniendo cada uno 1 ml de citrato de sodio al 3.8% se vertieron 9 ml de sangre total a cada uno, siendo mezclados por inversión. Se procedió a centrifugarlos en forma inmediata, separándose el plasma y el paquete de glóbulos rojos y tanto el paquete globular como el plasma dividido en alícuotas, se congelaron a -70°C hasta su traslado al Laboratorio de Genética Molecular Humana de la Universidad Simón Bolívar, y el Centro de Medicina Experimental ubicado en el Instituto de Investigaciones Científicas (IVIC). Obtención de ADN genómico procedente de Células de la serie Blanca a partir de sangre total.

Al laboratorio de Genética Molecular Humana de la Universidad Simón Bolívar a cargo del Dr. René Utrera, se trasladó el tubo con el paquete globular y se sometió a 3 lavados sucesivos con TKM-1 mediante centrifugación, con el objeto de eliminar la hemoglobina. A

continuación se re-suspendió el paquete de glóbulos blancos obtenido con TKM-2 y SDS al 10%; se incubó la muestra a 65°C por 10 minutos, luego de los cuales se precipitaron las proteínas añadiendo 0.3 ml de NaCl 5.3 M. El sobrenadante obtenido en el cual se encuentra el ADN se dividió en alícuotas. El ADN se visualizó al añadir 3ml de etanol al 100%, como una tenue malla blanca, la cual se hace más nítida al invertir suavemente la mezcla. Concluidos los pasos anteriores se centrifugó a 12.000rpm por 5 minutos, se eliminó el etanol por completo y se re-suspendió en 50 μl de Buffer TE (10mM tris, 0,5 EDTA pH 8) siendo conservada a 4°C .

Determinación de la pureza y concentración del ADN genómico obtenido:

Con el objeto de verificar si en el material obtenido se encontraba el ADN se procedió a tomar una alícuota de $5\mu\text{l}$ de este ADN resuspendido en TE y se sometió a electroforesis en gel de agarosa al 0.8% a objeto de obtener una banda satisfactoria cuyo peso molecular corresponde al ADN genómico obtenido. Seguidamente se procedió mediante cuantificación espectrofotométrica a la determinación de las concentraciones del material obtenido. Una vez obtenidos los datos se preparó una solución de trabajo de ADN a una concentración de $60\text{ng}/\mu\text{l}$ para llevar a cabo la correspondiente reacción en cadena de polimerasa.

Búsqueda sistemática de los polimorfismos genéticos asociados a subunidad A del Factor XIII Humano mediante PCR.

Las secuencias blanco ubicadas en la región codificante del gen subunidad A fragmento 192bp desde intron A, hasta exon II acompañado de codon 34 se amplificaron por PCR mediante el uso de la Taq Polimerasa Promega de alta fidelidad y los cebadores correspondientes acoplados sobre las bases de las secuencias conocidas y las regiones intrónicas del gen. Este método incluyó diferentes procesos repetitivos y cíclicos compuesto por 3 etapas definidas: denaturalización, unión de los cebadores y extensión¹⁸. De esta manera se realizó la amplificación de las regiones contentoras del polimorfismo en estudio, que contiene el sitio polimórfico 192-bp; mediante el uso de un termociclador. La solución para la PCR contiene 6 $\text{ng}/\mu\text{l}$ de ADN genómico, 1 pmol de cada oligonucleótido o cebador, 0,2 Mm de MgCl y 0.025 U/ml de Taq polimerasa. Dicho proceso incluye 35 ciclos repetitivos, con una temperatura de unión de los cebadores que se utilizaron.

Para la amplificación de la región contentora del polimorfismo 192-bp se utilizó el cebador sentido 5' CA-TGCCTTTTCTGTTGTCTTC 3'; y el cebador antisentido 5' TACCTTGCAGGTTGACGCCCCGGGGCACTA 3'. El cebador antisentido contiene dos secuencias mismatches, correspondiente a un cebador mutagénico, como fue utilizado por Kangsadalampai y colaboradores¹⁹.

Análisis de Restricción con la enzima D del (en cursiva) para la detección del polimorfismo Val34Leu.

La presencia del polimorfismo Val34Leu del gen que codifica para el factor XIII de la cascada de coagulación, implica la sustitución de una guanina por una Timina en la posición 34 del gen. A objeto de determinar la existencia de esta mutación, se utilizó un cebador modificado que se une a la secuencia de uno solo de los alelos, se introdujo un sitio de reconocimiento para la enzima de restricción Ddel. Dicha enzima ejecuta un clivaje del fragmento de 192 bp obtenido mediante amplificación por PCR, solo si esta presente la timina en la posición 34 del gen, de esta manera una vez que dicha enzima actuó se visualizó en la corrida electroforética 2 fragmentos de digestión de 161 pb y 31 pb. Como resultado del análisis de restricción antes descrito se puede obtener 3 probables genotipos: Homocigotos normales G/G (no poseen el polimorfismo). Heterocigotos para el polimorfismo en estudio G/T (solo poseen el polimorfismo en uno de los alelos). Homocigotos para el polimorfismo en estudio T/T (poseen el polimorfismo en ambos alelos)¹⁹.

Electroforesis del ADN genómico en geles de agarosa.

Los productos de amplificación obtenidos, así como los fragmentos resultantes de las digestiones correspondientes, fueron evaluados en geles de agarosa. Antes de cargar el ADN en el gel se mezcló con buffer de carga 1X (glicerol 5%, azul de bromofenol 0.04%, xilen cyanol 0.04%). El ADN genómico se colocó en un gel de agarosa de 0.8% en tampón TAE 1X (40mM Tris acetato, 1 mM EDTA) conteniendo 0.5 µg/ml de bromuro de etidio. Los productos de PCR se corrieron en geles de agarosa al 1.5 y 2.5% en el mismo tampón dependiendo del tamaño del fragmento. Junto con las muestras se corrió un marcador de peso molecular para poder estimar el tamaño de las moléculas de ADN (100bp marcador de ADN). La corrida electroforética se llevó a cabo empleando una cámara horizontal "Easy Cast" a voltaje constante de 80V durante 15 minutos. La visualización de las bandas de ADN se realizó por fluorescencia indirecta con la ayuda de un transiluminador a 302 nm, en

un equipo Gel Doc 1000 (BioRad) donde se registró la imagen.

Electroforesis de ADN genómico en geles de poli(acrilamida).

Se realizaron las corridas electroforéticas en geles de poli(acrilamida) a objeto de obtener una mayor resolución de los productos de las digestiones enzimáticas. Para ello, antes de cargar el ADN en el gel, este se mezcló con buffer de carga 1X (glicerol 5%, azul de bromofenol 0.04%, xilen cyanol 0.04%), y posteriormente se cargó en un gel de poli(acrilamida) al 8%, (Persulfato de Amonio o APS 0.04%, acrilamida – bisacrilamida 8%, 5µl de TEMED y buffer TAE 1X para un volumen final de 5 ml), en tampón TAE 1X (Tris acetato 40 mM, EDTA 1mM). Para la corrida electroforética se utilizó una cámara de electroforesis vertical Termo EC120 (Mini Vertical Gel System) a 25 mA durante 30 minutos aproximadamente. Previo a la carga de las muestras a analizar, se realizó una precorrida del gel por 10 minutos aproximadamente.

Para el proceso de tinción y revelado del gel, se utilizó el protocolo de revelado con nitrato de plata (AgNO₃)²⁰. Este protocolo utiliza tres soluciones; una solución fijadora (etanol 10% y ácido acético glacial 0.5%), una solución de impregnación (nitrato de plata 0.15%) y por último una solución reveladora (200 µl de formaldehído 37% e hidróxido de sodio 1.5%). El gel se sumerge en 50 ml de solución fijadora al 37% y se lava con agua desionizada, posteriormente se sumerge en 50 ml de solución de impregnación por 7 minutos con agitación constante y se lava en agua desionizada. Por último se sumerge el gel en solución reveladora hasta lograr la visualización de las bandas por fluorescencia indirecta con la ayuda de un transiluminador a 302 nm, en un equipo Gel Doc 1000 (BioRad) donde se realiza el registro de la imagen.

Análisis Estadístico

Una vez obtenido los resultados del estudio estos fueron expresados como valores medios, porcentaje y desviación estándar. La asociación entre la presencia de factores riesgo categóricos, como el polimorfismo, se realizó primeramente, mediante el cálculo de Odd Ratio (OR) para cada una de las variables. La asociación del polimorfismo con la ocurrencia de reperfusión después de la fibrinólisis fue hecha por el método de ajuste a un modelo logístico generalizado multivariado, incluyendo aquellas variables de riesgo continuas y categóricas

(ejemplo: edad, factores de riesgo cardiovasculares) y utilizando como vínculo la función logística, por lo que el modelo tuvo la forma: $\pi = e^{(x^T \beta)} / 1 + e^{(x^T \beta)}$ ó su forma equivalente $\text{Log}(\pi / 1 - \pi) = x^T \beta$, donde π es la probabilidad de respuesta al tratamiento de fibrinólisis, x es una matriz de variables de riesgo y β el vector de parámetros de la regresión. El análisis estadístico fue realizado con el programa R Development Core Team (2007), se tomó valores de P significativa de $< 0,05$.

RESULTADOS

Se examinaron 30 individuos, que presenta la tabla resumen en donde se ve la lista de variables y características de la población (tabla 1 y 2). Se observa en general que la población que respondió al tratamiento y la que no respondió, fueron estadísticamente similares en cuanto a edad, factores de riesgo y características clínicas (tabla 1 y 2).

Tabla 1. Factores de riesgo de la población de pacientes estudiados según su respuesta al tratamiento.

Respuesta al tratamiento	NO	SI	Total
Sexo (hombres/mujeres)	13/2	13/2	26/4
HTA (+/-)	12/3	10/5	22/8
DM (+/-)	7/8	4/9	11/17
Tabaquismo (+/-)	8/6	9/5	17/11
CIC (+/-)	4/11	4/11	8/22
Genotipo (V/L)	10/5	7/8	17/13

HTA: hipertensión arterial, DM: diabetes mellitus, CIC: cardiopatía isquémica crónica.

Tabla 2. Características clínicas (media \pm desviación estándar) de la población de pacientes estudiados según su respuesta al tratamiento. No se encontró diferencia estadística entre la población que respondió al tratamiento y la que no respondió.

Respuesta al tratamiento	NO	SI	Total
Fibrinogeno	382.00 \pm 202.53	305.43 \pm 177.67	337.33 \pm 188.09
Glicemia	225.53 \pm 146.80	157.50 \pm 65.84	192.68 \pm 118.25
Urea	28.38 \pm 16.02	18.63 \pm 6.71	23.70 \pm 13.17
Creatinina	2.23 \pm 2.84	0.96 \pm 0.40	1.63 \pm 2.16
CK	1539.58 \pm 1114.13	1799.42 \pm 1749.36	1669.50 \pm 1440.44
CKMB	100.83 \pm 111.03	141.36 \pm 112.48	122.65 \pm 111.47
Edad	56.27 \pm 11.99	59.80 \pm 8.81	58.03 \pm 10.49

El cálculo de los Odds Ratio (OR) reveló que la respuesta al tratamiento no depende de la condición genética ni de ninguna otra variable categórica. Además, la gran amplitud del intervalo de confianza de los OR (OR IC) muestra que el número de pacientes estudiados es insuficiente para generar estadísticos menos inciertos.

Tabla 3. Odds Ratio de la respuesta al tratamiento según las variables categóricas que potencialmente influyen sobre la respuesta al mismo.

	OR	OR IC
Sexo (h/m)	1.00	0.12-8.21
HTA (+/-)	0.50	0.10-2.63
DM (+/-)	0.51	0.11-2.40
Tabaquismo (+/-)	1.35	0.29-6.18
CIC (+/-)	1.00	0.20-5.04
Genotipo (V/L)	0.44	0.10-1.92

Los modelos de regresión no resultaron significativos, por lo que se ensayo un remuestreo bootstrap que consistió en generar una muestra aleatoria $n=1000$ a partir de los datos disponibles. Sobre la muestra remuestreada, se obtuvo que la respuesta al tratamiento depende de los niveles de fibrinógeno y de creatinina (tabla. 4). Pacientes con creatinina alta tienen tres veces más riesgo de no responder al tratamiento. Pacientes con fibrinógeno alto tienen un riesgo ligeramente mayor que uno de no responder al tratamiento. No se observó efecto estadístico de la presencia del Polimorfismo Factor XIII Val34Leu (figuras 1 y 2).

Tabla 4. Coeficientes del modelo que mejor explica la respuesta al tratamiento: Probabilidad de respuesta al tratamiento.

Coefficiente		p valor de los coeficientes
(Intercepto)	3.14	<0.001
(Fibrinogeno)	-5.20 e-3	<0.001
(Creatinina)	-1.19	<0.001

Figura 1. En esta figura se observa un grafico de barras apiladas la respuesta al tratamiento con terapia fibrinolítica en los pacientes con y sin polimorfismo, en el eje de las abscisas tipos de polimorfismo, en el de las ordenadas izquierda la variable si o no según respuesta, eje ordenadas a la derecha magnitud de la respuesta al tratamiento en OR hasta 1.

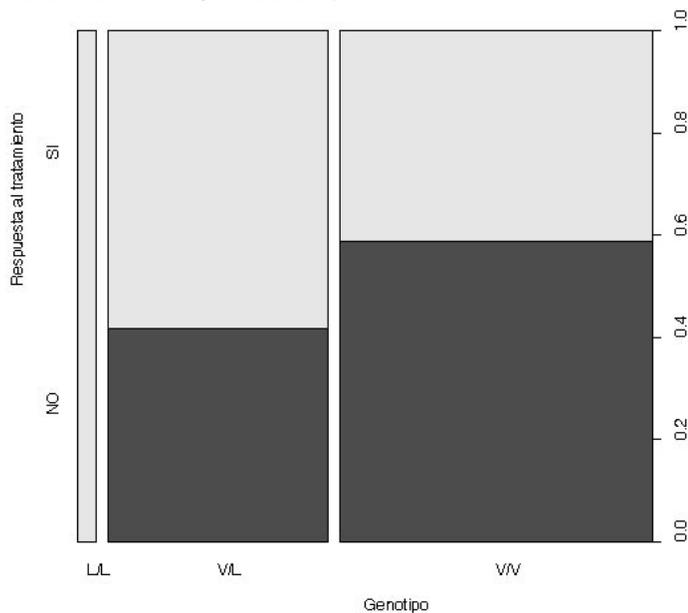
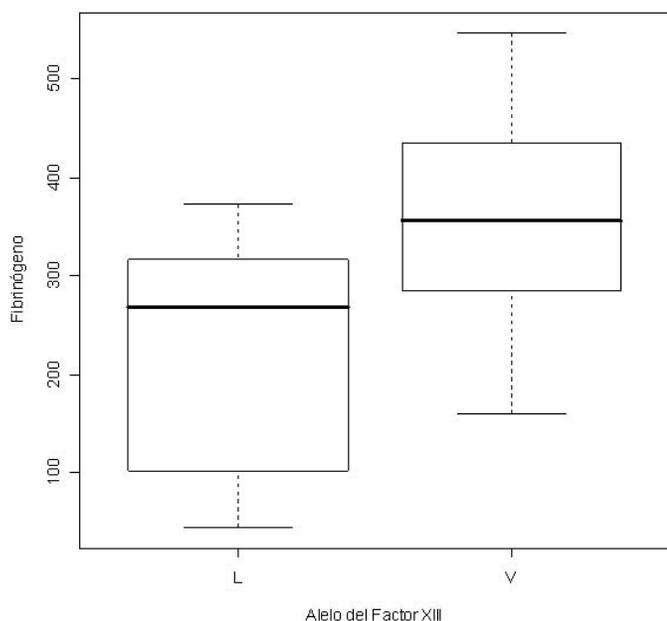


Figura 2. En esta figura en un grafico de cajas se observa en el eje de las ordenadas niveles del fibrinógeno en sangre y en el eje de las abscisas el tipo de alelo de Factor XIII, donde se observa la variabilidad del fibrinógeno dependiendo de la presencia o no del alelo del polimorfismo.



DISCUSIÓN

Dos polimorfismos pueden tener un importante papel protector contra el infarto de miocardio, debido a que se asocian a una notable disminución de los niveles plasmáticos del factor VII y de la propensión a la trombosis. Esto explicaría por qué algunos pacientes no sufren un infarto de miocardio a pesar de que padecen una aterosclerosis coronaria grave. La presencia del Polimorfismo factor XIII, Val34Leu según la literatura puede variar de 24,45 a 28,8 % en caucásicos. En el presente estudio el polimorfismo se presentó en 39 % de los pacientes estudiados. Kohler y colaboradores, y en un metanálisis más recientes de Zoltan^{8,21}, concluyeron que la presencia del polimorfismo proporciona un efecto protector cardiovascular. Sin embargo, los hallazgos obtenidos por los investigadores no encontraron asociación estadística entre el polimorfismo y la respuesta al tratamiento con terapia trombolítica. Además, el análisis de la frecuencia de respuesta al tratamiento según la presencia del polimorfismo (figura 1) puede ser biológicamente importante para aumentar la probabilidad de respuesta (figura 1), lo que le conferiría una propiedad protectora al polimorfismo como lo indica el OR calculado para el genotipo (tabla 3).

El efecto del polimorfismo no está claro, se ha tratado de explicar por el aumento de la velocidad de la formación de los enlaces de fibrina, que producen un trombo más pequeño que no permitiría la adhesión de plaquetas por disminución de su porosidad²¹. Los investigadores, aunque no observaron asociación estadística entre la presencia del polimorfismo y la respuesta al tratamiento, si demostraron la asociación entre polimorfismo y niveles de fibrinógeno. Estos mostraron una tendencia a ser más elevados con la ausencia del polimorfismo (figura 2). El efecto del polimorfismo Val34Leu, en el riesgo de EAC parece ser dosis fibrinógeno dependiente²², es decir, que la disminución de la permeabilidad del coágulo y elevación del fibrinógeno se ve influenciada por presencia del alelo Leu34²³, razón por la cual se puede establecer un efecto protector del polimorfismo en la población estudiada, que sin ser estadísticamente importante, puede ser biológicamente significativo. Por su parte, Navarro-Lopez²⁴, atribuye el efecto protector de este polimorfismo a que este factor interviene en la fase final de la coagulación estabilizando el coágulo de fibrina confirmando una mayor resistencia frente a la fibrinólisis.

Estos hallazgos, coinciden con los resultados obtenidos por Marin y col³, y dejan en evidencia que la pre-

sencia del polimorfismo factor XIII Val34Leu, influye claramente en el resultado efectivo de la terapia trombolítica del paciente, así como en ser un factor protector para el riesgo de Cardiopatía isquémica. Es importante tomar en consideración el polimorfismo del factor XIII Val34Leu y el fibrinógeno como nuevos marcadores emergentes para el estudio de la enfermedad cardiovascular.

CONCLUSIONES

La presencia del Polimorfismo factor XIII, Val34Leu según la literatura puede variar de 24,45 a 28,8 % según estudios realizados en caucásicos.

La prevalencia del Polimorfismo factor XIII Val34Leu en el estudio fue de 39 %, este porcentaje de pacientes presentaron una mejor respuesta a la terapia trombolítica.

Los niveles de fibrinógeno estaban disminuidos en la población portadora del polimorfismo genético en comparación con la que no lo presentaba.

La respuesta terapéutica a la terapia trombolítica se vio influenciada por los niveles de fibrinógeno y creatinina siendo inversamente proporcional su relación.

El Polimorfismo genético del factor XIII Val34Leu es seguramente un factor protector cardiovascular que además se asocia a bajos niveles de fibrinógeno que hace que los pacientes que reciben terapia fibrinolítica tengan una mejor respuesta terapéutica.

La utilidad clínica de evaluar nuevos factores de riesgo para la enfermedad cardiovascular se hace necesaria ante el comportamiento estadístico ascendente de esta en la población mundial. El Polimorfismo del Factor XIII, Val34Leu, ha reportado resultados significativos en diversos estudios publicados en su asociación con riesgo cardiovascular y respuesta al tratamiento.

Además, en nuestro estudio se determinó la asociación entre valores mayores de Fibrinógeno plasmático y la no respuesta al tratamiento, y la relación entre mayores niveles de este y la ausencia del polimorfismo Val34Leu, lo cual abre un campo de investigaciones futuras entre esta asociación y éxito de fibrinólisis en pacientes con infarto agudo del miocardio con elevación del ST.

REFERENCIAS

- 1.- Kuller L. Tratamiento de reposición hormonal y cardiopatía coronaria: Un nuevo debate. Clin Med NA. 2000; 1:185 – 202.
- 2.- Anuario Epidemiológico de Venezuela. Diez principales causas de muerte diagnosticadas en Venezuela durante el año 2000 y 2001, clasificadas por sexo.

Ministerio de salud y Desarrollo Social de la República Bolivariana de Venezuela.

- 3.- Marin F, Gonzales Conejero R, Kaeng W, Lee M, Corral J, et al. A pharmacogenetic effect of factor XIII valine 34 leucine polymorphism on fibrinolytic therapy for acute myocardial infarction. J Am Coll Cardiol. 2005; 45: 25–9.
- 4.- Chung S, Lewis M, Folk J. Relationships of the catalytic properties of human plasma and platelet transglutaminases (activated blood coagulation factor XIII) to their subunit structures. J Biol Chem. 1974; 249:940-950.
- 5.- Nagy J, Kradin R, McDonagh J. Biosynthesis of factor XIII A y B subunits. Adv Exp Med Biol. 1988; 231:29-49.
- 6.- Yee V, Pedersen L, Le Trong I, Bishop P, Stenkamp R, et al. Three-dimensional structure of a transglutaminase: human blood coagulation factor XIII. Proc Natl Acad Sci USA. 1994; 91: 7296-7300
- 7.- Roldan V, Corral J, Martin F, Rivera J, Pineda J, Gonzales R, et al. Role of factor XIII Val34 Leu Polymorphism in patients < 45 of age with Acute Myocardial Infarction. Am J Cardiol. 2003; 91: 1242- 1245.
- 8.- Kohler H, Stiklan M, Gerner N, Carter A, Mikkola H, Grant P. Association of Polymorphism in factor XIII gene with Miocardial Infarction. Thromb Haemost. 1998; 79: 8-16.
- 9.- Wartiovaara U, Perola M, Mikkola H, Totterman K, Savolainen V, et al. Association of Val34 Leu decreased risk of myocardial infarction in finnish males. Atherosclerosis. 1999; 142: 295- 300
- 10.- Veysel S, Reyhan D, Ahmet K, Beste O; Aytac O, Gursel E, et al. The Association Between Factor XIII Val34Leu Polymorphism and Early Myocardial Infarction. Circ J. 2006; 70: 239 –242.
- 11.- Warner D, Michel W, Peter G. Coagulation Factor XIII and Cardiovascular Disease in UK Asian patients undergoing coronary angiography. Thromb Haemost. 2001;85: 408-11
- 12.- Aleksic N, Anh CH, Wang Y, Junega H, Aaron R, Boerwinkle E, et al. Factor XIII Val 34 Leu Polymorphism Does Not Predict Risk of Coronary Heart Disease. Arterioscler Thromb Vas Biol. 2002; 22:348-352
- 13.- Mc Donagh J, Mc Donagh R, Delage J, Wagner R. Factor XIII in human plasma and platelets. J Clin Invest. 1969; 48:940-946
- 14.- Russell, L, Gold, M, Siegel J. The role of cost-effectiveness in Health and Medicine. JAMA. 1996; 276: 1172- 1180.
- 15.- Weinstein M, Siegel J, Gold M. Recommendations of

the panel of Cost effectiveness in Health and Medicine. JAMA. 1996; 276:1253-1260.

16.- Tu J, Austin P, Chan B. Relationship between annual volumen of patients treated by admitting physician and mortality alter acute myocardial infarction. JAMA. 2000; 285: 3116-3122.

17.- Muszbek L, Yee V, Hevessy Z. Blood Cagulation factor XIII; structure and function. Thromb Res. 1999; 94: 271-305

18.- Rapley,R; Theophilus, B; Bevan, I; Walter, M. Fundamental of the polymerasa chain reaction: future in clinicals diagnostics. Medical laboratory Science. 1992; 49: 119-128.

19.- Kangsadalampai S, Board P . The Val34Leu Polymorphism in the A Subunit of Coagulation Factor XIII Contributes to the Large Normal Range in Activity and Demonstrates That the Activation Peptide Plays a Role in Catalytic Activity. Blood. 1998; 92: 2766-2770.

20.- Brandt B,Greger U, Yandell D, et al. A simple and nonradiative method for detecting the Rb1 .20 DNA polymorphism in the retinoblastoma gene. The American Journal of Human Genetics. 1992;51:1450-1451.

21.- Zoltán V, Zsuzsanna B, Éva K, Róza Á, László M. Factor XIII Val34Leu variant protects against coronary artery disease. Thromb Haemost. 2007; 97: 458–463.

22.- Zsuzsanna B, Emilia B, Éva K, Zsuzsa P, István C, et al. Decreased factor XIII levels in factor XIII A subunit Leu34 homozygous patients with coronary artery disease. Thromb Res. 2008; 121, 469–476.

23.- Zsuzsanna B, Emilia B, Éva K, Zsuzsa P, István C, et al. Modulation of the risk of coronary sclerosis/myocardial infarction by the interaction between factor XIII subunit A Val34Leu polymorphism and fibrinogen concentration in the high risk Hungarian population. Thromb Res. 2007;120:567–573.

24.- Navarro-Lopez F. Bases genéticas de la enfermedad coronaria. Rev Esp Cardiol. 2002;55(4):413-31.