

Polimorfismos FVII IVS7, FVII R353Q en el gen del Factor VII y FXIII Val34Leu y su asociación con el riesgo de infarto agudo del miocardio en pacientes costarricenses

Dra. Lizabeth Salazar-Sánchez^{1,2}, Dra. Liliana Chaves¹, Dr. Juan José Madrigal^{1,2}, Dra. Mayra Cartín B.^{1,3}, Dr. Falko H. Herrmann⁴

1. CIHATA, Universidad de Costa Rica.

2. Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica.

3. Escuela de Salud Pública, Universidad de Costa Rica.

4. Instituto de Genética Humana, Universidad de Ernst-Moritz-Arndt, Greifswald, Alemania.

Recibido 22-VI-2012. Aceptado 24-IX-2012

RESUMEN

Los Niveles aumentados de los factores de la coagulación como el FVII y FXIII se han asociado con infarto agudo del Miocardio (IAM). Los estudios de biología molecular han permitido detectar varias mutaciones en los genes del FVII y FXIII que se han asociado al riesgo de enfermedad coronaria.

Métodos: Se estudiaron 186 pacientes que sufrieron infarto agudo del miocardio y 201 controles sanos. Se determinaron los polimorfismos FXIII (Val34Leu); FVII, IV(S7), FVII (R353Q), según las técnicas descritas. Cabe destacar que esta investigación siguió los lineamientos de bioética.

Resultados: La edad de los pacientes fue de 46,2 años (147 hombres/39 mujeres), y la de los controles fue de 46 años (141 hombres/ 60 mujeres). La prevalencia de las mutaciones obtenidas tanto en pacientes como controles fue: FVII IVS7 OR: 0,60 (0,26-1,38) $p=0,193$ y FVIIR353Q OR: 0,81(0,61-1,08) $p=0,729$; respectivamente. El fenotipo Leu/Leu tiene más elevada prevalencia en los casos controles que en los pacientes infartados, al hacer el ajuste de factores de riesgo cardiovascular, se demostró que este fenotipo es un factor protector para el desarrollo del IAM OR: 0,66(0,47-0,93) $p=0,01$. Los factores de riesgo tradicionales fueron estadísticamente significativos. En el FVII, y en el FVII IVS se encontraron nuevas variantes (4 y 8), no descritas previamente.

Conclusión: El FXIII Val34Leu se presenta como factor protector contra el IAM, y ninguno de los polimorfismos del FVII se encontró asociados como factor de riesgo para IAM. El FXIII Val34Leu ha sido descrito como un facilitador de la activación del factor XIII, durante la fase final de la coagulación, incrementando y acelerando la estabilización de la fibrina, confiriendo más resistencia ante la fibrinólisis. Se incrementan el interés de este polimorfismo en el IAM y en especial para los pacientes que fueran sometidos a terapia antifibrinolítica.

Palabras claves: Infarto agudo del miocardio, polimorfismo, coagulación, fibrinógeno, FXIIIVal34Leu, FVII IVS7 y FVIIR353Q.

ABSTRACT

FVII polymorphisms IVS7, FVII R353Q in FVII gene and FXIII Val34Leu and its association with the risk of acute myocardial infarction in Costa Rica Patients

Increased levels of coagulation factors such as FVII and FXIII have been associated with acute myocardial Infarction (AMI). Molecular biology studies have identified several mutations in the genes of FVII and FXIII and observe its influence on the levels of these and their possible association and risk of AMI.

Methods: We studied 186 patients with documented AMI and 201 controls with no history of cardiovascular disease. We performed a case-control study. It was determined the FXIII Val34Leu polymorphisms, FVII IVS7, FVII R353Q, according to the procedures described. This research followed the guidelines of institutional bioethics.

Results: The mean age of patients was 46.2 years (147 men / 39 women), and controls was 46 years (141 men / 60 women). The prevalence of mutations obtained in patients as controls were: FVII IVS7 OR: 0.60 (0.26 to 1.38) $p = 0.193$ and FVIIR353Q OR: 0.81 (0.61 to 1.08) $p = 0.729$, respectively. It is observed that the phenotype Leu/Leu is more common in controls than in patients, and after adjustment for cardiovascular risk factors, was shown to be a protective factor for the development of AMI OR: 0.66 (0.47 - 0.93) $p = 0.01$. The traditional risk factors were statistically significant. In FVII, were found in the FVII IVS, new variants * (4 and 8), not previously described.

Conclusion: FXIII Val34Leu was found as protector factor but neither FVII polymorphisms were associated as risk factors for AMI. FXIII Val34Leu, had been described as a facilitator of the activation of factor XIII, during the final stages of coagulation, increasing and accelerating stabilization of the fibrin, conferring mayor resistance to fibrinolysis. Increase the interest of this polymorphism in AMI and especially for patients who were subjected to antifibrinolytic therapy.

Key-words: Acute myocardial infarction, polymorphisms, coagulation, fibrinogen, FXIIIVal34Leu, FVII IVS7 and FVIIR353Q.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad cardiovascular continúa siendo la mayor causa de morbimortalidad en el mundo, sus causas son intensamente estudiadas en las últimas décadas (1,2). Tanto los factores ambientales, el estilo de vida, los factores de la coagulación y recientemente algunas mutaciones genéticas se han asociado con el riesgo de infarto. Los factores de riesgo conocidos como: colesterol, estrés, tabaco, etc. solo explican un porcentaje de casos de la enfermedad de allí la búsqueda de nuevos factores etiológicos por medio de la biología molecular (2). En el caso de los factores de la coagulación se encontró que la presencia de niveles aumentados del Factor VII(FVII) y el Factor XIII(FXIII) se asoció con el riesgo de sufrir infarto agudo del miocardio (IAM)(2,3,4). Los estudios de biología molecular han permitido identificar cambios en las secuencias del ácido desoxirribonucleico (ADN), llamados polimorfismos. En estas mutaciones de los factores de coagulación se han detectado factores de riesgo o "protectores" de la enfermedad coronaria.

El FVII, es un factor dependiente de la vitamina K el cual circula en su forma inactiva, interviene junto al factor tisular en la iniciación del proceso de la coagulación, en la vía extrínseca. Se han descrito dos polimorfismos en el gen de este factor, los cuales son: el FVII R353Q: producto de la sustitución de un aminoácido Arginina(R) por Glutamina (Q) en la posición 353 del exon 8 (4,5) y en la región hipervariable, FVII IVS7, se incluye la inserción de 37 pb en la posición -323 del promotor, identificándose los alelos H6(a) con 6 monómeros repetitivos o H7 (b) con siete monómeros (6). Dependiendo del genotipo que presente el individuo tendrá un efecto protector o de riesgo de tener (niveles aumentados del factor)(5). En el caso del FXIII, es un factor que interviene en la fase final de la coagulación, estabilizando el coágulo de fibrina dando una mayor resistencia frente a la fibrinólisis. Todavía, esta bajo discusión, cual es el papel del polimorfismo FXIII Val34Leu, pues para algunos investigadores es un factor protector y otros estudios lo asocian a mayor riesgo de enfermedad cardiovascular y enfermedad tromboembólica (2, 4,7). Recientemente, se ha encontrado que el polimorfismo FXIII Val34Leu determina también la respuesta a diferentes tratamientos como la terapia trombolítica (8).

En el presente estudio se analiza la prevalencia de los polimorfismos del FVII R353Q, FVII IVS7 y del FXIII Val34Leu, los niveles de fibrinógeno y los factores de riesgo clásicos en pacientes con IAM.

MATERIALES Y MÉTODOS

Casos y Controles

Se considera caso a los pacientes que cumplieron con los criterios de IAM, cuyas características por definición: son presencia de onda Q, el cuadro clásico de dolor precordial, asociado a elevación enzimática y la presencia de nuevos cambios electrocardiográficos que fueron admitidos en la Unidad Coronaria del Hospital San Juan de Dios o referidos de otros hospitales para ser estudiados.

Se considera control a los pacientes que no presentaban ninguna patología aparente, de enfermedad cardiovascular. En este grupo se incluyó personal del CIHATA, de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica, del Hospital San Juan de Dios y Hospital de Niños de San José, Costa Rica.

Polimorfismos FVII IVS7, FVII R353Q en el gen del Factor VII y FXIII Val34Leu y su asociación con el riesgo de infarto agudo del miocardio en pacientes costarricenses

Dra. Lizbeth Salazar-Sánchez, Dra. Liliana Chaves, Dr. Juan José Madrigal, Dra. Mayra Cartín B., Dr. Falko H. Herrmann

Todos los participantes accedieron por medio de la fórmula de consentimiento informado, documento que permite la colaboración con este estudio, según las regulaciones institucionales de bioética.

Se recolectó la información sobre características demográficas y la presencia de factores de riesgo clásico para ECV para todos los participantes (casos y controles). Se consideró que el paciente presentaba hipertensión, diabetes mellitus o hipercolesterolemia si recibía la medicación específica para esta (as) condición (es) o si se estableció el diagnóstico de alguna(s) de estas patologías. Se incluyó la información concerniente a la historia familiar Enfermedad Cardiovascular, tabaquismo, consumo de anticonceptivos orales y el índice de la masa corporal (hombres $MIC \leq 26 \text{ kg/m}^2$ y mujeres $\leq 28 \text{ kg/m}^2$).

Criterios de Inclusión

Se incluyeron en el estudio los pacientes que sufrieron IAM y todos los casos controles que firmaron la hoja de consentimiento para participar.

Criterios de Exclusión

Se excluyeron del estudio los pacientes con historia previa de IAM, los que estaban recibiendo algún tratamiento anticoagulante o que sufrían de otra enfermedad concomitante como por ejemplo: síndrome nefrótico, hepatopatías, enfermedades autoinmunes conocidas o procesos infecciosos asociados al IAM.

Muestra Sanguínea

La muestra de sangre venosa de los pacientes y controles fue recolectada en dos tubos uno con citrato de sodio al 0.129M citrato de trisódico (1:10) y otro EDTA-K3 pH 8,0. El primero para obtener el plasma que se utilizó en el análisis del fibrinógeno y el segundo tubo con EDTA-K3 para obtener el ADN FXIII Val34Leu.

En el estudio de los niveles de fibrinógeno se realizó por medio del método descrito por Claus *et al.*, (9) utilizando los reactivos de la casa Stago (Stago, Asnieres, France).

ANÁLISIS DE BIOLOGÍA MOLECULAR

Se extrajo el ADN genómico, y se siguió el método estandarizado de Miller *et al.*, 1988; método de precipitación con NaCl (10).

Para el análisis de los polimorfismos FVII Arg353Gln, FVII IVS 7 y FXIII Val34Leu, se utilizaron para cada uno de los polimorfismos 2 μl del ADN extraído. Para la determinación de la región hipervariable 4 del intron 7 del gen del FVII se utilizó la técnica de amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) descrita previamente por Wulff *et al.* (2000)(11). Los primers usados se obtuvieron según las secuencias descritas por O'Hara *et al.* (1988) (12). El polimorfismo FVII Arg353 Gln en el exon 8 fue analizado por medio de PCR y el producto amplificado se digirió con la enzima *MspI*, según lo descrito por Green *et al.* (1991) (13) y Wulff *et al.* (2000) (11). El polimorfismo del factor XIII Val34Leu, 163G>T, se analizó por medio de la técnica de PCR (Kohler *et al.*, 1998) (7) y heteroduplex, descrita por Wulff *et al.*, 1997 (14).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se analizaron con el programa *Epi.Info 6,4.b* del Centers for Disease Control (CDC) de Atlanta. El equilibrio de Hardy-Weinberg fue obtenido por medio de la prueba de Chi cuadrado (χ^2). Los otros estudios que se realizaron fueron:

- frecuencias simples para describir las variables de más relevancia de la población de casos y controles, comparando los porcentajes y la media para describir los grupos.
- Pruebas de asociación para evaluar la existencia entre la presencia de las variables en la población y los enfermos.

La asociación para las variables cualitativas se evaluó por medio del OR, equivalente al riesgo relativo para los estudios de casos y controles, por lo tanto, se estima la asociación entre un factor de riesgo y las enfermedades mencionadas, se consideró intervalo de confianza, el valor de Chi cuadrado y el valor de $p < 0,05$. Se utilizó la corrección de Yates para los valores menores a 5 en las celdillas.

La asociación para las variables cuantitativas se evaluó por medio de la prueba de ANOVA y Kruskal-Wallis, para datos paramétricos y no paramétricos, respectivamente, en donde se valoró la variancia de los grupos con la prueba de homogeneidad de variancias de Bartlett's como requisito para la asunción de normalidad. Se consideró el intervalo de confianza, el valor de Chi cuadrado y el valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

El promedio de edad de los pacientes fue de 46,2 años (147 hombres/ 39 mujeres), y de los controles fue de 46 años (141 hombres/ 60 mujeres). En la Tabla 1, se presentan las principales características de los casos y controles y de los factores de riesgo clásicos. Se destacan dentro de estos factores: el fumado, obesidad, hipertensión y niveles aumentados de fibrinógeno con significancia estadística.

Tabla 1
Características demográficas y prevalencia de factores de riesgo para la enfermedad coronaria de los grupos estudiados

Variable/ Factor Riesgo	Casos	Controles	Odds Ratio (95% CI)	p
Edad en años	46.2 ± 12.6	45.1 ± 12.3		
Sexo	186	201		
Hombres	147 79.00%	141 70.10%		
Mujeres	39 30.00%	60 29.90%		
IMC (kg/m ²)	25.6 ± 3.9	24.6 ± 3.4		0.016
Fumado, %	184	200		
No	102 55.40%	175 87.50%		
Si	82 44.60%	25 12.50%	5.63(3.29-9.74)	0.000
Fibrinogeno (mg/dl)	371 ± 152	274 ± 66	5.62(3.18-9.99)	0.000
Diabetes mellitus, %	186	201		
No	165 88.70%	195 97.00%		
Si	21 11.30%	6 3.00%	4.14(1.52-11.85)	0.000
Historia Familiar	184	200		
No	116 63.00%	166 83.00%		
Si	68 37.00%	34 17.00%	2.86(1.73-4.76)	0.000
Obesidad, %	152	189		
No	127 83.50%	169 89.40%		
Si	25 16.60%	20 10.60%	2.40(1.46-3.98)	0.000
Hipertension arterial, %	186	200		
No	138 74.20%	174 87.00%		
Si	48 25.80%	26 13.00%	2.33(1.33-4.10)	0.001
Hipercolesterolemia	186	200		
No	154 82.80%	183 91.50%		
Si	32 17.20%	17 8.50%	2.24(1.14-4.41)	0.01
Anticonceptivos orales*	39	59		
No	38 97.40%	56 94.90%		
Si	1 2.60%	3 5.10%	1.82(0.37 - 9.77)	0.408

Edad, IMC y fibrinógeno se expresan como media ± desviación estándar. En las columnas los valores denotan los casos y controles, números y porcentajes del grupo total. Obesidad: ≥ 28 kg/m² en hombres y ≥ 26 kg/m² en mujeres. Contraceptivos orales*: valores solo en mujeres. Odds Ratio, 95%CI denota el intervalo de confianza. **p** es significativo <0.05 .

Polimorfismos FVII IVS7, FVII R353Q en el gen del Factor VII y FXIII Val34Leu y su asociación con el riesgo de infarto agudo del miocardio en pacientes costarricenses

Dra. Lizbeth Salazar-Sánchez, Dra. Liliana Chaves, Dr. Juan José Madrigal, Dra. Mayra Cartín B., Dr. Falko H. Herrmann

PREVALENCIA DE LOS POLIMORFISMOS DE FVII Y FXIII ENTRE CASOS Y CONTROLES

La distribución de los polimorfismos estudiados se encontraron dentro del equilibrio de Hardy-Weinberg equilibrium. En la Tabla 2 se presenta la distribución tanto de los genotipos como la frecuencia alélica de los siguientes polimorfismos: FVII Arg353Gln, de FVII IVS7 y del FXIII Val 34 Leu en ambos grupos. Se observa que el fenotipo Leu/Leu es más frecuente en controles que en los pacientes, y tras el ajuste de factores de riesgo cardiovascular, se demostró que era un factor protector para el desarrollo del IAM.

La frecuencia del alelo mutado Leu y del genotipo homocigoto (Leu/Leu) fue significativamente mayor en los controles que en los casos. El genotipo Leu/Leu se encontró con una prevalencia de 4.60%, la frecuencia alélica de 0.224 y en los controles de 12.20% con una frecuencia alélica de 0.305, $p=0.007$. Por lo que, el alelo Leu se comporta como un factor protector contra el IAM, según el valor del OR 0.66; $p=0.01$.

Tabla 2
Prevalencia de los fenotipos y genotipos de los polimorfismos del FVII y FXIII analizados en los casos y controles

Polimorfismo	casos	controles	Odds ratio (95%CI)	p
FVII IVS 7*				
Aa	21(13,20%)	13(8,2%)		
Ab	69(43,40%)	71(44,7%)		
Bb	69(43,40%)	71(44,7%)	0,60(0,26-1,38)	0,193
FVII R353Q				
RR	130(78,3%)	119(71,7%)		
RQ	35(21,2%)	46(27,7%)		
QQ	1(0,06%)	1(0,6%)	0,81(0,61-1,08)	0,729
FXIII VAL34LEU				
ValVal	104(59,8%)	101(51,9%)		
Val Leu	62(35,6%)	72(36,5%)		
LeuLeu	8(4,6%)	24(12,2%)	0,66(0,47-0,93)	0,01

En relación con los polimorfismos en el FVII, se encontraron en el FVII IVS7, nuevas variantes* (4 y 8 repeticiones), en dos sujetos control de Guanacaste y que se describen por primera vez (Tabla 3), su influencia sobre los niveles del factor FVII está en investigación. Ninguno de los dos polimorfismos del FVII, se encontraron asociados

como factores de riesgo para IAM, como se FVII R353Q $p=0.729$ y FIVS7 $p=0.193$ respectivamente.

CONCLUSIONES

La formación del coágulo de fibrina es un evento importante en la enfermedad cardiovascular. La estructura de este coágulo, cómo y por qué se forma le confiere características que interfieren en la clínica y en la presentación del infarto. El IAM es un desorden vascular aterotrombótico, donde los factores de riesgo ampliamente conocidos se evidencian en el presente estudio tales como: diabetes mellitus, hipertensión, hipercolesterolemia, tabaquismo en la formación de la placa aterosclerótica (1,2). Donde el proceso culmina en la formación de un coágulo rico en fibrina produciendo la oclusión arterial y así el evento agudo coronario. Las herramientas de biología molecular han permitido el estudio de la asociación genética y su influencia en este proceso, vislumbrando una posible explicación de las diferentes presentaciones clínicas de esta enfermedad.

En el presente estudio, se analizan varias etapas del proceso de la coagulación, se valora los niveles de fibrinógeno, los polimorfismos del FVII y del FXIII Val34Leu. Los resultados obtenidos evidencian que los niveles de fibrinógeno se encuentran aumentados en los casos en comparación con los controles (OR=5.62 (3.18-9.99); $p=0.000$). El fibrinógeno es la mayor proteína constituyente del coágulo sanguíneo, es una glicoproteína que circula inactiva. Los valores altos de fibrinógeno han demostrado ser un factor de riesgo, que se considera independiente para la trombosis y enfermedad cardiovascular (2,15). El mismo se incrementa con la presencia de otros factores de riesgo como el fumado, el sedentarismo, el colesterol elevado, la hipertensión, la inflamación y la infección (15, 16,17). Además, la hiperfibrinogenemia afecta la estructura del coágulo y la respuesta a los trombolíticos; por ejemplo el t-PA a pesar de lisar más rápidamente el coágulo de fibrina, tiene una mayor posibilidad de reclusión por el exceso de fibrinógeno, el cual se traduce en pobres resultados de revascularización en comparación a la estreptoquinasa, esta en dosis ordinaria reduce en un 20 % la concentración del fibrinógeno (17,18). De tal manera que para estos pacientes esta sería la terapia más adecuada.

El polimorfismo FVII R353Q, asociado al genotipo RR cursa con niveles aumentados de este factor aumentando el riesgo de Hipercoagulabilidad, similar a la presencia de la variante FVII IVS H6 (B) de otro polimorfismo estudiado (5, 19,20). No se encontró ninguna de estas asociaciones entre los grupos estudiados, pero sí cabe destacar el reporte de dos variantes nuevas, aunque no se puede hacer ninguna correlación clínica.

Tabla 3
Descripción de los arreglos de monómeros del polimorfismo FVII IVS7 y su prevalencia en los casos y controles

Arreglos de los Monómeros del FVII IVS7	Alelo	Frecuencia Alélica	Controles	Casos
	H4	0.003	—	—
	H5	0.100	—	—
	H6	0.673	—	0.651
	H7	0.311	—	0.349
	H8	0.003	—	—

Polimorfismos FVII IVS7, FVII R353Q en el gen del Factor VII y FXIII Val34Leu y su asociación con el riesgo de infarto agudo del miocardio en pacientes costarricenses

Dra. Lizbeth Salazar-Sánchez, Dra. Liliana Chaves, Dr. Juan José Madrigal, Dra. Mayra Cartín B., Dr. Falko H. Herrmann

EL factor XIII activado induce la formación de una red de fibrina compleja y fuerte, que le confiere al coágulo resistencia ante la lisis de la fibrina. Paradójicamente, FXIII Val34Leu, se considera que tiene un papel protector para trombosis tanto venosa como arterial (2). Se ha determinado diferencia entre individuos que presentan esta mutación, específicamente en la estructura de fibrina donde los factores clásicos y genéticos determinan el balance entre estabilidad y susceptibilidad del coágulo ante la fibrinólisis (21). Existe asociación entre la activación del FXIII Leu 34 y el nivel del fibrinógeno, debido a la alteración en la estructura del coágulo, producto del efecto de este polimorfismo, este origina fibras más rápidas, delgadas y con poros más pequeños de permeabilidad más reducida. Las cuales, en presencia de niveles aumentados de fibrinógeno, son inhibidas para la correcta agregación lateral con las fibras de fibrina y se producen coágulos con permeabilidad aumentada, con una estructura más frágil, explicando el efecto protector en los individuos con el genotipo Leu/Leu (17,21). Este aspecto, explicaría porque algunos pacientes no sufren IAM a pesar de que padecen una aterosclerosis coronaria grave.

La presencia de FXIII, Val34 Leu, según la literatura puede variar de 24(45) a 28,8% en caucásicos (22,23), en nuestro caso se presentó en el 22% de los casos y en 30,5% de los controles, según se observa en el cuadro 2.

La terapia trombolítica está establecida de rutina en el tratamiento del paciente con IAM en nuestro país. Pero, se reporta, en la literatura, que existe alrededor de un 40% de los pacientes que no reperfundan (24). Una de las posibles causas de falla de este tratamiento se puede explicar por la presencia FXIII34Val, este polimorfismo, se considera como uno de los factores relevantes, debido a la alteración que produce en el coágulo. Al igual que el nivel aumentado de fibrinógeno, el cual como hemos indicado se encontró asociado como factor de riesgo en el presente estudio.

Los hallazgos obtenidos, permiten señalar dos nuevos factores (FXIII Val34Leu y fibrinógeno), los cuales orientan la selección de una mejor intervención y más adecuada para ciertos pacientes (23,24). Debido a que, según el genotipo del paciente, podría prevenirse la resistencia a la terapia trombolítica y la falla en la reperfundación coronaria en el paciente IAM. Nuestros datos incrementan el interés de recomendar la valoración de este polimorfismo en el IAM, al igual que determinar el nivel de fibrinógeno (se recomendó el uso de estreptoquinasa en lugar de tPA en pacientes con niveles aumentados de fibrinógeno) que fueran sometidos a terapia fibrinolítica. Asimismo, considerar la aplicación de la angioplastia de rescate ante la falla terapéutica.

AGRADECIMIENTOS

Al apoyo del: Instituto de Genética Humana de la Universidad de Ernst-Moritz-Arnd Greifswald, Alemania, a la Oficina de Intercambio Académico (DAAD) y a la Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Costa Rica (Proyecto No 807-A4-307)

BIBLIOGRAFÍA

1. Siscovick DS, Schwartz SM, Rosendaal FR, Psaty BM. Thrombosis in the young: Effect of atherosclerotic risk factors on the risk of myocardial infarction associated with prothrombotic factors. *Thromb Haemost*, 1997; 78: 7-12.
2. Navarro-Lopez F. Bases genéticas de la enfermedad coronaria. *Rev Esp Cardiol* 2002;55 (4):413-31.
3. Domenico G, Carla R, Ferraresi P, Olivieri O, Pinotti M, Friso S, Manzato F, Mazzucco A, Benardi F, Corrocher R. Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*, 2000; 343: 774-780.
4. Franco RF, Pazin-Filho A, Tavella M, Simoes MV, Marin-Neto J, Zago MA. Factor XIII Val34Leu and the risk of myocardial infarction. *Haematologica*, 2000; 85: 67-71.
5. Hunault M, Arbini AA, Lopaciuk S, Carew JA, Bauer KA. The Arg353Gln polymorphism reduces the level of coagulation factor VII. In vivo and in vitro studies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997; 17: 2825-2829.
6. Marchetti G, Gemmati D, Patracchini P, Pinotti M, Bernardi F. PCR detection of a repeat polymorphism within the F7 gene. *Nucleic Acids Res*, 1991; 19: 4570.
7. Kohler HP, Stickland MH, Ossei-Gerning N, Carter A, Mikkola H, Grant PJ. Association of a common polymorphism in the factor XIII gene with myocardial infarction. *Thromb Haemost*, 1998; 79: 8-13.
8. Marin F, Roldan V, Sogot F. Polimorfismo Val34Leu del factor XIII e infarto de miocardio prematuro. *Rev Esp Cardiol*, 2002;55(10):1105-7.
9. Clauss A. Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogen. *Acta Haematol*, 1957; 17: 237-246.
10. Miller M, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, 1988; 16: 121.
11. Wulff K, Ebener U, Wehnert CH-S, Ward PA, Reuner U, Hiebsch W, Herrmann FH, Wehnert M. Direct molecular genetic diagnosis and heterozygote identification in X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy by heteroduplex analysis. *Disease Markers*, 1997; 13: 77-86.
12. O'Hara PJ, Grant FJ. The human factor VII gene is polymorphic due to variation in repeat copy number in a minisatellite. *Gene*, 1988; 66: 147-158.
13. Green F, Kelleher C, Wilkes H, Temple A, Meade T, Humphries S. A common genetic polymorphism associated with lower coagulation factor VII level in healthy individuals. *Arterioscler Thromb*, 1991; 11: 540-546.
14. Wulff K, Ebener U, Wehnert CH-S, Ward PA, Reuner U, Hiebsch W, Herrmann FH, Wehnert M. Direct molecular genetic diagnosis and heterozygote identification in X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy by heteroduplex analysis. *Disease Markers*, 1997; 13: 77-86.
15. Kannel WB, Wolf PA, Castelli WP, D'Agostino RB. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease: The Framingham study. *JAMA*, 1987; 258: 1183-1186.
16. Baker IA, Pickering J, Elwood PC, Bayer A, Ebrahim S. Fibrinogen, viscosity and white blood cell count predict myocardial, but not cerebral infarction: evidence from the Caerphilly and Speedwell Cohort. *Thromb Haemost*, 2002; 87: 421-425.
17. Scott ME, Ariens RAS, Grant PJ. Genetic and environmental determinants of fibrin structure and function. *Arterioscler ThrombVasc Biol*, 2004; 24: 15-58.
18. Topol EJ. Intervención trombolítica. En: *Cardiología intervencionista*. 3ra ed. Mexico: Mc Graw-Hill Interamericana. 2000 p. 95-97.

Polimorfismos FVII IVS7, FVII R353Q en el gen del Factor VII y FXIII Val34Leu y su asociación con el riesgo de infarto agudo del miocardio en pacientes costarricenses

Dra. Lizbeth Salazar-Sánchez, Dra. Liliana Chaves, Dr. Juan José Madrigal, Dra. Mayra Cartín B., Dr. Falko H. Herrmann

19. Iacoviello L, Di Castelnuovo A, De Knijff P, D'Orazio A, Amore C, Arboretti R, Klufft C, Donati MB. Polymorphisms in the coagulation factor VII gene and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med*, 1998; 338: 79-85.
20. Feng D, Tofler GH, Larson MG, O'Donnell CJ, Lipinska I, Schmitz C, Sutherland PA, Johnstone MT, Muller JE, D'Agostino RB, Levy D, Lindpaintner K. Factor VII gene polymorphism, factor VII levels, and prevalent cardiovascular disease. The Framingham Heart study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000; 20: 593-599.
21. Trumbo TA, Maurer MC. Examining thrombin hydrolysis of the factor XIII activation peptide segment leads to a proposal for explaining the cardioprotective effects observed with the factor XIII V34L mutation. *J Biol Chem*, 2000; 275: 20627-20631.
22. Ospino N, Diaz F, Blanco S, Contreras F. Efecto del polimorfismo FXIII Val34Leu sobre terapia trombolítica en pacientes con infarto agudo del miocardio con elevación de ST. *Rev. Digit. Postgrado* 2012; 1(1):41-49.
23. Zoltan V, Zsuyanna B, Eva K, Roza A, Laslo M. Factor XIII A subunit Leu34 homozygous patients with coronary artery disease. *Thromb Res*. 2008; 121,469-476.
24. Marin F, Gonzalez-Conejero R, Lee KW, Corral J, Roldan V, Lopez F, Sogorb F, Caturla J, Lip Gy, Vicente V. A pharmacogenetic effect of factor XIII valine leucine polymorphism on fibrinolytic therapy for acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2005; 4:45(1):25-29.