

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA**  
**Departamento de Medicina**

**Polimorfismo R353Q del factor VII y riesgo  
cardiovascular en pacientes con  
Hipercolesterolemia Familiar**

Trabajo presentado por Juan Criado García, licenciado en Medicina y Cirugía,  
para optar al grado de Doctor

**Firmado: Juan Criado García**  
**Córdoba, 9 Noviembre de 2011**

TÍTULO: *Polimorfismo R353Q del factor VII y riesgo cardiovascular  
en pacientes con Hipercolesterolemia Familiar*

AUTOR: *Juan Criado García*

---

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2012  
Campus de Rabanales  
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A  
14071 Córdoba

[www.uco.es/publicaciones](http://www.uco.es/publicaciones)  
[publicaciones@uco.es](mailto:publicaciones@uco.es)

---





**TÍTULO DE LA TESIS: Polimorfismo R353Q del factor VII y riesgo cardiovascular en pacientes con Hipercolesterolemia Familiar.**

**DOCTORANDO/A: Juan Criado García**

**INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS**

El trabajo titulado “Polimorfismo R353Q del factor VII y riesgo cardiovascular en pacientes con Hipercolesterolemia Familiar” ha sido realizado de manera satisfactoria por D. Juan Criado García bajo nuestra dirección en la Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis del Hospital Universitario Reina Sofía/Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC), en el periodo correspondiente a los años 2007-2011.

Se trata de un estudio de casos-controles en una población de Hipercolesterolemia Familiar (HF) obtenida de la Cohorte Española de Hipercolesterolemia Familiar ([www.cholesterolfamiliar.com](http://www.cholesterolfamiliar.com)). La cohorte de pacientes con HF se creó con el objetivo de desarrollar un programa de seguimiento y evaluación periódica a largo plazo de familias con este diagnóstico lo que permitiría estudiar el riesgo (pronóstico) y la supervivencia en función de las características sociodemográficas, clínicas (fenotípicas) y genotípicas de los pacientes. Se planteó el estudio de la posible relación de la HF y el factor VII de la coagulación a raíz de los hallazgos de múltiples trabajos donde se estudia la asociación entre dicho factor y el riesgo cardiovascular. Las determinaciones genéticas relativas al FVII y a sus niveles fueron realizadas en los laboratorios de nuestra unidad, con los posteriores estudios estadísticos correspondientes y la redacción del texto de la tesis, desarrollándose sin incidencias en los plazos fijados y alcanzando los objetivos planteados.

En este tiempo, parte de los resultados preliminares han sido presentados públicamente en congresos nacionales de la especialidad. Destacar además que este trabajo ha conseguido un nivel científico de suficiente relevancia como para derivar en la publicación de un artículo en una revista de impacto, *Lipids in Health and Disease*, con un índice de impacto de 2.24:

**Criado-Garcia J**, Fuentes F, Cruz-Teno C, Garcia-Rios A, Jimenez-Morales A, Delgado-Lista J, Mata P, Alonso R, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez F. **R353Q polymorphism in the factor VII gene and cardiovascular risk in Heterozygous Familial Hypercholesterolemia: a case-control study.** *Lipids Health Dis.* 2011 Apr 9;10:50.

A nuestro juicio reúne los méritos suficientes para ser defendido ante el tribunal correspondiente y poder optar al grado de Doctor.

Por todo ello se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Cordoba, 9 de NOVIEMBRE de 2011

Firma del/de los director/es

Fdo.: DR. FRANCISCO FUENTES JIMÉNEZ

Fdo.: DR. JOSÉ LÓPEZ MIRANDA

A Anabel.



# AGRADECIMIENTOS

Esta tesis doctoral no habría sido posible sin el apoyo fundamental de una serie de personas a las que quiero expresar mi más sincero agradecimiento.

A los **doctores D. Francisco José Fuentes Jiménez y D. José López Miranda**, directores de esta tesis y estímulo continuo cuando el peso de las horas, los días y las semanas de trabajo científico hacían merma en mi ánimo. Por creer en mí pese a todo.

Al **Profesor Dr. D. Francisco Pérez Jiménez**, por su ejemplo a la hora de conseguir la excelencia y por esa reflexión crítica y acertada que debe aplicarse a todo lo que nos rodea.

A **Cristina Cruz Teno**, trabajadora incansable, profesional en cualquier aspecto en el que se involucra, siempre con la mejor de las ilusiones y de las intenciones. Por su apoyo continuo, su cariño y sus horas de tiempo. No lo olvidaré nunca.

A la **Dra. Elisa Muñoz Gomariz**, por su ayuda inestimable en esa escalera *escheriana* que puede llegar a ser una ciencia matemática. Gracias.

A **Anabel Jiménez Morales**, el sentido de mi vida, mi apoyo sin condiciones. Por dejarlo todo en su día y apostar por mí, por enseñarme que las cosas si no se hacen bien no merecen la pena y que en ellas reflejamos lo que somos en realidad. Por empujarme a terminar esta tesis.

Al **Dr. Juan Ruano Ruiz**, por su enseñanza, su estímulo, su crítica, su inconformidad. Por cuidar, apoyar y formar a quien más quiero.

A **mis padres**, por haber hecho de mí lo que soy, por mostrarme los caminos y dejarme elegir.



A la **Dra. Angeles Blanco Molina**, por aquellos primeros pasos.

A todos los **residentes de Medicina Interna** del Hospital Universitario Reina Sofía, porque, casi sin saberlo, han sido empuje y estímulo para finalizar este proyecto.

A **mis compañeros** de trabajo del día a día en la Unidad de Medicina Interna, porque a lo largo de estos años se han convertido en una segunda familia.

A la **Fundación Española de Hipercolesterolemia Familiar** y a todos los **centros, pacientes y familias** que con su participación han hecho posible este proyecto.

A mis hermanos **Javier, Inés y José María**, por enseñarme la vida de tantas otras maneras, por abrirme los ojos.

A **Aquiles y Cristina**, por cuidar de esa parte de mi vida tanto o más importante que la médica.

A todos, gracias.





# ÍNDICE



<b>RESUMEN</b>	<b>19</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>23</b>
<b>Hipercolesterolemia Familiar</b>	<b>25</b>
1. Concepto y generalidades	25
2. Epidemiología	26
3. Mecanismos fisiopatológicos	28
3.1 Metabolismo celular del colesterol	28
3.2 El defecto metabólico y celular	29
4. Causas genéticas del fenotipo de la Hipercolesterolemia Familiar	32
4.1 Mutaciones en el receptor de LDL	32
4.2 Defecto familiar de unión de apolipoproteína B	34
4.3 Hipercolesterolemia autosómica recesiva	36
4.4 Mutación en PCSK9	38
4.5 Otros genes involucrados	39
5. Aspectos clínicos	39
6. Criterios diagnósticos	43
7. Hipercolesterolemia familiar y riesgo cardiovascular	47
7.1 Factores de riesgo para enfermedad cardiovascular	49
7.2 Xantomas y riesgo cardiovascular	53
8. Terapéutica de la Hipercolesterolemia Familiar	57
8.1 Objetivos y evaluación del riesgo cardiovascular	57
8.2 Medidas dietéticas y modificaciones del estilo de vida	59
8.3 Farmacoterapia	60
8.4 Otros tratamientos	63

<b>Factor VII de la coagulación</b>	<b>64</b>
1. Hemostasia: generalidades	64
2. Sistema de la coagulación	64
2.1 Vía extrínseca	66
3. Caracterización del factor VII	67
3.1 Genómica del factor VII	67
3.2 Proteómica del factor VII	68
3.3 Variaciones genéticas del factor VII	72
4. Factor VII y riesgo cardiovascular	75
5. Polimorfismos del factor VII y riesgo cardiovascular	83
5.1 Polimorfismo 5'F7A1/A2	83
5.2 Polimorfismo IVS7	85
5.3 Polimorfismo R353Q	86
<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	<b>93</b>
A. Objetivo principal	96
B. Objetivos secundarios	96
<b>DISEÑO Y METODOLOGÍA</b>	<b>97</b>
1. Cohorte Española de Hipercolesterolemia Familiar	99
1.1 Funciones de las Unidades de Lípidos	99
1.1.1 Funciones del Centro Coordinador	100
1.1.2 Funciones de las Unidades de Lípidos	101
1.2 Descripción de las visitas	102
1.2.1 Funciones durante la primera visita	103
1.2.2 Funciones durante la segunda visita	104
2. Población a estudio	106
2.1 Proceso de selección de los participantes	106

2.2	Criterios de inclusión	107
2.3	Criterios de exclusión	107
3.	Diseño del estudio	108
3.1	Cálculo del tamaño muestral	108
3.2	Características del estudio	109
4.	Determinaciones analíticas	110
4.1	Extracción y almacenamiento de las muestras de sangre	110
4.2	Determinaciones bioquímica básicas	111
4.3	Cuantificación de LDL-oxidada y lipoperóxidos	112
4.4	Determinación de los niveles de factor VII	114
5.	Análisis genético	114
5.1	Aislamiento de ADN	114
5.2	Genotipaje del polimorfismo R353Q	115
6.	Análisis estadístico	119
7.	Referencias bibliográficas	120
	<b>RESULTADOS</b>	<b>121</b>
1.	Características basales de la población a estudio	123
2.	Enfermedad cardiovascular	125
3.	Polimorfismo R353Q del factor VII	127
3.1	Frecuencia alélica	128
3.2	Análisis por subgrupos	129
4.	Polimorfismo R353Q y riesgo cardiovascular en pacientes con Hipercolesterolemia Familiar	130
4.1	Análisis univariante	130
4.1.1	Enfermedad cardiovascular global	130
4.1.2	Enfermedad arterial coronaria	131
4.1.3	Enfermedad arterial periférica	132
4.1.4	Enfermedad arterial cerebrovascular	133



4.2	Análisis de regresión multivariante	134
4.2.1	Enfermedad cardiovascular global	134
4.2.2	Enfermedad arterial coronaria	136
4.2.3	Enfermedad arterial periférica	137
5.	Niveles de factor VII	138
5.1	Niveles de factor VII en función del genotipo en casos y controles	139
5.2	Niveles de factor VII y enfermedad cardiovascular en pacientes con Hipercolesterolemia Familiar	140
6.	Polimorfismo R353Q e índice de masa corporal	142
7.	Polimorfismo R353Q y perfil lipídico	143
	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>145</b>
	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>157</b>
	A. Conclusión principal	159
	B. Conclusiones secundarias	159
	<b>ABREVIATURAS</b>	<b>161</b>
	<b>ARTÍCULOS DERIVADOS DE LA TESIS</b>	<b>167</b>

# RESUMEN



**Introducción:** La Hipercolesterolemia Familiar (HF) es un trastorno genético del metabolismo lipídico caracterizado por un elevado riesgo de enfermedad cardiovascular. El estudio de los mecanismos que promueven el desarrollo del mismo resulta de gran interés, dada la gran variabilidad tanto de la presentación clínica como de la respuesta terapéutica de este trastorno.

**Hipótesis de trabajo:** Determinados polimorfismos del gen del factor VII (FVII) de la coagulación han sido relacionados con el desarrollo de enfermedad cardiovascular. Además es conocida la relación entre los niveles de FVII y ciertas variantes polimórficas de este gen. Hasta la fecha ningún estudio ha relacionado el FVII y el riesgo cardiovascular en pacientes con HF.

**Objetivo principal:** Determinar si el polimorfismo R353Q (rs6046) FVII de la coagulación predice la incidencia de enfermedad cardiovascular en una cohorte de HF, para lo cual se estudiaron pacientes afectados (casos) y no afectados (controles) de HF heterocigota con y sin enfermedad cardiovascular.

**Objetivos secundarios:** Analizar la distribución genotípica del polimorfismo R353Q y los niveles plasmáticos de FVII. Valorar la posible relación entre los distintos genotipos, los niveles de FVII y la enfermedad cardiovascular en pacientes con HF. Estudiar el índice de masa corporal y los parámetros lipídicos (cLDL, cHDL, triglicéridos) y su posible relación con los distintos genotipos.

**Población, diseño y metodología:** Estudio de casos-controles donde se analizaron 720 sujetos (546 con HF y 174 controles). Se determinó la prevalencia y frecuencia alélica del polimorfismo R353Q del FVII y los niveles plasmáticos del FVII, analizándose si podrían ser predictores de riesgo cardiovascular.

**Resultados:** No se encontraron diferencias significativas en la distribución de los genotipos y en la frecuencia alélica entre los casos (HF) y los controles. Similares resultados se obtuvieron en relación a los niveles de FVII. En el subgrupo de pacientes con HF no existió relación entre la enfermedad cardiovascular, los genotipos y los niveles de FVII. No se encontraron variaciones en cuanto al índice de masa corporal y los parámetros lipídicos dependiendo del genotipo en ambos grupos.

**Conclusiones:** El polimorfismo R353Q (rs6046) del gen del FVII, su frecuencia alélica y los niveles plasmáticos de FVII no se relacionan directamente con la incidencia de enfermedad cardiovascular en pacientes con HF.

*Este trabajo carece de conflicto de interés.*

# INTRODUCCIÓN



## HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

### 1. Concepto y generalidades.

La Hipercolesterolemia Familiar (HF) es un trastorno monogénico del metabolismo lipídico de transmisión autosómica codominante, caracterizado por la presencia de altas concentraciones plasmáticas de colesterol vehiculado en lipoproteínas de baja densidad (cLDL), arcos corneales, xantomas tendinosos generalmente en el tendón de Aquiles y una alta incidencia de enfermedad cardiovascular precoz, fundamentalmente a nivel coronario.<sup>1</sup> Se produce por mutaciones genéticas en la superficie celular del receptor que reconoce y transporta al interior celular las LDL del plasma, lo que conlleva que, en su variante heterocigota, las concentraciones plasmáticas de colesterol oscilen entre 200 y 400 mg/dl<sup>2</sup>.

La HF no tratada acorta la esperanza de vida en una media de 25 años con respecto a la población general, por lo que la identificación de estos pacientes a edades tempranas y su tratamiento adecuado con dieta y fármacos resulta fundamental.

El estudio de los mecanismos que pueden estar involucrados en la HF es un verdadero reto, dada la variabilidad tanto clínica como de respuesta terapéutica que caracteriza a esta enfermedad. Además no todos los pacientes diagnosticados presentan sintomatología por lo que el conocimiento de los

---

<sup>1</sup> Carmena R, Real JT, Ascaso JF. Hipercolesterolemias primarias: hipercolesterolemia familiar, defecto familiar de apo B-100 e hipercolesterolemia poligénica. En: Carmena R, Ordovás JM, editores. Hiperlipemias: clínica y tratamiento. Barcelona: Ediciones Doyma S.A., 1990;p85-97.

<sup>2</sup> Soutar AK, Naoumova RP. Mechanisms of disease: genetic causes of familial hypercholesterolemia. Nat Clin Pract Cardiovasc Med. 2007;4:214-25. Review.



factores que determinan que algunos pacientes no desarrollen enfermedad cardiovascular resulta de gran utilidad para poder evaluar el riesgo y adoptar medidas preventivas.

## 2. Epidemiología.

En 1938 Müller describió por primera vez la HF como un error hereditario en el metabolismo que implicaba la aparición de xantomas tendinosos, la elevación en el colesterol plasmático y el desarrollo de infartos agudos de miocardio en pacientes jóvenes.<sup>3</sup> Más tarde Kachadurian definió las características clínicas y genéticas de la enfermedad y diferenció en familias libanesas afectadas,<sup>4</sup> la forma homocigota, con niveles de colesterol que superaban hasta en cuatro veces los niveles normales, y la heterocigota, con concentraciones superiores al doble. Goldstein y Brown<sup>5</sup> estudiaron el receptor de las LDL (RLDL) y relacionaron la HF con defectos en esta proteína. Finalmente en 1983, el ADN de este gen fue clonado<sup>6</sup> y determinado como 19p13.1-13-3 y en la actualidad más de 1.000 mutaciones han sido identificadas como causantes de HF.<sup>7</sup>

La frecuencia de la HF heterocigota se estima en 1/500 en la mayoría de las poblaciones (Europa, América del Norte y Japón), frente a la de 1/1.000.000

---

<sup>3</sup> Müller C. Xanthomata, hypercholesterolemia and angina pectoris. *Acta Med Scand* 1938;89:75-84.

<sup>4</sup> Kachadurian AK. The inheritance of essential familial hypercholesterolemia. *Am J Med* 1964;37:402-7.

<sup>5</sup> Brown MS, Goldstein JL. Analysis of a mutant strain of human fibroblasts with a defect in the internalization of receptor bound low density lipoprotein. *Cell* 1976; 9:663-74.

<sup>6</sup> Russell DW, Yamamoto T, Schneider WJ, Slauther CJ, Brown MS, Goldstein JL. C-DNA cloning of the bovine low density lipoprotein receptor: feedback regulation of a receptor mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80:7501-5.

<sup>7</sup> Goldberg AC, Hopkins PN, Toth PP, et al. Familial Hypercholesterolemia: Screening, diagnosis and management of pediatric and adult patients. Clinical guidance from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Lipid* 2011;5:133-40.

de la homocigota.<sup>8</sup> Sin embargo algunas poblaciones como los Francocanadienses, los africanos en África del Sur o los Libaneses tienen una mayor prevalencia debido al efecto fundador. Se estima que existen unos 10 millones de personas con HF en todo el mundo. De estos, y según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), menos del 10% están diagnosticados y menos del 25% son tratados con fármacos que disminuyan las concentraciones de cLDL.<sup>9</sup> Tomando como base la cifra de 1/500 en España hay aproximadamente 80.000 personas afectas de HF.

La HF es un problema de salud mundial debido a la alta incidencia de enfermedad cardiovascular precoz (< 55 años en hombres y < 65 años en mujeres), fundamentalmente enfermedad coronaria, y la reducción en la expectativa de vida observada en muchas familias con HF.<sup>10</sup> Aproximadamente el 85 % de los hombres y el 50 % de las mujeres sufrirán un evento coronario antes de los 65 años si no son tratados.<sup>11, 12</sup>

Los pacientes con HF heterocigota tienen hipercolesterolemia desde el nacimiento, aunque la enfermedad a menudo no se detecta hasta la edad adulta, habitualmente por la búsqueda de hipercolesterolemia en los estudios de detección sistemáticos o la aparición de sus complicaciones, fundamentalmente la cardiopatía isquémica. Puesto que la enfermedad es codominante en su herencia y tiene una penetrancia casi del 100%, un

---

<sup>8</sup> Goldstein JL, Hobbs HH, Brown Ms. Familial Hypercholesterolemia. En Valle D, Scriver CR, Beaudet A, Sly WS Childs B, Kinzler KW Volsgestein B, editors. The metabolic and molecular bases of inherited disease. New York: McGraw Hill 2001; p 2963-923.

<sup>9</sup> WHO. Human Genetic Program. Familial Hypercholesterolemia, report of a WHO consultation. WHO/HGN/FH/CONS/98.7. Paris, October 1997.

<sup>10</sup> Scientific Steering Comité (SCC) on behalf of the Simon Broome Register Group. Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolemia. BMJ 1991;303:983-896.

<sup>11</sup> Hill JS, Hayden MR, Frohlich J, Pritchard PH. Genetic and environmental factors affecting the incidence of coronary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolemia. Arterioscler Thromb 1991;11:290-97.

<sup>12</sup> Alonso R, Castillo S, Civeira F, et al. Heterozygous familial hypercholesterolemia in Spain. Description of 819 non related cases. Med Clin (Barc) 2002;118:487-92.

progenitor y alrededor del 50% de los hermanos del paciente por lo general tendrán hipercolesterolemia. El antecedente familiar suele ser positivo para enfermedad coronaria en una rama de la familia, sobre todo entre los parientes del sexo masculino.

### **3. Mecanismos fisiopatológicos.**

#### **3.1 Metabolismo celular del colesterol.**

El colesterol es un componente esencial de las membranas celulares pero también es utilizado por los hepatocitos y enterocitos para la producción de lipoproteínas. El hepatocito además secreta bilis que contiene colesterol y ácidos biliares derivados del mismo. Las células adrenales y gonadales sintetizan hormonas corticoesteroides derivadas del colesterol. Todas las células nucleadas pueden sintetizar las enzimas necesarias para la producción de colesterol. Esta vía sintética produce colesterol así como otros productos isoprénicos involucrados en la prenilación de proteínas y en la síntesis de ubiquinona. La enzima limitante en esta vía es la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa. El producto de la HMG-CoA reductasa, el ácido mevalónico, aparece en el plasma y orina y puede utilizarse a modo de guía de la actividad de síntesis de colesterol. Las concentraciones plasmáticas de mevalonato varían siguiendo un ritmo diurno con la mayor tasa de síntesis en las primeras horas de la mañana.<sup>13</sup>

---

<sup>13</sup> Marais AD. Familial Hypercholesterolaemia. Clin Biochem Rev 2004;25:49-68.

### 3.2 El defecto metabólico y celular.

El mecanismo que inicialmente se relacionó como causa subyacente de la HF fue la sobreproducción de colesterol, pero determinaciones posteriores en el metabolismo corporal global de la LDL demostraron que la fracción catabólica de la LDL era menor en pacientes con HF que en sujetos sanos.<sup>14</sup> Esta diferencia se debía a un defecto en el mecanismo de aclaramiento más que en un defecto propio de la LDL, y no estaba causado por la saturación de los mecanismos normales ante las altas concentraciones séricas de LDL presentes en los individuos con HF.<sup>15</sup> Así pues se estableció la base para la identificación del defecto genético en la HF por Brown y Goldstein, con el descubrimiento del RLDL<sup>16,17</sup> (**figura 1**, de Soutar et al<sup>18</sup>).

Estos investigadores encontraron que la síntesis de colesterol se encontraba aumentada incluso en cultivos de fibroblastos de pacientes con HF pero como resultado de la alteración en la capacidad de regulación que ocurre con normalidad cuando las células son incubadas en suero. Demostraron que la LDL del suero era el componente específico responsable de este aumento pero que, mientras la síntesis de colesterol en células de HF no se afectaba en la incubación con LDL, sí que se reducía en la incubación con colesterol puro que, a diferencia de la LDL, podía entrar a la célula por simple difusión. Dedujeron

---

<sup>14</sup> Langer, Strober W, Levy RI. The metabolism of low density lipoprotein in familial type II hyperlipoproteinemia. *J Clin Invest* 1972; 51:1528-36.

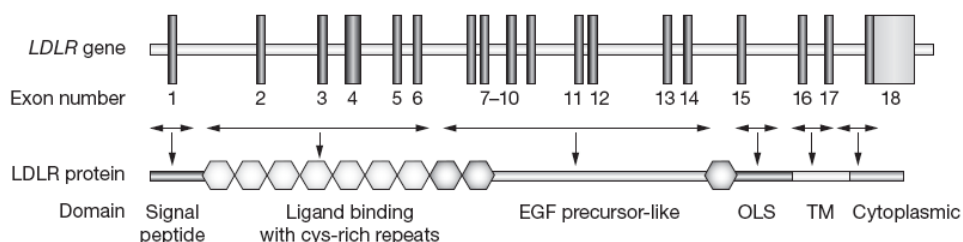
<sup>15</sup> Thompson GR, Spinks T, Ranicar A, Myant NB. Non-steady-state studies of low-density-lipoprotein turnover in familial hypercholesterolaemia. *Clin Sci Mol Med* 1997;52:361-69.

<sup>16</sup> Goldstein JL and Brown MS. Familial hypercholesterolemia: identification of a defect in the regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity associated with overproduction of cholesterol. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973;70:2084-88.

<sup>17</sup> Brown MS and Goldstein JL. Familial hypercholesterolemia: defective binding of lipoproteins to cultured fibroblasts associated with impaired regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974;71:788-92.

<sup>18</sup> Soutar AK, Naoumova RP. Mechanism of disease: genetic causes of familial hypercholesterolemia. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007;4:214-25. Review.

que el defecto en las células de HF debía ser la ausencia de un receptor de alta afinidad para reconocer la LDL sérica.



**Figura 1: Gen del LDLR.** Los exones se muestran como barras verticales numeradas. Los exones únicos o agrupados (indicados mediante flechas horizontales) codifican los distintos dominios de la proteína del LDLR. El dominio citoplasmático contiene el péptido NPVY motif necesario para la internalización del receptor. Tomado de Soutar AK et al. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007;4:214-25.

Brown and Goldstein caracterizaron en detalle la vía del LDLR, permitiendo la identificación posterior de otros defectos genéticos que causaban disfunción en el LDLR.<sup>19</sup> Con la purificación de la proteína del LDLR<sup>20</sup> y la elevación de anticuerpo anti-receptor LDL<sup>21</sup> confirmaron que múltiples mutaciones causaban la HF.<sup>22</sup> Los defectos en la función del LDLR se clasificaron en 5 grupos:<sup>23</sup>

<sup>19</sup> Browns MS and Goldstein JL. A receptor mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986;232:34-7.

<sup>20</sup> Schneider WJ, Beisiegel U, Goldstein JL, Brown MS. Purification of the low density lipoprotein receptor, an acidic glycoprotein of 164,000 molecular weight. *J Biol Chem* 1982;257:2664-73.

<sup>21</sup> Beisiegel U, Schneider WJ, Goldstein JL, Anderson RG, Brown MS. Monoclonal antibodies to the low density lipoprotein receptor as probes for study of receptor-mediated endocytosis and the genetics of familial hypercholesterolemia. *J Biol Chem* 1981;256:11923-31.

<sup>22</sup> Tolleshaug H, Goldstein JL, Schneider WJ, Brown MS. Posttranslational processing of the LDL receptor and its genetic disruption in familial hypercholesterolemia. *Cell* 1982;30:715-24.

<sup>23</sup> Hobbs HH, Russell DW, Brown MS, Goldstein JL. The LDL receptor locus in familial hypercholesterolemia: mutational analysis of a membrane protein. *Annu Rev Genet* 1990;24:133-70.

- Defectos de ligando.
- Defectos en el transporte.
- Defectos en la internalización.
- Defectos de reciclaje.
- Ausencia de proteína (*null*).

Finalmente se clonó el gen del RLDL<sup>24,25</sup> confirmándose la identidad de la primera mutación que resultaba en el defecto funcional del RLDL en la HF.<sup>26</sup> La secuenciación del gen permitió la predicción de la presencia de diferentes dominios en la proteína, cada uno codificado por exones o grupos de exones separados entre sí y frecuentemente parecidos a partes de otras proteínas, aparentemente no relacionadas, sugiriendo que el receptor podría desarrollarse arrastrando exones de otros genes.<sup>27</sup> Aunque resultó relativamente fácil la demostración en células cultivadas de la actividad del RLDL en el mantenimiento de la homeostasis del colesterol intracelular, en la actualidad desentrañar los mecanismos precisos requiere nuevos y detallados aspectos sobre la biología molecular del RLDL.<sup>21,27</sup>

---

<sup>24</sup> Yamamoto T, Davis CG, Brown MS, et al. The human LDL receptor: a cysteine-rich protein with multiple Alu sequences in its mRNA. *Cell* 1984;39:27-38.

<sup>25</sup> Sudhof TC, Goldstein JL, Brown MS, Russell DW. The LDL receptor gene: a mosaic of exons shared with different proteins. *Science* 1985; 228:815-22.

<sup>26</sup> Lehrman MA, Schneider WJ, Sudhof TC, Brown MS, Goldstein JL, Russell DW. Mutation in LDL receptor: Alu-Alu recombination deletes exons encoding transmembrane and cytoplasmic domains. *Science* 1985;227:140-6.

<sup>27</sup> Yang T. Crucial step in cholesterol homeostasis: sterols promote binding of SCAP to INSIG-1, a membrane protein that facilitates retention of SREBPs in ER. *Cell* 2002; 110:489-500.

#### 4. Causas genéticas del fenotipo de la HF.

##### 4.1 Mutaciones en el RLDL.

El análisis de la proteína del RLDL celular ha mostrado que las mutaciones causantes de la HF en distintos sujetos deben ser heterogéneas,<sup>24,25</sup> siendo el número de mutaciones diferentes identificadas hasta la fecha interminable. En la actualidad las bases de datos de mutaciones en el RLDL superan las 1500 mutaciones diferentes.<sup>28, 29,30</sup> Los primeros defectos en el RLDL analizados fueron grandes delecciones identificadas mediante Southern blot.<sup>24</sup> Posteriormente cientos de mutaciones han sido identificadas en pacientes con HF de todo el mundo, incluyendo grandes reorganizaciones, codones prematuros de stop, sustituciones simples de aminoácidos, mutaciones en la región del gen promotor que afecta a la transcripción genética y mutaciones que afectan al ensamblaje del ARN pre-mensajero.<sup>28,29</sup> Mucha información se ha obtenido sobre la estructura y función del RLDL a partir del efecto de sustituciones concretas de aminoácidos en las propiedades del receptor alterado en cultivos celulares. Así pues la primera mutación puntual en ser identificada se encontraba en la región codificante del citoplasma dominante de la proteína<sup>31</sup>, de manera que el receptor proteico, aparentemente normal, era

---

<sup>28</sup> Heath KE, Gahan M, Wittall MA, Humphries SE. Low-density lipoprotein receptor (LDLR) world-wide website in familial hypercholesterolaemia: update, new features and mutation analysis. *Atherosclerosis* 2001;154:243-46.

<sup>29</sup> Villegier L, Abifadel M, Allard D, et al. The UMD-LDLR database: additions to the software and 490 new entries to the database. *Hum Mutat* 2002;20:81-7.

<sup>30</sup> Goldberg AC, Hopkins PN, Toth PP, et al. Familial Hypercholesterolemia: Screening, diagnosis and management of pediatric and adult patients. Clinical guidance from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Lipid* 2011;5:133-0.

<sup>31</sup> Davis CG, Lehrman MA, Russell DW, Anderson RG, Brown MS, Goldstein JL. The J.D. mutation in familial hypercholesterolemia: amino acid substitution in cytoplasmic domain impedes internalization of LDL receptors. *Cell* 1986;45:15-24.

incapaz de ser transportado al interior desde la membrana celular, descubrimiento que permitió analizar el papel del péptido NPVY en la endocitosis del RLDL. Las mutaciones en el RLDL que afectan a su función se extienden ampliamente a lo largo de su gen y casi cada sustitución de aminoácido simple detectada conlleva un defecto deletéreo asociado, incluso se han secuenciado tantos alelos “normales” como disfuncionantes en el análisis de los pacientes con HF. Aún así existen notables excepciones,<sup>32, 33</sup> siendo uno de los problemas de la rápida y fácil secuenciación el que ciertas variaciones secuenciales aparecen en las bases de datos como mutaciones deletéreas, cuando su estructura y función aún se mantiene cuestionada. El RLDL mutado debería estar expresado en células *in vitro* heterólogas y su actividad comparada con actividad normal predeterminada. Generalmente la ausencia de una variante en un gran número de sujetos normolipidémicos, su *co segregación* con niveles de colesterol elevados en las familias de los pacientes, y la conservación del residuo del aminoácido afectado en los receptores LDL de muchas especies, junto a la naturaleza propia de la sustitución del aminoácido, conllevan suficiente evidencia de que es patológica. Codones de *stop* prematuros o sustituciones de residuos cisteínicos siempre resultan en una proteína no funcionante, al igual que hacen las grandes reorganizaciones de genes. Las variantes que podrían afectar al ensamblaje son más difíciles de evaluar.<sup>34</sup> Las sustituciones de bases en el punto exacto de unión adyacente a

---

<sup>32</sup> Lombardi P. The T705I mutation of the low density lipoprotein receptor gene (FH Paris-9) does not cause familial hypercholesterolemia. *Hum Genet* 1997; 99:106-7.

<sup>33</sup> Naoumova RP, Neuwirth C, Pottinger B, Whittal R, Humphries SE, Soutar AK. Genetic diagnosis of familial hypercholesterolaemia: a mutation and rare non-pathogenic amino acid variant in the same family. *Atherosclerosis* 2004;174:69-71.

<sup>34</sup> Amsellen S, Briffaut D, Carrié A, et al. Intronic mutations outside of Alu-repeat-rich domains of the LDL receptor gene are a cause of familial hypercholesterolemia. *Human Genet* 2002;11:501-10.



un axón también afectan casi siempre al ensamblaje,<sup>35</sup> pero existen variaciones que también deben ser tenidas en cuenta.<sup>36</sup>

#### 4.2 Defecto familiar de unión de apolipoproteína B.

En los años 80 Grundy et al observaron que el recambio del cLDL estaba disminuido en algunos pacientes hipercolesterolémicos que no tenían todos los criterios de HF heterocigota.<sup>37</sup> Junto a Innerarity et al demostraron que en algunos casos estos hallazgos se debían a un defecto heredado en la capacidad de la LDL del paciente para unirse al RLDL.<sup>38</sup> Esta unión ocurre a través del exclusivo componente proteico de la LDL, la apolipoproteína B (apo-B), pero no se sabía si el defecto se encontraba en la apo-B o si las diferencias en la composición lipídica de la LDL afectaban a la afinidad para unirse. Encontrar el defecto molecular no resultó fácil debido al gran tamaño y a la naturaleza polimórfica de la apo-B y la heterogeneidad de las partículas lipídicas del cLDL. Finalmente una mutación puntual en el gen de la apo-B (APOB) se identificó como la causante de la sustitución de un aminoácido de Arg3500 por glutamina (Arg3500Gln) en el dominio de unión del RLDL.<sup>39</sup> La mayoría de los individuos con el defecto familiar de unión de apo-B son heterocigotos para este alelo, y un anticuerpo monoclonal que distingue entre normales y apo-B con

---

<sup>35</sup> Sun XM, Patel DD, Bhatnagar D, Knight BL, Soutar AK. Characterization of a splice-site mutation in the gene for the LDL receptor associated with an unpredictably severe clinical phenotype in English patients with heterozygous FH. *Atherosclerosis* 1995;15:219-27.

<sup>36</sup> Whittall RA, Matheus S, Cranston T. The intron 14 2140+5G>A variant in the low density lipoprotein receptor gene has no effect on plasma cholesterol levels. *J Med Genet* 39 2002;39:e57.

<sup>37</sup> Vega GL, Grundy SM. In vivo evidence for reduced binding of low density lipoproteins to receptors as a cause of primary moderate hypercholesterolemia. *J Clin Invest* 1986;78:1410-14.

<sup>38</sup> Innerarity TL, Weisgraber KH, Arnold KS, et al. Familial defective apolipoprotein B-100: low density lipoprotein with abnormal receptor binding. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:6919-23.

<sup>39</sup> Soria LF, Ludwig EH, Clarke HR, Vega GL, Grundy SM, McCarthy BJ. Association between a specific apolipoprotein B mutation and familial defective apolipoprotein B-100. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:587-91.

Arg3500Gln se ha utilizado para demostrar que el cLDL que contiene dicha mutación de la apo-B se acumula en la circulación.<sup>40</sup> Además el cLDL mutado tiene disminuida la habilidad para apoyar el crecimiento de las células U937 (linfoma leucémico monocítico humano), que son dependientes del colesterol derivado del RLDL para su normal crecimiento en medios libres de suero.<sup>41</sup>

Comparada con las mutaciones individuales en el RLDL, que individualmente resultan raras, este alelo mutado APOB descrito es común en Europa, donde entre el 2-5% de los pacientes hipercolesterolémicos son heterocigotos para ese alelo defectuoso.<sup>42</sup> Su penetrancia sin embargo no alcanza el 100%, así que los pacientes con el defecto familiar de unión de apo-B tienen fenotipos menos severos que los pacientes con HF y mutaciones en el RLDL.<sup>43, 44</sup> En un amplio estudio sistemático en Dinamarca, la prevalencia de la Arg3500Gln apo-B en la población general fue de 1/1.000 y el alelo mutante estaba asociado con elevaciones significativas del colesterol plasmático.<sup>45</sup> En los europeos se piensa que la mutación se hereda en un alelo de la APOB con un raro haplotipo de un único ancestro que vivió hace unos 6.750 años,<sup>46</sup> aunque la misma mutación parece haber repetido el menos una vez más.<sup>47</sup> A pesar de

---

<sup>40</sup> Arnold KS. Isolation of allele-specific, receptor-binding-defective low density lipoproteins from familial defective apolipoprotein B-100 subjects. *J Lipid Res* 1994;35:1469-76.

<sup>41</sup> Frostegard J, Hamsten A, Gidlund M, Nilsson J. Low density lipoprotein-induced growth of U937 cells: a novel method to determine the receptor binding of low density lipoprotein. *Lipid Res* 1990;31:37-44.

<sup>42</sup> Soutar AK, Naoumova RP. Mechanism of disease: genetic causes of familial hypercholesterolemia. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007;4:214-25. Review

<sup>43</sup> Myant NB. Familial defective apolipoprotein B-100: a review, including some comparisons with familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis* 1993;104:1-18.

<sup>44</sup> Vrablik M, Ceska R, Horinek A. Major apolipoprotein B-100 mutations in lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Physiol Res* 2001;50:337-43. Review.

<sup>45</sup> Tybjaerg-Hansen A, Steffensen R, Meinertz H, Schnohr P, Nordestgaard BG. Association of mutations in the apolipoprotein B gene with hypercholesterolemia and the risk of ischemic heart disease. *N Engl J Med* 1998;1577-84.

<sup>46</sup> Myant NB, Forbes SA, Day IN, Gallagher J. Estimation of the age of the ancestral arginine3500⇒glutamine mutation in human apoB-100. *Genomics* 1997;45:78-87.

<sup>47</sup> Teng NY, Pan JP, Chou SC, Tai DY, Lee-Chen GJ. Familial defective apolipoprotein B-100: detection and haplotype analysis of the Arg (3500)⇒Gln mutation in hyperlipidemic Chinese. *Atherosclerosis* 2000;385:90.

búsquedas extensas y, en marcado contraste con las mutaciones del RLDL, solo se ha encontrado otra mutación del gen APOB que afecte a la función del receptor de unión de manera significativa: una sustitución en el mismo codón que la primera mutación, resultando en la sustitución de Arg3500 con triptófano (Arg 3500 Trp).<sup>48</sup> Esta mutación es rara en Europa, pero relativamente común en la población China.<sup>49</sup> Una tercera variante, Arg3531Cys (sustitución de Arg3500 por cisteína), se encontró en un screening de individuos hipercolesterolémicos,<sup>50</sup> pero estudios posteriores han demostrado que la frecuencia de esta variante es la misma en la población general que en grupos hipercolesterolémicos.<sup>45</sup>

### 4.3 Hipercolesterolemia autosómica recesiva.

En una primera descripción de las alteraciones genéticas de la HF, Khachadurian observó que en un número pequeño de familias parecía existir un patrón de herencia recesivo, más que dominante, de hipercolesterolemia severa,<sup>51</sup> y en años posteriores otras observaciones similares aparecieron. El trastorno era catalogado como hipercolesterolemia autosómica recesiva (HAR) para distinguirla de la HF causada por mutaciones del RLDL. Curiosamente ningún defecto en la función del RLDL en cultivos de fibroblastos cutáneos de pacientes con HAR podía ser detectado, a pesar de la presencia de todos los signos característicos de la HF homocigota en los pacientes estudiados. Así

---

<sup>48</sup> Gaffeny D, Reid JM, Cameron IM, et al. Independent mutations at codon 3500 of the apolipoprotein B gene are associated with hyperlipidemia. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 1995;15:1025-29.

<sup>49</sup> Tay DY, Pan JP, Lee-Chen GJ. Identification and haplotype analysis of apolipoprotein B-100 Arg3500 Trp mutation in hyperlipidemic Chinese. *Clin Chem* 1998;44:1659-65.

<sup>50</sup> Pullinger CR, Hennessy LK, Chatterton JE, et al. Familial ligand-defective apolipoprotein B: identification of a new mutation that decreases LDL receptor binding affinity. *J Clin Invest* 1995;95:1225-34.

<sup>51</sup> Khachadurian AK. The inheritance of essential familial hypercholesterolemia. *Am J Med* 1964;37:402-7.

pues, se asumió al principio que la función del RLDL no era defectuosa. Sin embargo cuando el grupo de Soutar<sup>42</sup> detectó su primer paciente con HF clínicamente homocigota con una herencia recesiva y sin detección de defecto en el RLDL, decidió estudiar linfocitos inmortalizados del paciente en vez de fibroblastos, encontrando que, aunque la proteína del RLDL era sintetizada con normalidad, fallaba en el momento de ser internalizada y por lo tanto la LDL no podía ser recogida.<sup>52</sup> Por lo tanto una mutación completa recesiva en un nuevo gen llamado proteína 1 del adaptador del RLDL (LDLRAP1) se observó en co-segregación con la hipercolesterolemia en miembros de estas raras familias clínicamente homocigotas.<sup>53</sup> Estos hallazgos fueron confirmados, estableciéndose la mutación como la causa del fenotipo HF demostrando que la función del RLDL era restaurada en los linfocitos de estos pacientes mediante la expresión de la proteína normal del RLDL.<sup>54</sup> La proteína LDLRAP1 (también llamada HAR) contiene un dominio conservado de unión-fosfotirosina y parece funcionar como una proteína adaptadora accesoria que interactúa con el RLDL a través de su receptor citoplasmático. El porqué la LDLRAP1 no se requiere para la unión del LDLR en fibroblastos cutáneos aún no está del todo claro.

Todos los pacientes con HAR tienen la mutación en la LDLRAP1 y, como es de esperar en un trastorno recesivo, la mayoría de estos pacientes han sido la prole de parejas consanguíneas. Todas las mutaciones salvo una son completas y, en aquella donde la proteína mutante no puede ser detectada, la excepción resulta en la afectación directa del dominio conservado de unión fosfotirosina. Probablemente debido el efecto fundador, la HAR es

---

<sup>52</sup> Norman D, Sun XM, BourbonM, Knight BL, Naoumova RP, Soutar AK. Characterization of a novel cellular defect in patients with phenotypic homozygous familial hypercholesterolemia. *J Clin Invest* 1999;104:619-28.

<sup>53</sup> García CK, Wilund K, Arca M, et al. Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein. *Science* 2001;292:1394-8.

<sup>54</sup> Eden ER, Patel DD, Xum XM, et al. Restoration of LDL receptor function in cells from patients with autosomal recessive hypercholesterolemia by retroviral expression of ARH1. *J Clin Invest* 2002;110:1695-1702.

particularmente común en Cerdeña (Italia) donde hay tres alelos mutantes, uno de los cuales resulta de la combinación de los otros dos.<sup>55</sup>

El fenotipo en la HAR es similar al de aquellos pacientes con HF homocigota debida a mutaciones en el RLDL pero suelen tener cifras moderadas de colesterol sérico total y niveles de cLDL y respuesta más favorable al tratamiento con hipolipemiantes. El fenotipo también tiende a ser más variable sin afectar a individuos de la misma familia.<sup>56</sup> Además, los niveles de cHDL en pacientes con HAR son sensiblemente más altos que los de aquellos con HF homocigota.<sup>57</sup> El desarrollo de enfermedad cardiovascular prematura está, por lo tanto, retrasado en pacientes con HAR, sin que se hayan documentado eventos en pacientes menores de 20 años, a diferencia de los pacientes con HF homocigota en los que el 40% de los menores de 20 años presentan eventos cardiovasculares (Odds ratio para enfermedad cardiovascular en HF homocigota frente HRA es 9.1;95% CI 4.4-19.1).<sup>54</sup>

#### **4.4 Mutación en PCSK9.**

El PCSK9 es un gen que codifica una proteasa denominada proproteína convertasa subtilisin/kexin tipo 9, encontrada inicialmente en familias francesas y que ha sido relacionado con HF.<sup>58</sup> Una mutación en particular, la Asp374Tyr, parece tomar importancia en ciertas poblaciones, donde se ha asociado

---

<sup>55</sup> Arca M, Zuliani G, Wilund K, et al. Autosomal recessive hypercholesterolaemia in Sardinia, Italy, and mutations in ARH: a clinical and molecular genetic analysis. *Lancet* 2002;359:841-7.

<sup>56</sup> Naoumova RP, Neuwirth C, Lee P, Miller JP, Taylor KG, Soutar AK. Autosomal recessive hypercholesterolaemia: a long-term follow up and response to treatment. *Atherosclerosis* 2004;174:165-72.

<sup>57</sup> Pisciotta, Priore Oliva C, Pes GM, et al. Autosomal recessive hypercholesterolemia (ARH) and homozygous familial hypercholesterolemia (FH): a phenotypic comparison. *Atherosclerosis* 2006;188:398-405.

<sup>58</sup> Abifadel M, Varret M, Rabès JP, et al. Mutations in the PCSK9 gene cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet* 2003;34:145-56.

particularmente a un fenotipo clínico severo.<sup>59</sup> El mecanismo por el cual la mutación en el PCSK9 causa hipercolesterolemia aún no está claro, pero el PCSK9 es un gen regulado por esterol, lo cual indica que está involucrado en el metabolismo del colesterol. Aún así esta mutación es una causa rara de HF.

#### 4.5 Otros genes involucrados.

A pesar de las mejorías continuas en la detección de mutaciones, cuando en grupos de pacientes diagnosticados clínicamente de HF se analizan las mutaciones para el RLDL no siempre se detectan alteraciones. Esto se ha relacionado con la posible presencia de las mutaciones en otros genes candidatos, pero en raras ocasiones se detecta. Por ejemplo, una mutación recesiva en el gen CYP7A1, que codifica la enzima catalizadora de colesterol, se ha encontrado como rasgo recesivo en una única familia.<sup>60</sup> Por otro lado variaciones en los genes reguladores de proteínas SREBP-2 o SCAP han sido encontradas en pacientes con HF,<sup>61</sup> pero la evidencia de que causen el fenotipo aún no está clara.

#### 5. Aspectos clínicos.

El dato clínico más característico de la HF heterocigota es la detección de valores elevados de colesterol en plasma, de manera que la determinación

---

<sup>59</sup> Naoumova, Tosi I, Patel D, et al. Severe hypercholesterolemia in four British families with the D374 mutation in the PCSK9 gene: long-term follow-up and treatment response. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:2654:60.

<sup>60</sup> Pullinger CR, Eng C, Salen G, et al. Human cholesterol 7alpha-hydroxylase (CYP7A1) deficiency has a hypercholesterolemic phenotype. *J Clin Invest* 2002;110:109-17.

<sup>61</sup> Durst R, Jansen A, Erez G, et al. The discrete and combined effect of SREBP-2 and SCAP isoforms in the control of plasma lipids among familial hypercholesterolaemia patients. *Atherosclerosis* 2006;189:443-50.

de cLDL y de apo-B en plasma permite una detección precoz de gran sensibilidad y especificidad.<sup>62</sup> Los pacientes con afectación heterocigota suelen presentar hasta la adolescencia concentraciones media de cLDL en sangre de 230 mg/dl, debiéndose plantear el diagnóstico ante valores de cLDL superiores a 164 mg/dl. En los individuos adultos los valores medios de colesterol total son alrededor de 330 mg/dl y pueden oscilar entre menos de 270 hasta más de 400 mg/dl, lo que equivale a unas cifras de cLDL entre 220 y 320 mg/dl.<sup>2</sup> Las concentraciones de cHDL suelen ser normales, aunque con tendencia a ser más bajas, lo que empeora el pronóstico de estos pacientes. La concentración plasmática de triglicéridos suele ser normal, aunque el 10% de los pacientes afectados de HF heterocigota presenten hipertrigliceridemia lo que dificulta su distinción con la hiperlipoproteinemia familiar combinada.<sup>62</sup> Las concentraciones de Lp(a) elevadas son también un elemento de mal pronóstico.<sup>63</sup>

Los pacientes con HF heterocigota suelen mantenerse asintomáticos hasta que presentan un evento coronario o se detecta en un análisis de rutina elevación en las concentraciones de colesterol plasmático. En ocasiones son las manifestaciones cutáneas características las que motivan el diagnóstico. La importancia clínica de la HF radica en su potencial aterógeno. Los pacientes afectados de HF heterocigota tienen un mayor riesgo de sufrir cardiopatía isquémica.<sup>64,65</sup> Estos pacientes suelen permanecer asintomáticos hasta los 30-40

---

<sup>62</sup> Marks D, Thorogood M, Neil H, Humphries SE. A review on the diagnosis, natural history, and treatment of familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis* 2003;168:1-14.

<sup>63</sup> Rader DJ, Cohen J, Hobbs HH. Monogenic hypercholesterolemia: new insights into pathogenesis and treatment. *J Clin Invest* 2003;111:1795-803.

<sup>64</sup> Scientific Steering Committee; Simon Broome Register Group. Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. *BMJ* 1991;303:893-6.

años de edad, donde el 50% de ellos presenta manifestaciones clínicas isquémicas o anomalías electrocardiográficas o en los estudios ergométricos; este porcentaje puede llegar hasta el 80% a los 50 años. En las mujeres, la presentación de la enfermedad coronaria suele retrasarse 10 años con respecto a los hombres.

La prevalencia de enfermedad arterial periférica también se encuentra muy elevada en los pacientes con HF heterocigota;<sup>66</sup> a diferencia de la coronaria, su aparición se presenta a edades similares entre hombres y mujeres.<sup>67</sup> Por otro lado la incidencia de enfermedad vascular cerebral en los pacientes con HF heterocigota es menos evidente.<sup>66,68</sup> No existe tampoco un claro incremento en la tendencia a la obesidad, diabetes mellitus o intolerancia a la glucosa e hipertensión arterial. Sin embargo si existe una clara tendencia a presentar hiperagregabilidad plaquetaria e hipercoagulabilidad.<sup>69</sup>

Los depósitos de ésteres de colesterol en la piel y tendones son manifestaciones de los pacientes con HF heterocigota.<sup>70</sup> Los xantomas tendinosos pueden ser el primer signo clínico de la enfermedad y suelen localizarse en los tendones de los músculos extensores de los dedos de las manos. Es característico el engrosamiento del tendón de Aquiles (**imagen 1**); su

---

<sup>65</sup> Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Familial hypercholesterolemia and coronary heart disease: a HuGE association review. *Am J Epidemiol* 2004;160:421-9.

<sup>66</sup> Hutter CM, Austin MA, Humphries SE. Familial hypercholesterolemia, peripheral arterial disease, and stroke: a HuGE minireview. *Am J Epidemiol* 2004;160:430-5.

<sup>67</sup> Kroon AA, Ajubi N, van Asten WN, Stalenhoef AF. The prevalence of peripheral vascular disease in familial hypercholesterolaemia. *J Intern Med* 1995;238:451-9.

<sup>68</sup> Hutter CM, Austin MA and Humphries SE. Familial Hypercholesterolemia, Peripheral Arterial Disease, and Stroke. *Am J Epidemiol* 2004;160:430-5.

<sup>69</sup> Betteridge DJ, Cooper MB, Saggerson ED, et al. Platelets function in patients with hypercholesterolaemia. *Euro J Clin Invest* 1996;24 Suppl 1:30-3. Review.

<sup>70</sup> Marais AD. Familial hypercholesterolaemia. *Clin Biochem Rev* 2004;25:49-68.



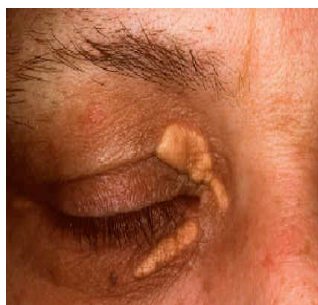
grado de engrosamiento medido mediante xerografía o ecografía ha llegado a utilizarse como factor pronóstico y evolutivo. También es característica la presencia de xantomas tuberosos en codos, rodillas o nalgas (**imagen 2**). La presencia de estos xantomas es prácticamente patognomónica de la enfermedad, si bien pueden observarse en la hiperlipoproteinemia familiar combinada y en otras enfermedades por depósito más raras. Los xantelasmas (**imagen 3**), depósitos lipídicos en forma de pequeñas tumoraciones aplanadas y amarillentas en los párpados también pueden aparecer, al igual que el arco corneal (**imagen 4**), una banda blanca alrededor de la córnea y de predominio en su borde inferior, debido al depósito de colesterol; ambos signos son inespecíficos y pueden aparecer en personas normolipémicas.



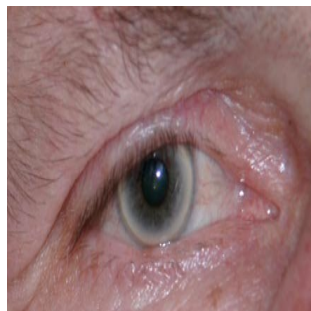
**Imagen 1.** Xantoma tendinoso.



**Imagen 2.** Xantoma tuberoso .



**Imagen 3.** Xantelasma.



**Imagen 4.** Arco corneal.

Los pacientes pueden presentar otras manifestaciones clínicas como poliartralgias y verdaderas poliartritis migratorias. No suele existir hepatomegalia o esplenomegalia, al igual que son raras las manifestaciones neurológicas.

## 6. Criterios diagnósticos.

En la actualidad tres grupos han desarrollado criterios diagnósticos para la HF: el Programa MedPed de los Estados Unidos, el Simon Broome Register Groupe del Reino Unido y el Lipid Clinic Network danés<sup>71</sup> (**tablas 1,2,3**).

Los criterios del *MedPed* usan puntos de corte en función de los niveles de colesterol total ajustados a la edad e historia familiar de cada individuo.<sup>72</sup> Así pues el punto de corte difiere entre los individuos que tienen algún familiar con HF (de primero, segundo o tercer grado) y la población general, ya que aquellos con algún familiar afecto tienen una mayor probabilidad de presentar una mutación causante de HF.

Los criterios del *Simon Broome Register* incluyen niveles de colesterol, características clínicas, diagnóstico molecular e historia familiar.<sup>73</sup> Un diagnóstico “definitivo” de HF se instaura si el paciente tiene niveles elevados de colesterol (el punto de corte difiere para los niños por debajo de los 16 años)

---

<sup>71</sup> Yuan G, Wang J, Hegele RA. Heterozygous familial hypercholesterolemia: an unrecognized cause of early cardiovascular disease. *CMAJ* 2006;174;8:1124-9.

<sup>72</sup> Williams RR, Hunt SC, Schumacher MC, et al. Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics. *Am J Cardiol* 1993;72:171-6

<sup>73</sup> Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. *BMJ* 1991;303:893-6.

y xantomas tendinosos, o si el paciente tiene una mutación identificada en el gen RLDL o en el de la apo-B. Un diagnóstico “probable” se realiza si el paciente tiene niveles de colesterol elevados y una historia familiar de hipercolesterolemia o enfermedad cardíaca.<sup>74</sup>

Los criterios del *Dutch Lipid Clinic Network*<sup>75</sup> son similares a los del Simon Broome Register. Los puntos son asignados a historia familiar de hiperlipemia o enfermedad cardíaca, características clínicas tales como los xantomas tendinosos, los niveles elevados de cLDL y/o la identificación de una mutación. La suma superior a 8 puntos se considera como diagnóstico “definitivo”, entre 6 y 8 “probable” y entre 3 y 5 “posible”. Aunque los criterios del Simon Broome Register consideran un diagnóstico molecular como evidencia para HF definitiva, los criterios daneses requieren al menos otro criterio adicional al diagnóstico molecular.

---

<sup>74</sup> Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. Mortality in treated heterozygous familial hypercholesterolaemia: implications for clinical management. *Atherosclerosis* 1999;145:105-12.

<sup>75</sup> World Health Organization. Familial hypercholesterolemia – a report of a second WHO Consultation. Geneva. Switzerland: World Health Organization, 1999. (WHO publication no.WHO/HGN/FH/CONS/99.2).

**Tabla 1.** Criterios diagnósticos del programa US MedPed.\*

Punto de corte de Colesterol total mg/dl (mmol/l)				
	Familiar 1º grado con HF	Familiar 2º grado con HF	Familiar 3º grado con HF	Población general
Edad (años)				
< 20	219.2 (5.7)	226.9 (5.9)	238.4 (6.2)	269.2 (7.0)
20-29	238.4 (6.2)	250.0 (6.5)	257.7 (6.7)	288.4 (7.5)
30-39	269.2 (7.0)	276.9 (7.2)	288.4 (7.5)	338.4 (8.8)
≥ 40	288.4 (7.5)	300.0 (7.8)	307.7 (8.0)	357.7 (9.3)
<b>Se diagnostica HF si los niveles de colesterol superan los puntos de corte.</b>				

\*Williams et al. *Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics. Am J Cardiol* 1993;72:71-6.

**Tabla 2.** Criterios diagnósticos del Simon Broome Register Group (Reino Unido).\*

Descripción	
Criterio	
a	Colesterol total superior a 288 mg/dl (7.5 mmol/l) en adultos o superior a 257 mg/dl (6.7 mmol/l) en menores de 16 años, o Colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) superior a 191 mg/dl (4.9 mmol/l) en adultos o superior a 156 mg/dl (4.0 mmol/l) en niños
b	Xantomas tendinosos en el paciente o en familiar de primer grado
c	Evidencia de mutación basada en ADN en el gen LDL o en el apo-B
d	Historia familiar de infarto de miocardio antes de los 50 años en un familiar de segundo grado o antes de los 60 años en uno de primer grado
e	Historia familiar de colesterol total elevado superior a 288 mg/dl (7.5 mmol/l) en un familiar de primer o segundo grado
<b>Diagnóstico HF:</b>	
Definitivo	Criterios a + b ó criterio c
Probable	Criterios a + d ó criterio a + e

\*Risk of fatal heart disease in familial hypercholesterolemia. Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. *BMJ* 1991;303:893-6. Mortality in treated heterozygous familial hypercholesterolemia: implications for clinical management. Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. *Atherosclerosis* 1999;142:105-1.

**Tabla 3.** Criterios diagnósticos del Dutch Lipid Clinic Network (Dinamarca).\*

Criterios	Puntuación
<i>Historia Familiar:</i>	
Familiar de primer grado con enfermedad coronaria o vascular precoz conocida (hombre < 55 años, mujer < 60 años), o Familiar de primer grado con cLDL** superior al percentil 95 ( $\geq 210$ mg/dl)	1
Familiar de primer grado con xantomas tendinosos o arco corneal, o niños menores de 18 años con cLDL superior al percentil 95 ( $\geq 150$ mg/dl)	2
<i>Historia Clínica:</i>	
Paciente con enfermedad arterial coronaria precoz (hombre < 55 años, mujer < 60 años)	2
Paciente con enfermedad vascular cerebral o periférica precoz (hombre < 55 años, mujer < 60 años)	1
<i>Examen Físico:</i>	
Xantomas tendinosos	6
Arco corneal antes de los 45 años	4
<i>Niveles de Colesterol:</i>	
cLDL $\geq 330$ mg/dl (8.5 mmol/l)	8
cLDL 250 – 329 mg/dl (6.5 - 8.4 mmol/l)	5
cLDL 190 – 249 mg/dl (5.0 – 6.4 mmol/l)	3
cLDL 155 – 189 mg/dl (4.0 – 4.9 mmol/l)	1
<i>Análisis ADN</i>	
Mutación funcional en el gen RLDL	8
<b>Diagnóstico HF:</b>	
Definitivo: más de 8 puntos	
Probable: 6 – 8 puntos	
Posible: 3 – 5 puntos	

\*World Health Organization. *Familial hypercholesterolemia – a report of a second WHO Consultation*. Geneva. Switzerland: World Health Organization, 1999. (WHO publication no. WHO/HGN/FH/CONS/99.2). \*\*cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad.

## 7. Hipercolesterolemia familiar y riesgo cardiovascular.

Como se comentado previamente la importancia de la HF radica en su alta incidencia de enfermedad cardiovascular precoz, fundamentalmente cardiopatía isquémica, tanto mortal como no mortal. La HF acorta la esperanza de vida media de los pacientes entre 20 y 30 años.<sup>76</sup> El primer estudio que describe el aumento significativo del riesgo cardiovascular en la HF fue publicado en 1969, y encontró un 51% de posibilidades de padecer un evento coronario a los 50 años en aquellos pacientes masculinos, mientras que en mujeres el riesgo se situó en el 12% a la misma edad.<sup>77</sup>

La edad media de aparición de la enfermedad cardiovascular en pacientes con HF está entre los 40 y 45 años en los hombres y entre los 50 y 55 años en las mujeres. Varios estudios en países como Japón y Finlandia han demostrado que la enfermedad cardiovascular (muerte súbita e infarto agudo de miocardio) es la principal causa de muerte en esta población.<sup>78,79</sup> Además en las últimas dos décadas, estudios adicionales sobre el seguimiento prospectivo de pacientes con diagnóstico clínico de HF y riesgo de enfermedad cardiovascular han sido publicados. El primer estudio del Registro Simon Broome, publicado en 1991 y basado en 9 años de seguimiento a 526 pacientes con HF, demostró que el riesgo de mortalidad por enfermedad coronaria se multiplicaba aproximadamente por 100, y el riesgo de mortalidad total casi por 10,

---

<sup>76</sup> World Health Organization. Human Genetic Program. Familial Hypercholesterolemia. (WHO/HGN/FH/CONS/98.7, Paris 1997).

<sup>77</sup> Slack J. Risks of ischaemic heart-disease in familial hyperlipoproteinaemic states. *Lancet* 1969;2:1380-82.

<sup>78</sup> Mabuchi H, Miyamoto S, Ueda K, et al. Causes of death in patients with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1986;61:1-6.

<sup>79</sup> Miettinen T, Gylling H. Mortality and cholesterol metabolism in familial hypercholesterolemia. Long term follow-up of 96 patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1988;8:163-7.

especialmente en adultos jóvenes.<sup>80</sup> Destacar que este exceso de mortalidad no fue confirmado en pacientes mayores de 60 años. Un segundo estudio del mismo registro, que incluía 1185 sujetos con diagnóstico clínico de HF con seguimiento desde 1980 a 1995, confirmó los resultados previos, observando un aumento del riesgo relativo de desarrollar un evento coronario mortal; este riesgo disminuía tras los 60 años en hombres jóvenes y en mujeres.<sup>81</sup> El descenso del riesgo relativo de muerte por enfermedad coronaria tras los 60 años podría explicarse en parte por la supervivencia selectiva debida a la muerte precoz de los sujetos más susceptibles y al riesgo reducido entre los supervivientes. De manera interesante, a partir de 1992 pudo observarse una reducción en este riesgo relativo para mortalidad coronaria en aquellos pacientes con edades comprendidas entre los 20 y 59 años, lo que sugirió que el uso de estatinas como parte del tratamiento de la HF mejoraba el pronóstico de los pacientes.<sup>81</sup> En los últimos años el desarrollo de estudios que analizaban una cohorte de pacientes con diagnóstico clínico de HF “definitivo” o “posible” seguidos durante 26 años, ha mostrado una clara reducción de la mortalidad coronaria (33%) asociada al uso generalizado de las estatinas como tratamiento de estos pacientes.<sup>82</sup> En aquellos pacientes sin enfermedad coronaria conocida al ser registrados, todas las causas de mortalidad se redujeron significativamente en aproximadamente un tercio, debido fundamentalmente a la reducción de cáncer mortal. Estos hallazgos podrían relacionarse con un cumplimiento adecuado por parte de los pacientes con HF de los consejos

---

<sup>80</sup> Scientific Steering Committee on behalf the Simon Broome Register Group. Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. *BMJ* 1991;303:893-6.

<sup>81</sup> Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. Mortality in treated heterozygous familial hypercholesterolaemia: implications for clinical management. *Atherosclerosis* 1999;142:105-12.

<sup>82</sup> Neil A, Cooper J, Betteridge J, et al. Reductions in all-cause, cancer, and coronary mortality in statin-treated patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia: a prospective registry study. *Eur Heart J* 2008;29:2625-33.

relacionados con los hábitos higiénico-dietéticos y con el abandono del tabaquismo como terapia fundamental de su patología.

Datos de otra cohorte de familias con HF en Holanda mostraron que la mortalidad era particularmente alta en hombres de mediana edad y que factores adicionales podían modular la mortalidad asociada a la enfermedad.<sup>83</sup> Una publicación del año 2008 con seguimiento de más de 2.100 pacientes durante 8.5 años mostró que el tratamiento con estatinas reducía el riesgo de enfermedad coronaria en un 80%. El riesgo de infarto de miocardio en pacientes mayores de 55 años tratados con estatinas no fue estadísticamente superior al compararlo con una muestra de la población general holandesa.<sup>84</sup>

### **7.1 Factores de riesgo para enfermedad cardiovascular.**

A pesar de ser un trastorno monogénico, la expresión clínica de la HF varía enormemente, incluso en casos que comparten la misma mutación, particularmente en relación a los niveles de colesterol y a la edad de inicio y severidad de la enfermedad coronaria.<sup>85</sup>

En España, los datos del Registro Español de Hipercolesterolemia Familiar mostraron que el 30.2% de los hombres y el 14.5% de las mujeres con diagnóstico genético de HF tenían alguna manifestación de enfermedad coronaria en el momento de inclusión.<sup>86,87</sup> Así pues es probable que algunos

---

<sup>83</sup> Sijbrands, Westendorp RG, Paola Lombardi M, et al. Additional risk factors influence excess mortality in heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis* 2000;149:421-25.

<sup>84</sup> Versmissen J, Oosterveer DM, Yazdanpanah M, et al. Efficacy of statins in familial hypercholesterolaemia: a long term cohort study. *BMJ* 2008;337,a2423.

<sup>85</sup> Pimstone SN, Sun XM, du Souich C, Frohlich JJ, Hayden MR, Soutar AK. Phenotypic variation in heterozygous familial Hypercholesterolemia: a comparison of Chinese patients with the same or similar mutations in the LDL receptor gene in China or Canada. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:309-15.

<sup>86</sup> Pocovi M, Civeira F, Alonso R et al. Familial hypercholesterolemia in Spain: case-finding program, clinical and genetic aspects. *Semin Vasc Med* 2004;4:67-4.



individuos con elevadas concentraciones de colesterol plasmático sean más susceptibles al desarrollo de enfermedad arteriosclerótica que otros.

Diversos estudios han mostrado que los factores de riesgo cardiovascular clásicos (sexo masculino, tabaquismo, hipertensión arterial, diabetes mellitus, niveles de colesterol HDL y de lipoproteína(a)) y el tipo de mutación en el gen del RLDL contribuyen parcialmente al desarrollo de enfermedad coronaria.<sup>86,88,89</sup> La edad, el sexo y el tabaquismo son factores bien reconocidos y determinantes de alto riesgo cardiovascular en diferentes cohortes.<sup>86,88</sup> Por otro lado existe claramente un mayor riesgo de enfermedad coronaria en aquellos pacientes portadores de los alelos nulos para el RLDL comparados con aquellos portadores de mutaciones defectuosas del alelo.<sup>86,85,90</sup>

Aunque el defecto genético es ciertamente el factor más importante en la expresión clínica de la HF, otros factores genéticos, medioambientales (fundamentalmente aquellos relacionados con la dieta, el consumo de tabaco y la actividad física) y metabólicos jugarían un papel importante en la modulación del proceso arteriosclerótico de esta población. La mayor parte de la variación que puede ser atribuida a la mayor o menor susceptibilidad frente a la enfermedad coronaria se debe a variaciones en genes que en la población

---

<sup>87</sup> Alonso R, Mata N, Castillo S, et al. Cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: influence of low-density lipoprotein receptor mutation type and classic risk factors. *Atherosclerosis* 2008;200:315-21.

<sup>88</sup> Jansen AC, van Aalst-Cohen ES, Tanck MW, et al. The contribution of classical risk factors to cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: data in 2400 patients. *J Intern Med* 2004;256:482-90.

<sup>89</sup> Umans –Eckenhansen MA, Sijbrands EJ, Kastelein JJ, Defesche JC. Low density lipoprotein receptor gene mutations and cardiovascular risk in a large genetic cascade screening population. *Circulation* 2002;106:3031-36.

<sup>90</sup> Bertolini S, Cantafora A, Averna M, et al. Clinical expression of mutations of the LDL receptor gene that cause a receptor-defective or receptor-negative phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:41-50.

general tendrían una influencia mínima pero que conllevarían una mayor relevancia en pacientes con HF debido a interacciones gen-gen.<sup>91</sup>

En España el 22% de la enfermedad coronaria precoz de los pacientes con HF es casi 10 veces más que la registrada en la población general<sup>92</sup>, pero sigue siendo menor si la comparamos con otras cohortes de HF de países occidentales.<sup>88,93</sup> Esta diferencia en la prevalencia de la enfermedad coronaria podría deberse a algunos factores medioambientales, como la dieta. La dieta Mediterránea, enriquecida en ácidos monoinsaturados (aceite de oliva), verduras, frutas, pescado y fibra, ha demostrado tener efectos beneficiosos frente a los factores de riesgo cardiovascular con propiedades adicionales antiaterogénicas más allá de los niveles lipídicos.<sup>94,95</sup> Estos efectos podrían contribuir a reducir la incidencia de eventos cardiovasculares en la población general, incluso en la población española afectada de HF. Además pacientes con HF en Túnez, país con dieta similar, y portadores de mutaciones severas en el gen del RLDL, no presentan enfermedad coronaria precoz muy probablemente como resultado de sus hábitos dietéticos o factores medioambientales adicionales.<sup>96</sup>

---

<sup>91</sup> Alonso R, Mata N, Badimón L, et al. Prognostic factors of cardiovascular disease mortality and morbidity in a cohort of families with genetic diagnoses of familial hypercholesterolemia. *Nature reviews* 2009;6:23-7.

<sup>92</sup> Baena JM, del Val García JL, Tomàs Pelegrina J, et al. Cardiovascular disease epidemiology and risk factors in primary care. *Rev Esp Cardiol* 2005;58:367-73.

<sup>93</sup> Humphries SE, Whittall RA, Hubbart CS, et al. Genetic causes of familial hypercholesterolaemia in UK patients: relation to plasma lipid levels in coronary heart disease risk. *J Med Genet* 2006;43:943-9.

<sup>94</sup> Lopez-Miranda J, Badimon L, Bonanome A, et al. Monounsaturated fat and cardiovascular risk. *Nutr Rev* 2006;64:S2-S12.

<sup>95</sup> Pérez-Jiménez F, López-Miranda J, Mata P. Protective effect of dietary monounsaturated fat on arteriosclerosis: beyond cholesterol. *Atherosclerosis* 2002;163:385-98

<sup>96</sup> Slimane MN, Lestavel S, Sun X et al. A founder frameshift mutation in exon 10 of the LDL-receptor gene, associated with a mild phenotype in Tunisian families. *Atherosclerosis* 2001;154:557-65.

Por otro lado los niveles extremadamente altos de cLDL son una pieza clave para la enfermedad coronaria en los pacientes con HF comparados con la población general; sin embargo no explican en su totalidad el elevado riesgo cardiovascular de estos pacientes. Otras lipoproteínas puedan tener también una influencia en la expresión fenotípica de la arteriosclerosis en la HF.

Los niveles de cHDL constituyen también un factor de riesgo independiente en la HF.<sup>97</sup> Los niveles bajos de cHDL se han asociado con un incremento de la enfermedad coronaria, sin embargo los mecanismos subyacentes en la relación entre cLDL, riesgo ateroesclerótico asociado al cHDL y ateroprotección en pacientes con HF aún está por dilucidar.

Una pieza fundamental en la evolución de la aterosclerosis subclínica hacia un evento isquémico es la vulnerabilidad aumentada de las placas de ateroma, que precipita la ruptura y posterior trombosis. Detrás del papel del cHDL y del cLDL en el transporte lipídico estudios recientes sugieren que estas fracciones lipoproteicas están englobadas en proteínas con funciones en los procesos moleculares involucrados en la aterotrombosis.<sup>98,99</sup> Así pues la caracterización de los patrones lipídico/proteómico del cHDL y cLDL en la HF podría proporcionar un conocimiento básico de los mecanismos subyacentes y relevantes en el desarrollo, progresión y complicaciones de las placas ateromatosas hacia manifestaciones prematuras de la enfermedad coronaria.

---

<sup>97</sup> Real JT, Chaves FJ, Martínez-Usó I, García-García AB, Ascaso JF, Carmena R. Importance of HDL cholesterol levels and the total/HDL cholesterol ratio as a risk factor for coronary heart disease in molecularly defined familial hypercholesterolaemia. *Eur Heart J* 2001;22:456-71.

<sup>98</sup> Karlsson H, Leanderson P, Tagesson C, Lindhal M. Lipoproteomics II: mapping of proteins in high-density lipoproteins using two dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Proteomics* 2005;5:1431-45.

<sup>99</sup> Vaisar T, Pennathur S, Green PS, et al. Shotgun proteomics implicates protease inhibition and complement activation in the antiinflammatory properties of HDL. *J Clin Invest* 2007;117:746-56.

## 7.2 Xantomas y riesgo cardiovascular.

Los xantomas tendinosos son depósitos de ésteres de colesterol localizados en los tendones y su aparición es prácticamente patognomónica de HF.<sup>100,101</sup> Suelen localizarse en los tendones de los músculos extensores de los dedos de las manos aunque es muy característico el engrosamiento del tendón de Aquiles (**imagen 5**). También pueden aparecer xantomas tuberosos en los codos, rodillas o en las nalgas. Estos xantomas se consideran criterio diagnóstico de HF, como se refleja en las tablas anteriormente expuestas.

Se componen fundamentalmente de células espumosas derivadas de monocitos resultantes del acúmulo intracelular de lípidos y tejido conectivo<sup>102,103</sup> y se calcula que entre un 30% y un 50% de los pacientes diagnosticados de HF mediante diagnóstico genético presentan xantomas.<sup>104</sup>

---

<sup>100</sup> Mortality in treated heterozygous familial hypercholesterolaemia: implications for clinical management. Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. *Atherosclerosis* 1999;142:105-12.

<sup>101</sup> Williams RR, Hunt SC, Schumacher MC, et al. Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics. *Am J Cardiol* 1993;72:171-6.

<sup>102</sup> Kruth HS. Lipid deposition in human tendon xanthomas. *Am J Pathol*. 1985;121:311-5.

<sup>103</sup> Bertolini S, Cantafora A, Aversa M, et al. Clinical expression of familial hypercholesterolemia in clusters of mutations of the LDL receptor gene that cause a receptor-defective or receptor-negative phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:E41-52.

<sup>104</sup> Ferriers J, Lambert J, Lussier-Cacan S, Davignon J. Coronary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolemia patients with the same LDL receptor gene mutation. *Circulation* 1995;92:290-5.



**Imagen 5.** Xantoma en el tendón de Aquiles

La patogénesis de los xantomas tendinosos se desconoce, aunque múltiples estudios plantean que la arteriosclerosis y los xantomas comparten similares mecanismos fisiopatológicos.<sup>105,106</sup> Un metaanálisis reciente publicado por Oosterveer et al<sup>107</sup> apoya este razonamiento en diversos motivos:

-los xantomas y las placas de arteriosclerosis se componen ambas de colágeno y células espumosas,<sup>108</sup>

---

<sup>105</sup> Civeira F, Castillo S, Alonso R, et al. Tendon xanthomas in familial hypercholesterolemia are associated with cardiovascular risk independently of the low-density lipoprotein receptor gen mutation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1960-5.

<sup>106</sup> Oosterveer DM, Vermissen J, Yazdanpanah M, Defesche JC, Kastelein JJ, Sijbrands EJ. The risk of tendon xanthomas in familial hypercholesterolaemia is influenced by variation in genes of the reverse cholesterol transport pathway and the low density lipoprotein oxidation pathway. *Eur Heart J* 2010;31:1007-12.

<sup>107</sup> Oosterveer DM, Vermissen J, Yazdanpanah M, Hamza TH, Sijbrands EJ. Differences in characteristics and risk of cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia patients with tendon xanthomas: a systemic review and meta-analysis. *Atherosclerosis* 2009; 207:311-7.

<sup>108</sup> Tsouli SG, Kiortsis DN, Lourida ES, et al. Autoantibody titers against OxLDL are correlated with Achilles tendon thickness in patients with familial hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 2006;47:2208-14.

-distintos fármacos como las estatinas o el probucol inducen regresión y se asocian a prevención tanto de los xantomas como de las placas de ateroma,<sup>109</sup>

-los macrófagos de aquellos pacientes con xantomas tienen una mayor predisposición a formar células espumosas en respuesta a la oxidación de cLDL que aquellos macrófagos de pacientes con HF sin xantomas.<sup>110</sup>

Basándose en estas similitudes entre los xantomas y la arteriosclerosis se ha planteado el aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular en aquellos pacientes con HF que los desarrollan. Civeira et al,<sup>105</sup> en su estudio sobre un población de 951 pacientes diagnosticados genéticamente de HF, encontraron que el 29.2% de los pacientes presentaban xantomas, siendo más elevada su edad, presión arterial sistólica, niveles de colesterol total y cLDL y que además el desarrollo de enfermedad cardiovascular prematura era mayor que en aquellos sujetos que no presentaban xantomas, estableciendo que la detección de los mismos en la exploración clínica requeriría una intervención farmacológica más agresiva para disminuir los niveles de colesterol.

El estudio de Tsouli et al<sup>111</sup> identifica los xantomas en el tendón de Aquiles como marcador de riesgo cardiovascular y observa, mediante seguimiento clínico y ecográfico, que el tratamiento con estatinas induce su regresión.

---

<sup>109</sup> Aji W, Ravalli S, Szabolcs M, et al. L-Arginine prevents xanthoma development and inhibits atherosclerosis in LDL receptor knockout mice. *Circulation* 1997;95:430-7.

<sup>110</sup> Artieda M, Cenarro A, Junquera C, et al. Tendon xanthomas in familial hypercholesterolemia are associated with differential inflammatory response of macrophages to oxidized LDL. *FEBS Lett* 2005;579:4503-12.

<sup>111</sup> Tsouli SG, Xydis V, Argyropoulous MI, Tselepis AD, Elisaf M, Kiortsis DN. Regression of Achilles tendon thickness after statin treatment in patients with familial hypercholesterolemia: an ultrasonographic study. *Atherosclerosis* 2009;205:151-5.

Se ha encontrado que variaciones en el gen de la proteína activadora de la 5-lipooxigenasa (ALOX5AP), involucrada en los mecanismos de la inflamación, se asocia tanto a la presencia de xantomas como al desarrollo de enfermedad coronaria.<sup>112</sup>

El metaanálisis comentado previamente,<sup>107</sup> donde se analizan 23 artículos relacionados de alguna manera con la existencia o no de xantomas en pacientes con HF, concluye que su presencia se asocia con un riesgo tres veces superior de desarrollar enfermedad cardiovascular entre los pacientes con HF, y que los xantomas se asocian además a los ya conocidos factores de riesgo de la edad y el sexo masculino.

---

<sup>112</sup> van der Net JB, Vermissen J, Oosterveer DM, et al. Arachidonate 5-lipoxygenase-activating protein (ALOX5AP) gene and coronary heart disease risk in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2009;203:472-8.

## 8. TERAPEÚTICA DE LA HF.

### 8.1 Objetivos y evaluación del riesgo cardiovascular.

El objetivo principal del tratamiento de la HF es la prevención precoz, tanto primaria como secundaria, de la enfermedad cardiovascular y su mortalidad asociada.<sup>113, 114, 115</sup> Para esto las recomendaciones actuales se proponen como línea de actuación, el alcance de unas metas en cuanto a valores de colesterol plasmático, primando la actuación sobre los niveles de cLDL. Las guías de tratamiento más recientes recomiendan como objetivo en prevención primaria los niveles de cLDL inferiores a 100 mg/dl (no-HDL colesterol < 130 mg/dl) o la reducción en un 50% en sus niveles basales.<sup>113,114,115,116</sup> Un importante metaanálisis sobre 14 estudios relacionados con el tratamiento de la hipercolesterolemia ha demostrado una reducción dosis-dependiente del riesgo cardiovascular en relación al descenso del cLDL<sup>117</sup>; por cada 40 mg/dl de descenso en los niveles de cLDL se reduce en un 20-25% la mortalidad por enfermedad cardiovascular y el infarto agudo de miocardio no mortal.

---

<sup>113</sup> Descamps OS, Tenoutasse S, Gies I, Beauloye V, Lebrethon MC, De Beaufort C, et al. Management of familial hypercholesterolemia in children and young adults: Consensus paper developed by a panel of lipidologists, cardiologists, paediatricians, nutritionists, gastroenterologists, general practitioners and a patient organization. *Atherosclerosis* 2011;218:272-80.

<sup>114</sup> Grundy SM, Cleeman JI, Merz CNB, et al. Implications of Recent Clinical Trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Guidelines. *Circulation* 2004;110:227-39.

<sup>115</sup> Genest J, McPherson J, Frohlich J, et al. Canadian Cardiovascular Society/Canadian guidelines for the diagnosis and treatment of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease in the adult—2009 recommendations. *Can J Cardiol* 2009;25:567-79.

<sup>116</sup> Robinson JG, Goldberg AC. Treatment of adults with familial hypercholesterolemia and evidence for treatment: recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol* 2011;5:S18-29.

<sup>117</sup> Baigent C, Keech A, Kearner PM, et al. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: Prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet* 2005;366:1267-78.



Los pacientes con HF son considerados de alto riesgo. A modo de esquema la evaluación del riesgo cardiovascular, los objetivos del tratamiento y las indicaciones del mismo se recogen en la **tabla 4**.

**Tabla 4.** Objetivos terapéuticos e indicación de tratamiento.

Colesterol LDL basal (mg/dl)			
Riesgo <sup>^</sup>	Objetivo	Cambiar estilo de vida	Inicio de fármacos
Muy alto**	< 70	Independientemente	Independiente
Alto*	< 100	Independientemente	> 100
Moderado-	< 130		≥ 130
alto	(opcional < 100)		
Moderado	< 130		≥ 160
Bajo	< 160		≥ 190

<sup>^</sup>El riesgo se basa en la probabilidad de padecer un infarto agudo de miocardio -IAM- o muerte por evento coronario en 10 años: > 40% para pacientes de muy alto riesgo; 20-40% en aquellos de alto riesgo; 10-20% para los de moderado y < 10% para los de bajo riesgo (según tablas de Framingham<sup>113,114</sup>).

**Muy alto:** Enfermedad coronaria (historia de infarto agudo de miocardio, angor estable o inestable, angioplastia o by-pass coronarios o evidencia de isquemia miocárdica clínica) y equivalentes de riesgo\* con a) múltiples factores de riesgo (en especial diabetes mellitus), b) factores de riesgo mal controlados (en especial tabaquismo), c) síndrome metabólico d) pacientes con síndrome coronario agudo. \*Enfermedad coronaria y equivalentes de riesgo: a) otras formas de enfermedad aterosclerótica (enfermedad carotídea: accidente isquémico transitorio o ictus carotídeo o estenosis > 50% en ecografía o angiorresonancia; enfermedad arterial periférica; aneurisma de aorta abdominal; estenosis de arterias viscerales), b) diabetes mellitus tipo 2, c) 2 o más factores de riesgo (tabaquismo, hipertensión arterial o medicación antihipertensiva, cHDL < 40mg/dl, antecedentes en familiares de primer grado de enfermedad coronaria antes de los 55 años en hombres y de los 65 años en mujeres) que confieran un riesgo < 20% según la escala de Framingham. **Moderado-alto:** dos o más factores de riesgo y riesgo calculado según la escala de Framingham de 10-20%. **Moderado:** dos o más factores de riesgo y riesgo calculado según la escala de Framingham de < 10%. **Bajo:** uno o ningún factor de riesgo.

El tratamiento de la HF requiere un programa de disminución global del riesgo cardiovascular, incluyendo aspectos fundamentales como la modificación de los factores de riesgo conocidos, que incluyen control del peso, dieta adecuada, ejercicio moderado, abandono del tabaquismo, control óptimo de la hipertensión arterial y diabetes mellitus.

## 8.2 Medidas dietéticas y modificación del estilo de vida.

Es la primera actuación a llevar a cabo en todo paciente con HF independientemente de si recibe tratamiento farmacológico o no y de sus niveles de cLDL.<sup>115,116</sup> Las actuaciones sobre el estilo de vida son la piedra angular del tratamiento de esta patología y de la prevención de la enfermedad cardiovascular. Incluyen fundamentalmente:

- Abandono del tabaco: es probablemente la intervención más importante en la prevención de los eventos cardiovasculares. Existe una asociación lineal y dosis dependiente entre el número de cigarrillos fumados en un año y el riesgo cardiovascular.<sup>118</sup>

- Dieta adecuada: las recomendaciones en pacientes con HF incluyen la reducción drástica de grasas saturadas y azúcares refinados de la dieta, con consumo de grasas insaturadas<sup>119</sup> y un aumento en el consumo de verdura, fruta y fibra. El consumo de esteroles y estanoles vegetales puede además reducir los niveles de cLDL en un 10%.<sup>120,121</sup> Aún así el contenido de la dieta (porcentaje de proteínas, carbohidratos y grasas) requerido para mantener un

---

<sup>118</sup> Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al. INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART STUDY): Case-control study. *Lancet* 2004;364:937-52.

<sup>119</sup> Marks D, Thorogood M, Neil HA, Humphries SE. A review on the diagnosis, natural history, and treatment of familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis* 2003;168:1-14.

<sup>120</sup> Ketomaki A, Gylling H, Miettinen TA. Effects of plant stanol and sterol esters on serum phytosterols in a family with familial hypercholesterolemia including a homozygous subject. *J Lab Clin Med* 2004; 143:255-62.

<sup>121</sup> Miettinen TA, Gylling H. Plant stanol and sterol esters in prevention of cardiovascular diseases. *Ann Med* 2004;36:126-34.

peso saludable no parece importar tanto como la reducción en las calorías de la misma.<sup>122</sup>

- Ejercicio físico: la actividad física es otro de los componentes fundamentales en la prevención y mantenimiento de la salud.<sup>123</sup> El ejercicio regular también tiene efectos beneficiosos sobre el riesgo de desarrollar diabetes, hipertensión e hipertrigliceridemia y aumenta los niveles de cHDL, recomendándose en individuos sanos entre 30 y 60 minutos diarios de ejercicio aeróbico moderado.

### 8.3 Farmacoterapia.

El uso de fármacos en los pacientes con HF (**tabla 5**) suele ser necesario ya que, en la mayoría de ocasiones, las medidas sobre los hábitos higiénico-dietéticos no suelen ser, por sí solas, suficientes para alcanzar objetivos terapéuticos en el cLDL.

Las *estatinas* (inhibidores de la 3-hidroxi-3-metilglutamil –coenzima A reductasa) son los agentes de primera elección. Bloquean la síntesis de colesterol en el hígado, deplecionando el contenido hepático de colesterol y aumentando la expresión del RLDL en la superficie celular, lo que conlleva una mayor extracción de cLDL del plasma.<sup>124</sup> Los pacientes con HF tienen un alelo RLDL normal al que regular.

---

<sup>122</sup> Sacks FM, Bray GA, Carey VJ, et al. Comparison of weight-loss diets with different compositions of fat, protein, and carbohydrates. *N Engl J Med* 2009;360:859-73.

<sup>123</sup> Huijgen R, Vissers MN, Defesche JC, Lansberg PJ, Kastelein JJ, Hutten BA. Familial hypercholesterolemia: current treatment and advances in management. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2008;6:567-81.

<sup>124</sup> García-Ríos A, Delgado-Lista J, Martínez P, Fuentes-Jiménez F, Pérez-Jiménez F, López-Miranda J. Eficacia de las estatinas en el manejo de la dislipemia. Un paso adelante. *Rev Esp Cardiol Supl* 2011;11:14-20.

Debido a los elevados niveles basales de cLDL, los pacientes con HF generalmente requieren más de un fármaco para alcanzar objetivos. *Ezetimibe*, un inhibidor de la absorción de colesterol, puede alcanzar en combinación con estatinas hasta un 25% de reducción de las cifras de cLDL plasmático.<sup>125</sup>

Las *resinas de intercambio iónico* (colestiramina, colestipol), inhiben la reabsorción de ácidos biliares y en combinación con estatinas potencian la reducción hasta en un 10-15%.<sup>126</sup>

*El ácido nicotínico* (niacina) también puede utilizarse como régimen de terapia combinada, con una reducción extra de hasta el 20%.<sup>127</sup>

---

<sup>125</sup> Pearson TA, Denke MA, McBride Pe, Battisti WP, Brady WE, Palmisano J. A community-based, randomized trial of ezetimibe added to statin therapy to attain NCEP ATP III goals for LDL cholesterol in hypercholesterolemic patients: the Ezetimibe Add-on to Statin for Effectiveness (EASE) trial. *Mayo Clin Proc* 2005;80:587-95.

<sup>126</sup> MacKenney JM. Pharmacologic options for aggressive low-density lipoprotein cholesterol lowering: benefits versus risks. *Am J Cardiol* 2005;96:60E-66E.

<sup>127</sup> Guyton JR, Goldberg AC, Kreisberg RA, Sprecher DL, Superko HR, O'Connor CM. Effectiveness of once-nightly dosing of extended-release niacin alone and in combination for hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 1998;82:773-43.

**Tabla 5.** Fármacos hipolipemiantes, con el rango de dosis recomendado en la actualidad y el % de reducción en las cifras de cLDL en función del fármaco o grupo farmacológico.

	<b>Dosis recomendada</b>	<b>% Reducción cLDL</b>
<b>Estatinas</b>		
Atorvastatina	10-80 mg	27-48 %
Fluvastatina	40-80 mg	22-27 %
Lovastatina	20-80 mg	22-32 %
Pravastatina	20-40 mg	22-27 %
Rosuvastatina	10-40 mg	37-48 %
Simvastatina	10-80 mg	22-37 %
Pitavastatina	1-4 mg	37-44 %
<b>Inhibidores de la absorción de colesterol y/o ácidos biliares</b>		
Colestiramina	2-24 gramos	20-30 %
Colestipol	5-30 gramos	
Ezetimibe	10 mg	16-18 %
<b>Fibratos</b>		
Bezafibrato	400 mg	5-20 %
Fenofibrato	48-200 mg	
Gemfibrozilo	600-1200 mg	
<b>Niacina</b>		
Ácido Nicotínico	0.5-2 gramos	5-25 %

#### 8.4 Otros tratamientos.

El intercambio plasmático ha demostrado prolongar la vida de niños con HF homocigota.<sup>128</sup> En la actualidad ha sido reemplazado en gran parte por la aféresis de LDL, que disminuye el cLDL de manera similar a la terapia con máximas dosis farmacológicas y es el único tratamiento que disminuye de manera importante Lp(a). No se han desarrollado estudio randomizados sobre la aféresis de LDL pero sería razonable asumir reducciones en los eventos cardiovasculares proporcionalmente a la reducción de los niveles de cLDL que conlleva.<sup>129,130</sup> La aféresis de LDL debería ser considerada en pacientes adultos con HF y alto riesgo, como serían aquellos con enfermedad cardiovascular establecida y refractarios al tratamiento farmacológico o bien intolerantes al mismo.<sup>131</sup>

---

<sup>128</sup> Hudgins LC, Kleinma B, Scheuer A, White S, Gordon BR. Long-term safety and efficacy of low density lipoprotein apheresis in childhood por homozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2008;102:1199-04.

<sup>129</sup> Mabuchi H, Koizumi J, Shimizu M, et al. Long-term efficacy of low-density lipoprotein apheresis on coronary heart disease in familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 1998;82:1489-95.

<sup>130</sup> Thompson GT, Barbir M, Davies D, et al. Efficacy criteria and cholesterol targets for LDL apheresis. *Atherosclerosis* 2009;208:317-21.

<sup>131</sup> Thompson GR. Recommendations for the use of LDL apheresis. *Atherosclerosis* 2008;198:247-55.

## FACTOR VII DE LA COAGULACIÓN

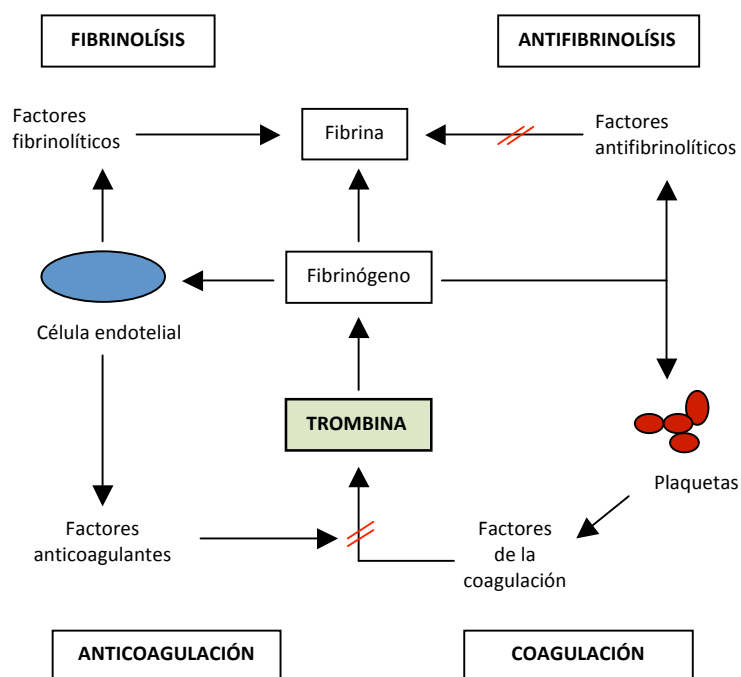
### 1. Hemostasia: generalidades.

La hemostasia es el conjunto de procesos que mantienen la sangre en estado fluido. El sistema hemostático contribuye a una variedad de sistemas esenciales de defensa del organismo. A modo esquemático la hemostasia se divide en cuatro partes interrelacionadas entre sí y ejerciendo cada una de ellas una serie de reacciones e interacciones complejas de los componentes sanguíneos y con la pared del vaso. La Coagulación y Anticoagulación, controlan la formación del coágulo, mientras que la Fibrinólisis y la Antifibrinólisis controlan la eliminación del mismo (**figura 2**).

### 2. Sistema de la Coagulación.

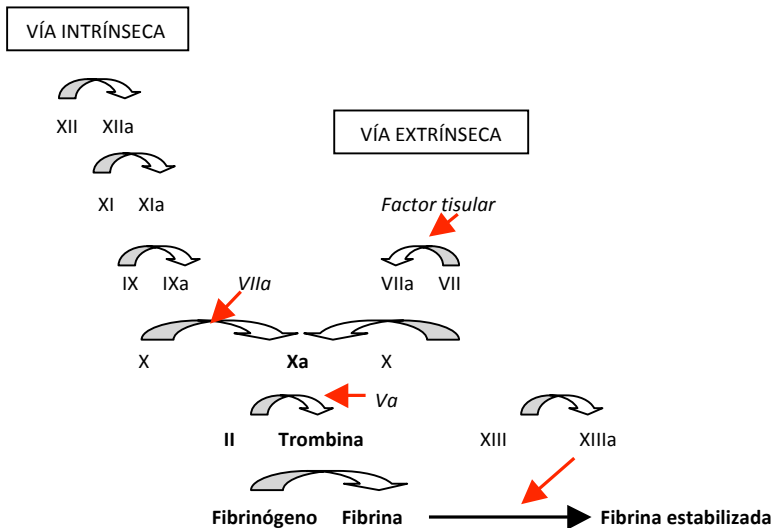
El sistema de la coagulación lo forman diversas proteínas, casi todas enzimas, que circulan en formas inactivas (proenzimas) y que se activan unas a otras secuencialmente, formando una cascada de reacciones enzimáticas. Éstas tienen lugar sobre una superficie, bien sobre las plaquetas o sobre la membrana de la célula endotelial de la pared del vaso, y requieren la presencia de un cofactor no enzimático. Existen dos vías de inicio de la coagulación, la vía intrínseca y la extrínseca (**figura 3**). En la primera la etapa inicial es la activación del factor XII de la coagulación, tras su exposición a superficies cargadas negativamente. La vía extrínseca, la más fisiológica, se inicia por la exposición del factor tisular al torrente circulatorio. Ambas vías poseen como objetivo final

la activación del factor X (factor Xa) y la consiguiente conversión de protrombina (II) en trombina, que iniciaría el proceso de transformación del fibrinógeno en fibrina.



**Figura 2. Sistema Hemostático.** Tanto la coagulación como la anticoagulación y la fibrinólisis y antifibrinólisis están coordinadas por la trombina, la cual modifica las plaquetas para acelerar la coagulación. También modifica las células endoteliales para inhibir la coagulación y para liberar activador del plasminógeno. La trombina convierte al fibrinógeno en fibrina, la cual se polimeriza para formar el coágulo. Y la trombina activa al factor XIII, al cual estabiliza a la fibrina, haciéndola resistente a su disolución. Así, la respuesta del sistema hemostático (formación y disolución del coágulo) es dependiente de la concentración de trombina y de la normalidad de las cuatro dianas sobre las que actúa la trombina (plaquetas, células endoteliales, fibrinógeno y factor XIII).





**Figura 3. Cascada de la coagulación sanguínea, mostrando ambas vías de activación.** Se trata de un esquema simplificado dado que ambas vías poseen múltiples mecanismos de interconexión así como de retroalimentación, tanto positivos como negativos. La trombina activa al factor XII, el cual puede general factor IXa y éste factor Xa, que activa el factor VII. También el factor VIIa/factor tisular puede activar al factor IX, el cual general Xa, que activa al factor VII. Por otra parte, el factor VIIa/factor tisular puede activar al factor IX, el cual general Xa, que activa al factor VII. Por otra parte, el factor XIIa activa a la precalicreína, y la calicreína es un potente activador del factor XII (retroalimentación positiva). La trombina activa también a los cofactores V y VIII, acelerando la propia formación de trombina.

## 2.1 Vía extrínseca.

La vía extrínseca de la coagulación es la vía más importante y relevante desde el punto de vista fisiopatológico.<sup>132</sup> Se inicia tras el contacto del factor tisular (FT), que habitualmente no se encuentra expuesto al torrente circulatorio, a la sangre, normalmente como resultado de un daño endotelial.<sup>133</sup>

<sup>132</sup> Furie B, Furie BC. In vivo thrombus formation. J Thromb Haemost 2007;5 (suppl 1):12-7.

<sup>133</sup> Di Cera E. Thrombin as procoagulant and anticoagulant. J Thromb Haemost 2007;5 (suppl 1):196-2002.

Aunque el FT no tiene actividad enzimática, su unión al factor VII (FVII) induce la activación de éste. Otra posibilidad es que trazas de FVII activado (FVIIa) estén siempre en circulación y se unan al FT tras la exposición del mismo. Este complejo activa trazas de factor X. El complejo iniciador de la vía extrínseca es el formado por el FVIIa (enzima), FT (cofactor), factor X (sustrato), una superficie fosfolipídica e iones calcio. Sin embargo este proceso es relativamente lento y el complejo factor VIIa/FT también es capaz de activar al factor IX (factor de la vía intrínseca) con el fin de acelerar la formación de factor X activado (FXa).

### **3. Caracterización del FVII.**

#### **3.1 Genómica del FVII.**

El gen del FVII (Eig71Ee -Ecdysone-induced gene 71Ee drosophila melanogaster-) ha sido clonado y completamente secuenciado.<sup>134</sup> Se localiza en el cromosoma 13 (13q34), justo 2.8kb por encima del gen del FX, y se compone de 9 exones (exones 1a, 1b,2,3,4,5,6,7,8; el exón 1 es un exón de unión alternativo) que se extienden unos 12kb. Los genes del FVII comparten una estructura intrón-exón similar a otras proteínas plasmáticas de la coagulación vitamina-k dependientes.

---

<sup>134</sup> O'Hara PJ, Grant FJ, Hadelman BA, et al. Nucleotide sequence of the gene coding for human factor VII, a vitamin K-dependent protein participating in blood coagulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84:5158-62.

### 3.2 Proteómica del FVII.

El FVII de la coagulación es una serín-proteína vitamina-K dependiente, de producción hepática, con una masa molecular de 50 kDa y formada por 406 aminoácidos. Su concentración habitual en plasma es muy baja, de unos 0.5 µg/ml,<sup>135</sup> de la cual circula en forma activa entre el 0.5-1% y el resto en forma de zimógeno inactivo.<sup>136</sup> Los niveles plasmáticos de FVII antigénico (FVII:Ag) y del FVII con actividad procoagulante (FVII:C) varían en la población general, influenciada por múltiples factores genéticos y medioambientales (sexo, edad, niveles de colesterol y triglicéridos, etc).<sup>137</sup> Tiene una vida media de unas 4-6 horas y como se ha descrito su función principal radica en la activación de la vía extrínseca de la coagulación.

El FVII es sintetizado como una molécula precursora, constituida por un segmento de 38 aminoácidos previo a la cadena polipeptídica final circulante en plasma. Esta cadena precursora es codificada a partir de los exones 1 y 2. Los 20 aminoácidos iniciales de este segmento poseen una estructura similar al clásico péptido señal y tiene como función permitir el paso a través del retículo endoplásmico rugoso. El resto de aminoácidos poseen una estructura prácticamente similar a la de otros factores de la coagulación vitamina K

---

<sup>135</sup> Fair DS. Quantitation of factor VII in the plasma of normal and warfarin-treated individuals by radioimmunoassay. *Blood* 1983;62:784-91.

<sup>136</sup> Morrissey JH, Macik BG, Neuenschawander PF, Comp PC. Quantitation of activated factor VII levels in plasma using a tissue factor mutant selectively deficient in promoting factor VII activation. *Ibid* 1993;81:734-44.

<sup>137</sup> Van't Hoof FM, Silveria A, Tornvall P, et al. Two common functional polymorphisms in the promoter region of the coagulation factor VII gene determining plasma factor VII activity and mass concentration. *Blood* 1999;93:3432-41.

dependientes (factores IX, X, protrombina y proteína C<sup>138</sup>) y actúa como señal de reconocimiento para una determinada carboxilasa con acción sobre residuos de ácido glutámico.<sup>139,140</sup>

La estructura madura que conforma el FVII está formada por 406 aminoácidos (**figura 4**). En la estructura de su cadena polipeptídica se distinguen diferentes fragmentos:<sup>141,142</sup>

1. Cadena ligera (20kDa), constituida por 152 aminoácidos y con origen a partir del exón 2. En ella se diferencian:

- Dominio *Gla*, constituido por 38 aminoácidos originados a partir del exón 2, contiene 10 residuos de ácido gamma-carboxiglutámico y es el punto de unión de la proteína a los fosfolípidos.

- Una región hidrofóbica denominada hélice aromática, formado por los 6 siguientes aminoácidos (codificada por el exón 3) y cuya estructura recuerda a la encontrada en regiones análogas de otros factores de la coagulación.

- Le siguen dos fragmentos de 36 aminoácidos, el primer y segundo dominios similares al Factor de Crecimiento Epidérmico –EFG–, los EFG 1 y EFG 2 (en los axones de estos dos dominios se establecen puentes de cisteína similares a los del FCE), codificados a partir de los exones 4 y 5.

- Centro de activación del FVII (Arg<sub>152</sub>-Ile<sub>153</sub>; exón 6): en él se produce la ruptura de la forma zimógeno dando lugar a la forma enzimática activa, con la

---

<sup>138</sup> McVey JH, Boswell E, Mumford AD, Kemball-Cook G, Tuddenham EG. Factor VII deficiency and the FVII mutation database. *Hum Mutat* 2001;17:3-17. Review.

<sup>139</sup> Person E, Olssen OH. Activation of loop 3 and the 170 loop interact in the active conformation of coagulation factor VIIa. *FEBS J* 2009 Jun;276:3099-109.

<sup>140</sup> Suttie JW. Vitamin K-dependent carboxylase. *Annu Rev Biochem* 1985;54:459-77.

<sup>141</sup> Chen Y, Quiao J, Tan W, et al. Characterization of porcine factor VII, X and comparison with human factor VII, X. *Blood Cells Mol Dis* 2009;43:111-8.

<sup>142</sup> Thim L, Bjoern S, Christensen M, et al. Amino acid sequence and posttranslational modifications of human factor VIIa from plasma and transfected baby hamster kidney cells. *Biochemistry* 1988;27:7785-93.

generación de dos especies activas unidas por dos cadenas bisulfídicas. El FVIIa no tiene actividad catalítica frente a sus sustratos, FIX y FX, en ausencia del FT.

2. Cadena pesada (30kDa), constituida por 254 aminoácidos (codificados por los exones 7 y 8). Conforman el dominio serin-proteasa C-terminal o centro catalítico, común en otros elementos serin-proteicos de la superfamilia de las tripsinas. En él se define la tríada catalítica (His<sub>193</sub>, Asp<sub>242</sub>, Ser<sub>344</sub>), responsable directa de la acción del FVIIa sobre los factores de la coagulación IX (vía intrínseca) y X (vía común).

El FVII, al igual que ocurre en otros factores de la coagulación, está sometido a varias modificaciones postraduccionales:

- N-glicosilación, sobre los aminoácidos Asn<sub>145</sub> y Asn<sub>322</sub><sup>142</sup>
- O-glicosilación. Afecta a los aminoácidos Ser<sub>52</sub> y Ser<sub>60</sub>.<sup>143</sup> Esta variación confiere al FVII elementos estructurales únicos fundamentales para la rápida asociación del factor VII/VIIa a su receptor celular y cofactor.
- Gamma-carboxilación en diferentes residuos de ácido glutámico en la región N-terminal. Se produce sobre 10 aminoácidos del dominio Gla (cadena ligera) y permite la unión del calcio iónico, paso fundamental en la producción de la variación estructural para la interacción de la propia proteína con las moléculas fosfolípídicas de membrana. Esta modificación precisa de la presencia e intervención de vitamina K y de una carboxilasa.<sup>144</sup>

---

<sup>143</sup> Lino M, Foster DC, Kisiel W. Functional consequences of mutations in Ser-52 and Ser-60 in human blood coagulation factor VII. *Arch Biochem Biophys* 1998;352:182-92.

<sup>144</sup> Wildgoose P, Foster D, Schiødt J, Wiberg FC, Birktoft JJ, Petersen LC. Identification of a calcium binding site in the protease domain of human blood coagulation factor VII: evidence for its role in factor VII-tissue factor interaction. *Biochemistry* 1993;32:114-9.

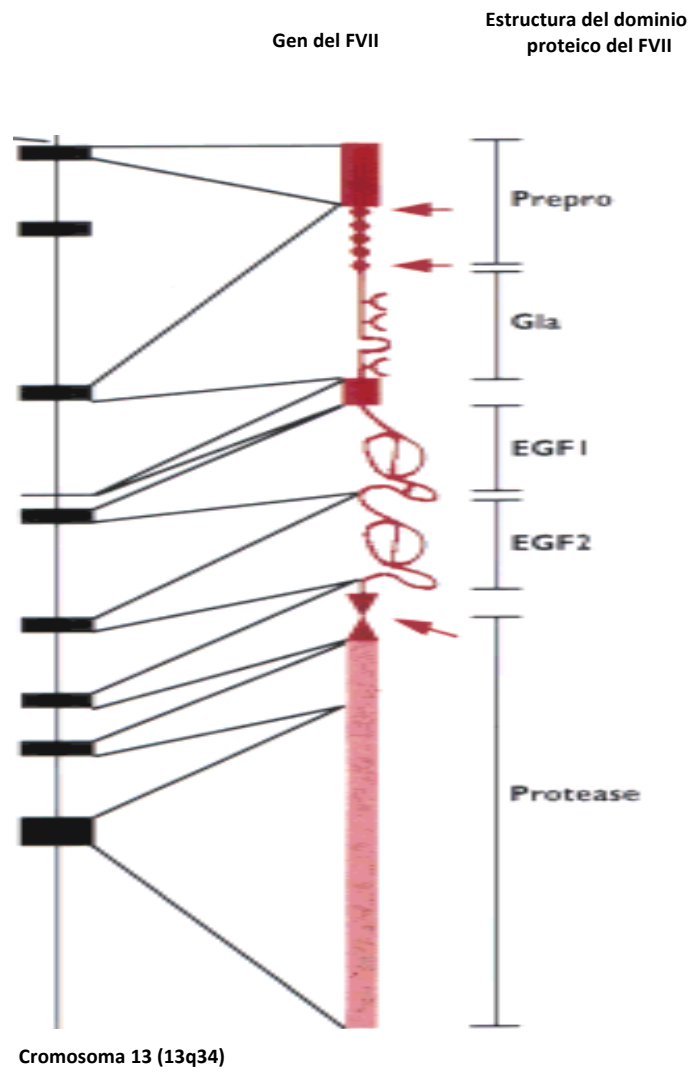


Figura 4. Estructura FVII. Tomada de McVey JH et al. *Hum Mutat* 2001;17:3-17.Review

### 3.3 Variaciones genéticas del FVII.

Múltiples mutaciones y polimorfismos han sido descritos en el gen del FVII.<sup>138</sup> Muchas de estas variaciones se han asociado fundamentalmente con fluctuaciones en los niveles plasmáticos del propio FVII<sup>145,146</sup> tanto en su fracción coagulante (FVII:C) como en la antigénica (FVII:Ag), y la mayoría de los sujetos que las presentan se mantienen asintomáticos o la repercusión sobre su fenotipo se desconoce. En la actualidad la importancia de gran parte de estos polimorfismos se centra en su posible relación con el desarrollo de enfermedad cardiovascular más que en las propias variaciones en los niveles plasmáticos de FVII.

Entre los distintos y múltiples polimorfismos cabría destacar por su importancia el -401G/T (rs7981123), el -402G/A (rs762637), el 5`F7A1/A2, el IVS7, y el polimorfismo R353Q (rs6046).

El polimorfismo -401G/T (rs7981123) y el -402G/A (rs762637) son dos polimorfismos funcionales, no relacionados entre sí, que afectan a la región promotora del gen del FVII y que conllevan la sustitución de una guanina (G) por timina (T) en el primero y de una guanina (G) por adenina (A) en el segundo.<sup>147,148</sup> Ambos influyen de manera importante sobre las propiedades de

---

<sup>145</sup> Feng D, Tofler GH, Martin G, et al. Factor VII gene polymorphism, factor VII levels, and prevalent cardiovascular disease: the Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 200;20:593-600.

<sup>146</sup> Lleal-Sabater M, Chillón M, Howard TE, et al. Functional analysis of the genetic variability in the F7 gene promoter. *Atherosclerosis* 2007;195:262-8.

<sup>147</sup> Pollak ES, Hung H-L, Godin W, Overton GC, High KA. Functional characterization of the human factor VII 5'-flanking region. *J Biol Chem* 1996;271:1738-47.

<sup>148</sup> Van't Hooft F, Silveira A, Tornvall P, et al. Two common functional polymorphisms in the promoter region of the coagulation factor VII gene determinating plasma factor VII activity and mass concentration. *Blood* 1999;93:3434-41.

las proteínas nucleares: el alelo -401T se asocia con la disminución en la actividad basal de transcripción del gen del FVII y con concentraciones bajas de FVII plasmático, mientras que el -402A conlleva un aumento en la actividad transcripcional y se relaciona con niveles elevados del mismo.

El polimorfismo 5'F7 A1/A2<sup>149</sup> se trata de una inserción/delección de 10-bp (decanucleótido) en la posición -323 de la región promotora del FVII (-323P Ins10) y se cree es responsable de entre un 20% y un 40% de las variaciones de los niveles plasmáticos de FVII y de su actividad coagulante.<sup>150</sup> La frecuencia para ambos alelos se estima en 0.83 para la ausencia de la mutación (determinada por el alelo A1) y de 0.17 para su presencia (alelo A2).<sup>151</sup>

El polimorfismo IVS7 ó HVR4 ha sido descrito en la región 4 hipervariable del intron 7 del FVII y se compone de 37-bp.<sup>152</sup> Entre sus alelos se han identificado cuatro fundamentales, uno común (H6) de 443 bp con seis monómeros, uno menos frecuente (H7) de 480 bp y siete monómeros de 37 bp, otro menos frecuente aún (H5) de 406 bp con 5 monómeros y el H8 constituido por 8 monómeros; de estos cuatro monómeros el genotipo H7H7 es el que se asocia con menores niveles de FVII.<sup>153</sup>

---

<sup>149</sup> Green F, Kelleher C, Wilkes H, Temple A, Meade T, Humphries S. A common genetic polymorphism associated with lower coagulation factor VII levels in healthy individuals. *Arterioscler Thromb* 1991;11:540-6.

<sup>150</sup> Kan WY, Wang HL, Xiong LF, et al. Polymorphisms of the coagulation factor VII gene and its plasma levels in relation to acute cerebral infarction: differences in allelic frequencies between Chinese Han and European populations. *Chin Med J (Engl)* 2004;117:71-4.

<sup>151</sup> Bernardi F, Marchetti G, Pinotti M, et al. Factor VII gene polymorphism contribute about one third of the factor VII level variation in plasma. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:72-6.

<sup>152</sup> Marchetti G, Patracchini P, Gemmati D, et al. Detection of two missense mutations and characterization of a repeat polymorphism in the factor VII gene (F7). *Human Genet* 1992;89:497-502.

<sup>153</sup> Iacovello L, Castelnuovo AD, De Knijf P, et al. Polymorphisms in the coagulation factor VII gene and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998;338:79-85.



El polimorfismo R353Q (rs6046, G10976 ó Arg353Gln) del FVII de la coagulación es un polimorfismo de nucleótido simple (SNP), caracterizado por la sustitución de una guanina (G) por una adenina (A) en el dominio catalítico, lo que conlleva el cambio de arginina (R) por glutamina (Q) en el codón 353 de la proteína.<sup>154</sup> La estructura del polimorfismo R353Q es la siguiente:

```
CGATGCCCGTCAGGTACCACGTGCC[A/C/G/T]GGTAGTGGGTGGCATGTGGGCCTCC
```

Su frecuencia es relativamente variable entre distintas poblaciones.<sup>150</sup> Se ha observado una menor frecuencia en el norte de Europa comparado con el sur y en un país como España su frecuencia de distribución es de 0.85 para el alelo R y 0.14 para el alelo Q.<sup>155</sup> Este polimorfismo ha sido relacionado directamente con la variación en la concentración del factor VII en sus distintas fracciones, por ejemplo en su actividad coagulante en hasta un tercio.<sup>156</sup> Además la presencia del alelo Q conlleva menores niveles tanto de FVII:Ag como de FVII:C, lo que se ha relacionado con una posible protección ante fenómenos trombóticos y eventos cardiovasculares (infarto agudo de miocardio).<sup>157</sup>

---

<sup>154</sup> Green F, Kelleher C, Wilkes H, Temple A, Meade T, Humphries S. A common genetic polymorphism associated with lower coagulation factor VII levels in healthy individuals. *Arterioscler Thromb* 1991;11:540-6.

<sup>155</sup> Bernardi F, Arcieri P, Bertina RM, et al. Contribution of factor VII genotype to activated FVI levels. Differences in genotype frequencies between northern and southern European populations. *Arteriocler Thromb Vasc Biol* 1997;17:2548-53.

<sup>156</sup> Girelli D, Russo D, Ferraresi P, et al. Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000;343:774-80.

<sup>157</sup> Lindman AS, Pedersen JL, Arneses H, et al. Coagulation factor VII, R353Q polymorphism, and serum choline-containing phospholipids in males at high risk for coronary heart disease. *Thromb Res* 2004;113:57-65.

#### 4. Factor VII y riesgo cardiovascular.

El FVII de la coagulación es una proteasa dependiente de la vitamina K que juega un papel fundamental en la activación de la vía extrínseca de la coagulación. Se sintetiza en el hígado y se secreta en forma de glucoproteína de cadena simple inactivada. En presencia del factor tisular, el FVII inactivo se transforma mediante proteólisis parcial en su forma activada de doble cadena, el FVIIa. Su activación puede verse determinada por un número importante de factores de la coagulación, incluyendo los factores Xa, IXa, XIIa y la trombina. Tras su activación el factor VIIa convierte a su vez a los factores XI y X en sus formas activas, lo que conlleva el inicio de la generación de trombina y fibrina y la formación del coágulo.

La mayoría de los eventos isquémicos miocárdicos ocurren tras la ruptura de la placa de ateroma que conlleva la formación de un trombo oclusivo.<sup>158</sup> El crecimiento y estabilidad del trombo puede verse afectado por el aumento en la actividad del sistema de la coagulación o bien por la disminución en la actividad fibrinolítica.<sup>159</sup>

La asociación entre los niveles plasmáticos de los factores de la coagulación y los fibrinolíticos y el riesgo de isquemia miocárdica ha sido estudiada de manera extensa.

---

<sup>158</sup> Davies MJ, Thomas AC. Plaque fissuring-the cause of acute myocardial infarction, sudden ischaemic death, and crescendo angina. *Br Heart J* 1985;53:363-73.

<sup>159</sup> Hamsten A. The hemostatic system and coronary heart disease. *Thromb Tes* 1993;70:1-38.

El Northwick Park Heart Study,<sup>160</sup> publicado en 1986 por Meade et al, fue uno de los primeros estudios en mostrar la relación entre el aumento del riesgo cardiovascular y los niveles elevados de fibrinógeno y de varios factores de la coagulación, entre los que se incluían el FVII, encontrando una fuerte asociación entre los eventos isquémicos cardíacos fatales y los niveles de actividad coagulante del FVII, actuando como factor predictor independiente.

El estudio PROCAM (Prospective Cardiovascular Münster)<sup>161</sup> publicado posteriormente, aunque no aportó resultados estadísticamente significativos entre el FVII:C y los eventos coronarios, si detectó una tendencia a niveles elevados del mismo cuando se analizó el subgrupo de pacientes con eventos coronarios fatales.

Iacovello et al publican en 1998 en New England Journal of Medicine un estudio con pacientes cardiopatas en el que plantean la posible influencia directa de los niveles de FVII (tanto de la fracción antigénica como de la actividad coagulante) y el riesgo de infarto de miocardio.<sup>162</sup> Estos hallazgos se amplían en el año 2000 y en la misma revista por Girelli et al, planteándose el efecto protector de las bajas concentraciones plasmáticas de FVII en el desarrollo de infarto agudo de miocardio en pacientes con arteriosclerosis coronaria severa.<sup>163</sup>

---

<sup>160</sup> Meade TW, Mellows S, Brozovic M, et al. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1986;2:533-7.

<sup>161</sup> Heinrich J, Balleisen L, Schulte H, Assmann G, van de Loo J. Fibrinogen and factor VII in the prediction of coronary risk. Results from the PROCAM Study en Healthy Men. *Arterioscl Thromb* 1994;14:54-9.

<sup>162</sup> Iacovello L, Castelnovo AD, De Knijf P, et al. Polymorphisms in the coagulation factor VII gene and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998;338:79-85

<sup>163</sup> Girelli D, Russo D, Ferraresi P, et al. Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000;343:774-80.

Otros estudios relativamente recientes que también han aportado resultados son los de Redondo et al.<sup>164</sup> y Irish et al.<sup>165</sup> En el primero se establece al FVII, y más en concreto sus niveles FVII:C, como factor de riesgo independiente para infarto de miocardio. En el segundo, aunque realizado sobre una población de pacientes trasplantados de riñón en los que existe un estado protrombótico e inflamatorio continuo, también se relaciona los niveles elevados de FVII:C con riesgo cardiovascular elevado.

Sin embargo estos resultados no se confirmaron en estudios paralelos. Al analizar pacientes jóvenes con infarto agudo de miocardio, Moor E et al no encontraron asociación con los niveles de la fracción coagulante del FVII.<sup>166</sup> Lane et al<sup>167</sup> detectaron que, pese a existir diferencias en cuanto a los niveles de FVII:C, éstos no tenían influencia directa sobre el riesgo de infarto de miocardio. Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Doggen et al<sup>168</sup> en un estudio caso-control de pacientes con cardiopatía isquémica dónde se concluye que los niveles elevados de FVII determinados genéticamente no se asocian con el riesgo de infarto agudo de miocardio.

---

<sup>164</sup> Redondo M, Watzke HH, Stucki B, et al. Coagulation factors II, V, VII and X, prothrombin gene 20210 G-A transition and factor V Leiden in coronary artery disease: high factor V clotting activity is an independent risk factor for myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1020-5.

<sup>165</sup> Irish AB, Green FR. Environmental and genetic determinants of the hypercoagulable state and cardiovascular disease in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:167-73.

<sup>166</sup> Moor E, Silveira A, van't Hooft F, et al. Coagulation factor VII mass and activity in young men with myocardial infarction at a young age: role of plasma lipoproteins and factor VII genotype. *Arterioscler Thromb Vas Biol* 1995;15:655-64.

<sup>167</sup> Lane A, Green F, Scarabin PY, et al. Factor VII ARG/Gln353 polymorphism determines factor VII coagulant activity in patients with myocardial infarction (MI) and control subjects in Belfast and in France but is not a strong indicator of MI risk in the ECTIM study. *Atherosclerosis* 1996;119:119-27.

<sup>168</sup> Doggen CJM, Manger Cats V, Bertina RM, Reitsma PH, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. A genetic propensity to high factor VII is not associated with the risk of myocardial infarction in men. *Thromb Haemost* 1998;80:281-5.

La posible relación entre el FVII y el riesgo vascular a otros niveles, como son la enfermedad arterial cerebral y la arterial periférica, también se ha planteado de manera específica. Heywood et al<sup>169</sup> analizaron la relación entre los niveles de FVII:C, el ictus y la evolución de la enfermedad, sin encontrar asociación alguna entre los tres. Un año antes se había publicado, también en *Stroke*, un estudio<sup>170</sup> sobre la posible relación entre ciertas variables hemostáticas y el aumento de grosor íntima-media carotídeo en pacientes con enfermedad arterial periférica de base, encontrándose una asociación positiva entre los niveles de FVII:C y dicho parámetro, estableciéndose la posible relación entre las altas concentraciones de FVII plasmático y la progresión precoz de arteriosclerosis carotídea.

En cuanto a la enfermedad arterial periférica como tal, un estudio publicado a finales de los años ochenta,<sup>171</sup> en el que se analizó 38 pacientes con afectación arterial de miembros inferiores, detectó elevación en los niveles de FVII:Ag y FVII:C, confirmando una relación positiva entre los niveles elevados de FVII y la tendencia a la trombosis. Estos resultados no se han confirmado posteriormente.<sup>172</sup>

---

<sup>169</sup> Heywood DM, Carter AM, Catto AJ, Bamford JM, Grant PJ. Polymorphisms of the factor VII gene and circulating FVII:C levels in relation to acute cerebrovascular disease and poststroke mortality. *Stroke* 1997;28:816-21.

<sup>170</sup> Cortellaro M, Baldassarre D, Cofrancesco E, et al. Relation between hemostatic variables and increase of common carotid intima-media thickness in patients with peripheral arterial disease. *Stroke* 1996;27:450-4.

<sup>171</sup> Orlando M, Leri O, Macioce G, Mattia G, Ferri GM. Factor VII in subjects at risk for thromboembolism: activation or increased synthesis? *Haemostasis* 1987;17:340-3.

<sup>172</sup> Feng D, Tofler GH, Larson MG, et al. Factor VII gene polymorphism, factor VII levels, and prevalent cardiovascular disease. The Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:593-600.

Ante los resultados contradictorios de muchos de estos estudios, varios trabajos más recientes han intentado esclarecer el papel del FVII y su relación con la enfermedad cardiovascular, aunque los resultados obtenidos siguen siendo muy variables.

En pacientes con alto riesgo cardiovascular un estudio noruego publicado en el 2004 observó una menor tasa de infartos de miocardio en aquellos con menores niveles de FVII:C; sin embargo los niveles de FVIIa en estos sujetos se encontraban aumentados con respecto a los pacientes con mayor número de eventos.<sup>173</sup> Otro estudio<sup>174</sup>, un año más tarde, detecta niveles disminuidos de todas las fracciones del FVII (C, Ag, activado) en pacientes caucásicos con cardiopatía isquémica no complicada, observando cierta protección frente a la angina estable con respecto a aquellos con mayores niveles, aunque el grado de afectación de las coronarias era independiente de los niveles. Kathiresan et al, en un estudio formado por un subgrupo del Framingham Heart Study,<sup>175</sup> no detectan relación entre el FVII y el riesgo cardiovascular pese a variaciones en sus niveles. Frente a estos resultados y en este mismo periodo, se publica un estudio que analiza los niveles de FVII y de FT en pacientes con infarto agudo de miocardio, estableciéndose ambos como factores predictores independientes para mortalidad y reinfarcto.<sup>176</sup> Ya en el año 2007 Reiner et al<sup>177</sup> encuentran en un estudio caso-control, que mujeres de edad media con niveles disminuidos de

---

<sup>173</sup> Lindman AS, Pedersen JL, Arnesen H, et al. Coagulation factor VII, R353Q polymorphism, and serum choline-containing phospholipids in males at high risk for coronary heart disease. *Thromb Res* 2004;113:57-65.

<sup>174</sup> Jeffery S, Poloniecki J, Leatham E, et al. A protective contribution of the Q allele of the R353Q polymorphism of the factor VII gene in individuals with chronic stable angina? *Int J Cardiol* 2005;100:395-9.

<sup>175</sup> Kathiresan S, Yang Q, Larson MG, et al. Common genetic variation in five thrombosis genes and relations to plasma hemostatic protein level and cardiovascular disease risk. *Thromb Vasc Biol* 2006;26:1405-12.

<sup>176</sup> Campo G, Valgimigli M, Ferraresi P, et al. Tissue factor and coagulation factor VII levels during acute myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:2800-6.

<sup>177</sup> Reiner AP, Carlson CS, Rieder MJ, et al. Coagulation factor VII gene haplotypes, obesity-related traits and cardiovascular risk in Young women. *J Thromb Haemost* 2007;5:42-9.

FVII presentan disminución en el riesgo de infarto de miocardio, sin que dicha relación directa se observara en aquellas con niveles elevados. Posteriormente un estudio que relaciona marcadores de activación de la coagulación, inflamación y enfermedad cardíaca encuentra significación en los niveles disminuidos de FVII activado, siendo independientes y predictores de enfermedad coronaria.<sup>178</sup> En el año 2009 un estudio chino encuentra elevación de los niveles de FVIIa en pacientes con enfermedad coronaria e infarto de miocardio comparados con una muestra de la población normal.<sup>179</sup> Un año más tarde un estudio publicado por Karatela et al<sup>180</sup> demuestra elevación de los niveles de FVII:C en pacientes con enfermedad cardíaca coronaria, correlacionados además con la presencia de resistencia a la insulina.

En cuanto a la enfermedad cerebrovascular, habría que destacar tres estudios. El primero, con diseño caso-control, publicado en el año 2002 y que no encuentra relación entre los niveles de FVII:C y el ictus en pacientes asiáticos.<sup>181</sup> El segundo, que apareció dos años más tarde, realizado por Kang et al<sup>182</sup> en el que los niveles plasmáticos de FVII:C, FVII:Ag y FVIIa se encuentran incrementados en pacientes con infarto cerebral agudo; concluye que dicha elevación puede contribuir a la trombosis que se produce en el ictus. Y el

---

<sup>178</sup> Miller GJ, Ireland HA, Cooper JA, et al. Relationship between markers of activated coagulation, their correlation with inflammation and association with coronary heart disease (NPHSII). *J Thromb Haemost* 2008;6:259-67.

<sup>179</sup> Huang H, Jia S, Chen S, et al. The coagulation factor VII gene polymorphisms in patients with myocardial infarction in Ningxia Hui and Han populations. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2009;26:653-8.

<sup>180</sup> Karatela RA, Sainani GS. Interrelationships of factor VII activity and plasma leptin with insulin resistance in coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2010;209:235-40.

<sup>181</sup> Kain K, Catto AJ, Young J, Bamford J, Bavington J, Grant PJ. Coagulation factor VII activity, Arg/Gln353 polymorphism and features of insulin resistance in first-degree-relatives of South Asian patients with stroke. *Thromb Haemost* 2002;88:954-60.

<sup>182</sup> Kang WY, Wang HL, Xiong LF, et al. Polymorphisms of the coagulation factor VII gene and its plasma levels in relation to acute cerebral infarction differences in allelic frequencies between Chinese Han and European populations. *Chin Med J* 2004;117:71-4.

tercero, de reciente publicación, detecta variaciones en los niveles de FVII:C en pacientes con ictus, relacionando mayores niveles con aumento del riesgo.<sup>183</sup>

Estos estudios y sus resultados se resumen por orden cronológico en la **tabla 6**.

---

<sup>183</sup> Zakai NA, Lange L, Longstreth WT Jr, et al. Association of coagulation-related and inflammation-related genes and factor VIIc levels with stroke: the Cardiovascular Health Study. *J Thromb Haemost* 2011;9:267-74.



**Tabla 6.** Estudios que relacionan el FVII y la enfermedad cardiovascular.

<b>Estudio</b>	<b>Enfermedad cardiovascular</b>	<b>Resultado</b>
<i>Meade (1986)</i>	Cardiopatía isquémica fatal	Niveles FVII:C factor predictor independiente
<i>Orlando (1987)</i>	Enfermedad arterial periférica	Niveles elevados FVII mayor tendencia a trombosis
<i>Heinrich (1994)</i>	Infarto agudo de miocardio	No relación con los niveles de FVII:C
<i>Moor (1995)</i>	Infarto agudo de miocardio	No relación con niveles FVII:C
<i>Lane (1996)</i>	Infarto agudo de miocardio	No relación con niveles FVII:C
<i>Cortellaro (1996)</i>	Arteriosclerosis carotídea Enfermedad arterial periférica	Aumento grosor intima-media carotídea con niveles altos FVII:C
<i>Heywood (1997)</i>	Enfermedad cerebrovascular	No relación entre niveles FVII, ictus y mortalidad
<i>Irish (1997)</i>	Riesgo cardiovascular en trasplante riñón	Niveles elevados FVII:C mayor riesgo cardiovascular
<i>Doggen (1998)</i>	Infarto agudo de miocardio	Niveles elevados FVII no asociados a mayor riesgo
<i>Iacovello (1998)</i>	Infarto agudo de miocardio	Posible relación entre niveles de FVII y riesgo de infarto
<i>Redondo (1999)</i>	Infarto agudo de miocardio	FVII:C factor de riesgo independiente
<i>Feng (2000)</i>	Enfermedad cardiovascular	No relación con FVII
<i>Girelli (2000)</i>	Infarto agudo de miocardio	Niveles bajos de FVII posible efecto protector
<i>Kain (2002)</i>	Enfermedad cerebrovascular	No relación con niveles de FVII:C
<i>Kang (2004)</i>	Enfermedad cerebrovascular	Aumento de FVIIAg, FVII:C, FVIIa en el ictus agudo
<i>Lindman (2004)</i>	Infarto agudo miocardio	Menos infartos con niveles FVII:C bajos pero niveles FVIIa mayores
<i>Jeffery (2005)</i>	Cardiopatía isquémica no complicada	Menores niveles FVII mayor protección frente a angina estable
<i>Kathiresan (2006)</i>	Enfermedad cardiovascular	No relación con niveles de FVII
<i>Campo (2006)</i>	Infarto agudo de miocardio	Niveles de FVII factor predictor independiente morbimortalidad
<i>Reiner (2007)</i>	Infarto agudo de miocardio	Menores niveles menor número de eventos en mujeres
<i>Miller (2008)</i>	Infarto agudo de miocardio	Niveles FVIIa predictor independiente de eventos
<i>Huang (2009)</i>	Enfermedad coronaria	Niveles elevados de FVIIa
<i>Karatela (2010)</i>	Enfermedad coronaria	Elevación de FVII:C y resistencia insulina
<i>Zakai (2011)</i>	Enfermedad cerebrovascular	Mayor nivel de FVII:C mayor riesgo ictus

## 5. Polimorfismos del FVII y riesgo cardiovascular.

Cómo se ha comentado previamente son múltiples los polimorfismos del FVII que hasta la fecha han sido estudiados, y su posible relación con la enfermedad cardiovascular sigue aportando resultados muy variables dada la heterogeneidad de los trabajos realizados y las conclusiones obtenidas.

Tres polimorfismos determinados del FVII son posiblemente los que más atención han recibido en cuanto a su posible relación con el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular: los polimorfismos 5`F7A1/A2, IVS7, y sobre todo el polimorfismo R353Q (rs6046).

### 5.1 Polimorfismo 5`F7A1/A2.

Por su importancia y los datos que aportan, varios estudios deben ser tenidos en cuenta con respecto al polimorfismo 5`F7A1/A2. El primero publicado en el año 2000<sup>184</sup> encuentra una alta prevalencia del genotipo A2A2 en pacientes con enfermedad coronaria pero sin antecedentes de infarto agudo de miocardio con respecto a aquellos que si habían desarrollado el infarto; se sugiere el posible efecto protector del alelo A2 frente a la trombosis. Ese mismo año otro estudio ya había descrito la mayor frecuencia del alelo A2 en pacientes no afectados de enfermedad cardiovascular<sup>185</sup> y en el año 2002 Shimokata et al<sup>186</sup>

---

<sup>184</sup> Girelli D, Russo D, Ferraresi P, et al. Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000;343:774-80.

<sup>185</sup> Di Castelnuovo A, D'Orazio A, Amore C, Falanga A, Donati MB, Iacoviello L. The decanucleotide insertion/deletion polymorphism in the promoter region of the coagulation factor VII gene and the risk of familial myocardial infarction. *Thromb Res* 2000;98:9-17.

<sup>186</sup> Shimokata K, Kondo T, Ohno M, et al. Effects of coagulation factor VII polymorphisms on the coronary artery disease in Japanese: factor VII polymorphism and coronary disease. *Thromb Res* 2002;105:493-8.

establecen la relación del alelo A2 con el menor riesgo de desarrollar enfermedad arterial coronaria, aunque no lo relaciona con el infarto agudo de miocardio. Frente a estos resultados, dos estudios publicados en fechas similares y analizando ambos pacientes con afectación arteriosclerótica coronaria, no encuentran asociación entre este polimorfismo -323Ins10 y el riesgo de desarrollarla.<sup>187,188</sup>

En relación a la enfermedad cerebrovascular existen tres trabajos, separados varios años pero con resultados similares: Heywood et al<sup>189</sup> no encuentran relación entre el polimorfismo y el desarrollo de ictus, así como en la mortalidad tras el evento agudo. Posteriormente Iniesta et al,<sup>190</sup> en pacientes con migraña y enfermedad isquémica cerebral coexistentes, mantiene esta falta de asociación. Finalmente, pero en pacientes no caucásicos, otro estudio tampoco encuentra relación con el posible efecto protector del alelo A2 ya descrito.<sup>191</sup> Destacar además un estudio que relaciona la presencia del genotipo A1/A2 con la disminución en la actividad coagulante de factores vitamina K dependientes y el aumento en el riesgo de hemorragias.<sup>192</sup>

---

<sup>187</sup> Lievers KJ, Mennen LI, Rattink AP, et al. The -323 Ins10 polymorphism for factor VII is not associated with coronary atherosclerosis in symptomatic men. The REGRESS Study Group. *Thromb Res* 2000;97:275-80.

<sup>188</sup> Jiménez-Boj E, Schuttrumpf J, Forberg E, Watzke HH, Huber K. The decanucleotide polymorphism in the factor VII promoter predicts factor VII plasma levels but not the risk of acute coronary syndromes. *J Thromb Thrombolysis* 2000;10:23-8.

<sup>189</sup> Heywood DM, Carter AM, Catto AJ, Bamford JM, Grant PJ. Polymorphisms of the factor VII gene and circulating FVII:C levels in relation to acute cerebrovascular disease and poststroke mortality. *Stroke* 1997;28:816-21.

<sup>190</sup> Iniesta JA, Corral J, González-Conejero R, Rivera J, Vicente V. Prothrombotic genetic risk factors in patients with coexisting migraine and ischemic cerebrovascular disease. *Headache* 1999;39:486-9.

<sup>191</sup> Kang WY, Wang HL, Xiong LF, et al. Polymorphisms of the coagulation factor VII gene and its plasma levels in relation to acute cerebral infarction differences in allelic frequencies between Chinese Han and European populations. *Chin Med J* 2004;117:71-4

<sup>192</sup> Ito K, Goto K, Sugiura T, et al. Polymorphisms of the factor VII gene associated with the low activities of vitamin K-dependent coagulation factors in one-month-old infants. *Tohoku J Exp Med* 2007;211:1-8.

## 5.2 Polimorfismo IVS7.

Los diferentes alelos del polimorfismo hipervariable de la región 4 del intron 7 (IVS7) han sido relacionados con variaciones en el desarrollo de infarto agudo de miocardio:<sup>193</sup> los genotipos por combinación de alelos H7H5 y la H6H5 se han asociado con el mayor riesgo, seguidos por el H6H6 y H6H7; frente a éstos el genotipo H7H7 se ha relacionado con el menor riesgo de infarto de miocardio. La disminución del riesgo cardiovascular en relación a este polimorfismo también se detecta en el estudio del riesgo de infarto miocárdico familiar de Di Castelnuovo.<sup>194</sup> Aunque no obtiene resultados significativos, la tendencia en la distribución de los alelos entre casos con enfermedad coronaria y controles libres de ella es similar a la obtenida por Iacovello<sup>193</sup> en el estudio que realiza Feng et al.<sup>195</sup> Sin embargo Girelli et al<sup>196</sup> no detectan diferencias significativas en cuanto a la distribución del polimorfismo ISV7 entre pacientes con o sin infarto de miocardio. Resultados similares se habían obtenido ya en un estudio en población japonesa un año antes donde, pese a encontrar variaciones en los niveles de FVII, el polimorfismo no se asoció con infarto de miocardio.<sup>197</sup> Estos resultados se repiten un lustro después pero en población china y analizando enfermedad cerebrovascular.<sup>191</sup> En el año 2010 un estudio

---

<sup>193</sup> Iacovello L, Castelnuovo AD, De Knijf P, et al. Polymorphisms in the coagulation factor VII gene and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998;338:79-85.

<sup>194</sup> Di Castelnuovo A, D’Orazio A, Amore C, Falanga A, Donati MB, Iacoviello L. The decanucleotide insertion/deletion polymorphism in the promoter region of the coagulation VII gene and the risk of familial myocardial infarction. *Thromb Res* 2000;98:9-17.

<sup>195</sup> Feng YJ, Draghi A, Linfert DR, Wu AH, Tsongalis GJ. Polymorphisms in the genes for coagulation factors II, V and VII in patients with ischemic heart disease. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:1230-5.

<sup>196</sup> Girelli D, Russo D, Ferraresi P, et al. Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000;343:774-80.

<sup>197</sup> Tamaki S, Iwai N, Nakamura Y, Tsujita Y, Kinoshita M. Variations of the factor VII gene and ischemic heart disease in Japanese subjects. *Coron Artery Dis* 1999;10:601-6.

polaco de Sakowicz y colegas no encuentra relación entre este polimorfismo y el infarto agudo de miocardio.<sup>198</sup>

### 5.3 Polimorfismo R353Q.

El polimorfismo R353Q (rs6046) es probablemente el más estudiado de todos los relacionados con el FVII de la coagulación, siendo decenas los estudios realizados con el objetivo fundamental de establecer su posible relación con la enfermedad cardiovascular. Sin embargo los resultados obtenidos hasta la fecha son muy variables, con diseños y poblaciones analizadas muy heterogéneas, con objetivos centrados fundamentalmente en la enfermedad coronaria y dentro de ésta a diferentes niveles (infarto agudo de miocardio, angina estable o inestable, estenosis coronaria, aterosclerosis asintomática, etc), siendo mucho menor el análisis de la afectación arterial en otras localizaciones.

Con el fin de resumir los estudios más relevantes así como sus resultados, se presentan ordenados de manera cronológica en la **tabla 7**.

---

<sup>198</sup> Sakowicz A, Fendler W, Lelonek M, Gluba A, Pietrucha T. Two polymorphisms of the FVII gene and their impact on the risk of myocardial infarction in poles under 45 years of age. Mol Biol (Mosk) 2010;44:229-34.

**Tabla 7.** Estudios que relacionan el polimorfismo R353Q y la enfermedad cardiovascular.

Estudio	Enfermedad cardiovascular	Resultados
<i>Green (1991)</i> <sup>215</sup>	Infarto de miocardio Trombosis arterial	Alelo recesivo posible efecto protector
<i>Corral (1998)</i> <sup>199</sup>	Coronaria, ictus y TVP	No relación de los alelos R/Q.
<i>Iacovello (1998)</i> <sup>216</sup>	Infarto de miocardio familiar	Alelo recesivo posible efecto protector Alelo dominante R mayor riesgo
<i>Lee (1999)</i> <sup>200</sup>	Coronaria Arteriosclerosis periférica	No asociación con el polimorfismo
<i>Tamaki (1999)</i> <sup>201</sup>	Cardiopatía isquémica	No asociación (población japonesa)
<i>Girelli (2000)</i> <sup>217</sup>	Infarto de miocardio	Alelo recesivo posible efecto protector
<i>Song (2000)</i> <sup>202</sup>	Coronaria	No asociación con el polimorfismo (población coreana)
<i>Feng (2000)</i> <sup>203</sup>	Coronaria, Cerebrovascular, Claudicación Intermitente, Insuficiencia Cardíaca	No asociación con el polimorfismo
<i>Petrovic (2001)</i> <sup>204</sup>	Coronaria prematura	No asociación con el polimorfismo. Alelo recesivo menos eventos
<i>Wu (2001)</i> <sup>218</sup>	Coronaria Cerebrovascular	Asociación tanto alelo Q como R (metaanálisis). Q posible efecto protector
<i>Batalla (2001)</i> <sup>205</sup>	Coronaria	No asociación con el polimorfismo
<i>Shimokata (2002)</i> <sup>219</sup>	Coronaria	Alelo recesivo posible efecto protector (población japonesa)
<i>Petrovic (2003)</i> <sup>206</sup>	Cerebrovascular	No asociación con el polimorfismo
<i>Geng (2003)</i> <sup>220</sup>	Coronaria (angiografía coronaria)	Alelo recesivo posible efecto protector (población china)
<i>Ogawa (2004)</i> <sup>221</sup>	Infarto de miocardio prematureo	Alelo recesivo posible efecto protector (población japonesa)
<i>Jeffery (2004)</i> <sup>222</sup>	Coronaria	Alelo recesivo posible efecto protector
<i>Lindman (2004)</i> <sup>207</sup>	Coronaria Cardiovascular global	No relación del polimorfismo. Alelo recesivo menos infartos
<i>Kang (2004)</i> <sup>208</sup>	Cerebrovascular	No asociación (población china)
<i>Rubattu (2005)</i> <sup>209</sup>	Cerebrovascular	No asociación con el polimorfismo
<i>Ye (2006)</i> <sup>210</sup>	Coronaria	No asociación (metaanálisis)
<i>Kathiresan (2006)</i> <sup>211</sup>	Coronaria Cardiovascular global	No asociación con el polimorfismo
<i>Reiner (2007)</i> <sup>223</sup>	Coronaria Cardiovascular global	Menor número infartos (mujeres)
<i>Van der Krabben (2008)</i> <sup>212</sup>	Infarto agudo de miocardio	No asociación en la recurrencia
<i>Maguire (2008)</i> <sup>213</sup>	Cerebrovascular	No asociación con el polimorfismo (metaanálisis)
<i>Maitland-van der Zee (2009)</i> <sup>214</sup>	Coronaria	No asociación (interacción con pravastatina)
<i>Fujimaki (2009)</i> <sup>224</sup>	Infarto agudo de miocardio	Alelo recesivo posible protector (población con insuficiencia renal crónica)
<i>Shanker (2009)</i> <sup>228</sup>	Coronaria	Asociación con portadores alelo R
<i>Huang (2009)</i> <sup>225</sup>	Infarto agudo miocardio	Alelo Q posible efecto protector

En dieciséis de los veintiocho estudios que se presentan no se encontró asociación entre el polimorfismo R353Q del FVII y la enfermedad cardiovascular, fundamentalmente a nivel coronario.<sup>199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214</sup>

De estos dieciséis trabajos, seis estudios,<sup>200,203,204,208,209</sup> entre los que se incluye un amplio metaanálisis,<sup>213</sup> analizan también la enfermedad a nivel cerebrovascular y dos<sup>200,203</sup> la enfermedad arterial periférica, manteniéndose esta ausencia de asociación entre el polimorfismo y el riesgo cardiovascular.

<sup>199</sup> Corral J, González-Conejero R, Lozano ML, Rivera J, Vicente V. Genetic polymorphisms of factor VII are not associated with arterial thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1998;9:267-72.

<sup>200</sup> Lee AJ, Fowkes FG, Lowe GD, Connor JM, Rumley A. Fibrinogen, factor VII and PAI-1 genotypes and the risk of coronary and peripheral atherosclerosis: Edinburgh Artery Study. *Thromb Haemost* 1999;81:553-60.

<sup>201</sup> Tamaki S, Iwai N, Nakamura Y, Tsujita Y, Kinoshita M. Variation of the factor VII gene and ischemic heart disease in Japanese subjects. *Coron Artery Dis* 1999;10:601-6.

<sup>202</sup> Song J, Yoon YM, Jung HJ, Hong SH, Park H, Kim JQ. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G promoter polymorphism and coagulation factor VII Arg353Gln polymorphism in Korean patients with coronary artery disease. *J Korean Med Sci* 2000;15:146-52.

<sup>203</sup> Feng D, Tofler GH, Larson MG, et al. Factor VII gene polymorphism, factor VII levels, and prevalent cardiovascular disease: The Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:593-600.

<sup>204</sup> Petrovic D, Zorc M, Keber I, Peterlin B. Joint effect of G1691 factor V point mutation and factor VII Arg/Gln(353) gene polymorphism on the risk of premature coronary disease. *Ann Genet* 2001;44:33-6.

<sup>205</sup> Batalla A, Alvarez R, Reguero JR, et al. Lack of association between polymorphisms of the coagulation factor VII and myocardial infarction in middle-aged Spanish men. *Int J Cardiol* 2001;80:209-12.

<sup>206</sup> Petrovic D, Milanez T, Kobal J, Bregar D, Potisk KP, Peterlin B. Prothrombotic gene polymorphisms and atherothrombotic cerebral infarction. *Acta Neurol Scand* 2003;108:109-13.

<sup>207</sup> Lindman AS, Pedersen JJ, Arnesen H, et al. Coagulation factor VII, R353Q polymorphism, and serum choline-containing phospholipids in males at high risk for coronary heart disease. *Thromb Res* 2004;113:57-65.

<sup>208</sup> Kang WY, Wang HL, Xiong LF, et al. Polymorphisms of the coagulation factor VII gene and its plasma levels in relation to acute cerebral infarction differences in allelic frequencies between Chinese Han and European populations. *Chin Med J* 2004;117:71-4.

<sup>209</sup> Rubattu S, Di Angelantonio E, Nitsch D, et al. Polymorphisms in prothrombotic genes and their impact on ischemic stroke in a Sardinian population. *Thromb Haemost* 2005;93:1095-100.

<sup>210</sup> Yen Z, Liu EH, Higgins JP, et al. Seven haemostatic polymorphisms in coronary disease: meta-analysis of 66155 cases and 91397 controls. *Lancet* 2006;367:651-8.

<sup>211</sup> Kathiresan S, Yang Q, Larson MG, et al. Common genetic variation in five thrombosis genes and relations to plasma hemostatic protein level and cardiovascular disease risk. *Thromb Vasc Biol* 2006;26:1405-12.

<sup>212</sup> Van der Krabben MD, Rosendaal FR, Van der Bom JG, Doggen CJ. Polymorphisms in coagulation factors and the risk of recurrent cardiovascular events in men after a first myocardial infarction. *J Thromb Haemost* 2008;6:720-5.

<sup>213</sup> Maguire JM, Thakkestian A, Sturm J, et al. Polymorphisms in platelet glycoprotein 1b $\alpha$  and factor VII and risk of ischemic stroke. A meta-analysis. *Stroke* 2008;39:1710-6.

<sup>214</sup> Maitland-van der Zee, AH, Peters BJ, Lynch AI, et al. The effect of nine common polymorphisms in coagulation factor genes (F2, F5, F7, F12 and F13) on the effectiveness of statins: the GenHAT study. *Pharmacogenet Genomics* 2009;19:338-44.

Sin embargo, pese a no establecer clara relación, los estudios de Petrovic<sup>204</sup> y Lindman<sup>207</sup> detectan un menor número de eventos coronarios en aquellos pacientes portadores del alelo recesivo Q comparados con aquellos sujetos RR.

Frente a estos resultados once estudios<sup>215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225</sup> plantean claramente el más que probable efecto protector del alelo Q, observándose que su presencia conllevaría un menor desarrollo de infarto agudo de miocardio incluso en pacientes con aterosclerosis avanzada demostrada a nivel local mediante pruebas invasivas (arteriografía coronaria).<sup>220</sup> En este grupo de trabajos destaca de manera importante el meta-análisis de Wu et al<sup>218</sup> que, a diferencia del resto de los estudios, encuentra menor riesgo cardiovascular tanto en aquellos pacientes portadores del genotipo RQ y QQ como del RR (homocigoto dominante) y tanto para enfermedad coronaria como para la cerebrovascular; esta disminución sigue siendo mayor con la presencia

<sup>215</sup> Green F, Kelleher C, Wilkes H, Temple A, Meade T, Humphries S. A common genetic polymorphism associated with lower coagulation factor VII levels in healthy individuals. *Arterioscler Thromb* 1991;11:540-6.

<sup>216</sup> Iacovello L, Castelnuovo AD, De Knijf P, et al. Polymorphisms in the coagulation factor VII gene and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998;338:79-85.

<sup>217</sup> Girelli D, Russo D, Ferraresi P, et al. Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000;343:774-80.

<sup>218</sup> Wu AH, Tsongalis GJ. Correlation of polymorphisms to coagulation and biochemical risk factors for cardiovascular diseases. *Am J Cardiol* 2001;87:1362-6.

<sup>219</sup> Shikomata K, Kondo T, Ohno M, et al. Effects of coagulation Factor VII polymorphisms on the coronary artery disease in Japanese: Factor VII polymorphism and coronary disease. *Thromb Res* 2002;15:493-8.

<sup>220</sup> Geng X, Jin GD, Fu GS, Ji MA, Shan J, Wang JA. Polymorphisms in the genes for coagulation factor II,V,VII in patients undergoing coronary angiography. *J Zhejiang Univ Sci* 2003;4:369-73.

<sup>221</sup> Ogawa M, Abe S, Biro S, et al. R353Q polymorphism, activated factor VII, and risk of premature myocardial infarction in Japanese men. *Circ J* 2004;68:520-5.

<sup>222</sup> Jeffery S, Poliniecki J, Leatham E, et al. A protective contribution of the Q allele of the R353Q polymorphism of the factor VII gene in individuals with chronic stable angina? *Int J Cardiol* 2005;28:395-9.

<sup>223</sup> Reiner AP, Carlson CS, Rieder MJ, et al. Coagulation factor VII genes haplotypes, obesity-related traits, and cardiovascular risk in young women. *J Thromb Haemost* 2007;5:42-9.

<sup>224</sup> Fujimaki T, Kato K, Yoshida T, et al. Association of genetic variants with myocardial infarction in Japanese individuals with chronic kidney disease. *Thromb Haemost* 2009;101:963-8.

<sup>225</sup> Huang H, Jia S, Chen S, et al. The coagulation factor VII gene polymorphisms in patients with myocardial infarction in Ningxia Hui and Han populations. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2009;26:653-8.



del alelo Q. El estudio de Shimokata et al<sup>219</sup> establece el menor riesgo de desarrollar enfermedad arterial coronaria en los portadores del alelo Q pero no encuentra relación directa con el infarto agudo. A este respecto, Huang et al<sup>225</sup> si que establece un posible efecto protector del alelo Q frente al infarto agudo de miocardio en población china. Destaca también el estudio de Ogawa et al<sup>221</sup> en el que, aún sin encontrar un solo genotipo QQ entre los 127 pacientes con infarto agudo de miocardio precoz ( $\leq 45$  años) que analiza, si que detecta asociación negativa entre este alelo Q y el infarto prematuro.

Este efecto protector, paradójicamente, sólo se observa de manera clara a nivel coronario siendo escaso a nivel cerebral e inexistente en la enfermedad arterial periférica. En los cuatro estudios en los que se valora el riesgo cardiovascular de manera global<sup>215,207,211,223</sup> se mantiene la posible variación en cuanto al número de eventos sólo en la enfermedad vascular cardiaca.

Sólo en uno de los estudios<sup>203</sup> se establece como objetivo la insuficiencia cardiaca, sin encontrarse asociación. Por otro lado y coincidiendo con los resultados de otros estudios centrados en la Enfermedad Tromboembólica Venosa (ETE),<sup>226,227</sup> Corral et al<sup>199</sup> no encuentran tampoco relación del polimorfismo con la trombosis venosa profunda.

Frente al metaanálisis anterior,<sup>218</sup> el realizado por Zheng et al<sup>210</sup> en más de 66.000 casos y de 91.000 controles donde se analizan siete polimorfismos

---

<sup>226</sup> Koster T, Rosendaal FR, Reitsma PH, et al. Factor VII and fibrinogen levels as risk factors for venous thrombosis. A case control study of plasma levels and DNA polymorphisms. The Leyden Thrombophilia Study (LETS). *Thromb Haemost* 1994;71:719-22.

<sup>227</sup> Austin H, Hooper WC, Lally C, et al. Venous thrombosis in relation to fibrinogen and factor VII genes among African Americans. *J Clin Epidemiol* 2000;53:997-01.

hemostáticos en la enfermedad coronaria, incluyendo el R353Q del FVII, encuentra nula asociación.

En cuanto al aumento del riesgo cardiovascular en aquellos pacientes portadores del alelo R, el estudio de Iacovello et al<sup>216</sup> encuentra mayor riesgo de infarto agudo de miocardio en los portadores del genotipo RR. Además, un trabajo indio relativamente reciente realizado por Shanker et al<sup>228</sup> en pacientes con enfermedad coronaria, encuentra una mayor tendencia a desarrollar la enfermedad en aquellos sujetos portadores del alelo R (RR y RQ).

Gran parte de estos estudios, donde se valora la variación en cuanto al riesgo de desarrollar eventos cardiovasculares dependiendo de un determinado genotipo del polimorfismo R353Q o incluso de ser portador de uno u otro de sus alelos, plantean como posible justificación la modificación en los niveles plasmáticos de FVII. Green et al<sup>215</sup> establecen el efecto protector del alelo Q debido a la disminución en los niveles de FVII:C en los pacientes portadores del mismo. Iacovello et al<sup>216</sup> encuentran menores niveles de FVII:Ag y FVIIa asociados al genotipo QQ, con una menor tasa de infarto de miocardio familiar. Girelli et al<sup>217</sup> encuentran disminución en los niveles de FVIIa en relación al alelo Q. Shikomata et al<sup>219</sup>, en su estudio sobre población japonesa, establecen la misma relación. Ogawa et al<sup>221</sup> describen menores niveles de FVII:Ag con la presencia del alelo Q y el estudio de Jeffery et al<sup>222</sup> detecta disminución en las fracciones antigénica, coagulante y activada del FVII. Los estudios de Reiner et

---

<sup>228</sup> Shanker J, Perumal G, Maitra A, et al. Genotype-phenotype relationship of F7 R353Q polymorphism and plasma factor VII coagulant activity in Asian Indian families predisposed to coronary artery disease. *J Genet* 2009;88:291-7.

al<sup>223</sup> y Huang et al<sup>225</sup> confirman esta variación asociada al alelo. Frente a estos resultados comentar un trabajo donde, pese a no encontrarse relación directa con el polimorfismo R353Q, si que se describen menos infartos de miocardio en aquellos sujetos portadores del alelo recesivo, si bien los niveles de FVII presentan variaciones importantes, estando disminuidos en su fracción activada pero aumentados en la antigénica.<sup>207</sup> Finalmente destacar el estudio ya comentado de Shanker et al<sup>228</sup> donde se demuestran niveles elevados de FVII:C asociados al alelo dominante (R), aumentando el riesgo de enfermedad coronaria.

En definitiva, estos resultados confieren todo el interés y actualidad al posible papel del polimorfismo R353Q en el desarrollo y variación del riesgo cardiovascular.

## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**



Los pacientes con HF presentan un elevado riesgo de enfermedad cardiovascular, fundamentalmente a nivel coronario y de manera precoz. El estudio de los mecanismos que favorecen el desarrollo de enfermedad cardiovascular en estos pacientes resulta de gran interés, dada la variabilidad tanto clínica como de respuesta terapéutica que caracteriza a este trastorno lipídico. Uno de los componentes de la hemostasia que ha planteado mayor interés por su posible papel en el desarrollo de estos eventos cardiovasculares es el FVII, y en concreto varios de sus polimorfismos. El polimorfismo R353Q (rs6046) del FVII de la coagulación se ha relacionado en múltiples estudios con variaciones en el desarrollo de enfermedad cardiovascular. Hasta lo que conocemos, ningún estudio ha relacionado el riesgo cardiovascular en la HF y el FVII de la coagulación.

Intentamos probar la hipótesis de si el polimorfismo R353Q (rs6046) del FVII de la coagulación podría ser predictor de riesgo cardiovascular en dichos pacientes.

**A. OBJETIVO PRINCIPAL**

Analizar si el polimorfismo R353Q (rs6046) del FVII de la coagulación predice la incidencia de enfermedad cardiovascular en una cohorte de HF, para lo cual se estudiaron pacientes afectados de Hipercolesterolemia Familiar heterocigota con y sin enfermedad cardiovascular (casos) y pacientes no afectados de Hipercolesterolemia Familiar heterocigota con y sin enfermedad cardiovascular (controles).

**B. OBJETIVOS SECUNDARIOS**

1. Estudiar la distribución genotípica del polimorfismo R353Q del FVII y los niveles plasmáticos de FVII tanto en los pacientes con HF como en los controles.
2. Valorar la posible relación entre los distintos genotipos y la enfermedad cardiovascular en pacientes con HF en función del territorio afectado.
3. Analizar las concentraciones plasmáticas de FVII en aquellos pacientes con HF en función de la presencia o no de enfermedad cardiovascular.
4. Evaluar el índice de masa corporal y los parámetros básicos del perfil lipídico (colesterol total, cLDL, cHDL y triglicéridos) en los pacientes con HF y en los controles, valorando la posible relación entre los distintos genotipos y dichas variables dependientes.

# DISEÑO Y METODOLOGÍA





## **1. Cohorte Española de Hipercolesterolemia Familiar.**

Los pacientes del estudio fueron seleccionados de la cohorte que la Fundación Española de Hipercolesterolemia Familiar tiene en España ([www.colesterolfamiliar.com](http://www.colesterolfamiliar.com)). Esta cohorte está formada por más de 1260 pacientes procedentes de familias distintas de diversas regiones del país.

La cohorte de pacientes con HF se creó con el objetivo de desarrollar un programa de seguimiento y evaluación periódica a largo plazo de familias con este diagnóstico lo que permitiría estudiar el riesgo (pronóstico) y la supervivencia en función de las características sociodemográficas, clínicas (fenotípicas) y genotípicas de los pacientes.

Inicialmente los pacientes fueron reclutados de 10 centros hospitalarios españoles y en la actualidad hasta 80 unidades de lípidos a lo largo de todo el país se encuentran participando en la cohorte bajo un protocolo estandarizado y con datos recogidos de manera homogénea por todas ellas.

### **1.1. Funciones de las Unidades de Lípidos.**

Las funciones de las unidades implicadas en su creación se recogieron siguiendo un protocolo estandarizado en el que existía un centro coordinador de referencia con sede en Madrid (Fundación de Hipercolesterolemia Familiar) encargado de coordinar las distintas unidades de lípidos participantes en el proyecto. Tanto el centro coordinador como las unidades de lípidos siguieron el protocolo previamente establecido, en el que aparecían definidas las funciones y objetivos de cada una de las partes.

### 1.1.1. Funciones del Centro Coordinador.

El centro coordinador de creación de la cohorte fue la Fundación de Hipercolesterolemia Familiar. Desde la fundación se estableció el manual de operaciones implicadas en el protocolo y además de coordinar, fue el centro de referencia para cada una de las unidades de lípidos implicadas en el proyecto.

Las funciones del centro coordinador fueron las siguientes:

- Diseño de protocolo, manual de operaciones, cuaderno de registro y base de datos.
- Contacto con centros e identificación de coordinadores locales.
- Estudio piloto: identificación y registro de familiares de casos índice.
- Apoyo a las unidades de lípidos para el contacto con los participantes, el recuerdo de citas y la recopilación de información epidemiológica.
- Contactos con médicos de Atención Primaria.
- Seguimiento bianual de la cohorte de familiares.
- Coordinación para la recogida de información genética, clínica y epidemiológica con unidades de lípidos y laboratorios.
- Evaluación de eventos cardiovasculares (enfermedad coronaria, enfermedad cerebrovascular y enfermedad arterial periférica) y episodios fatales (Instituto Nacional de Estadística), estableciendo un comité independiente de confirmación de eventos de acuerdo con los criterios OMS-MONICA.<sup>229,230</sup>

---

<sup>229</sup> Keil U, Liese AD, Hense HW, et al. Classical risk factors and their impact on incident non-fatal and fatal myocardial infarction and all-cause mortality in southern Germany. Results from the MONICA Augsburg Cohort Study 1984-1992. Eur Heart J 1998;19:1197-07.

-Análisis estadístico de datos (demográficos, clínicos, analíticos, genéticos) y estimación del riesgo global individual según escala de riesgo Framingham.

### **1.1.2. Funciones de las Unidades de Lípidos.**

Las funciones de las distintas unidades de lípidos implicadas en el proyecto se encontraban recogidas dentro del protocolo diseñado y todas debían de seguir los mismos criterios en la recogida de datos con el fin de homogeneizar toda la información.

Las funciones recogidas dentro del protocolo para cada una de las unidades de lípidos fueron:

- Citación y contacto con los casos índice y familiares de 1º y 2º grado del caso índice.
- Programación de las visitas con los participantes en el estudio.
- Información a los participantes.
- Obtención del consentimiento informado.
- Realización de una entrevista médica estructurada y recogida de encuesta dietética.
- Realización de un examen clínico estandarizado.
- Extracción de muestras de sangre y orina.
- Envío de muestras de sangre y orina al laboratorio centralizado.
- Grabación de los datos en una base de datos informatizada.

---

<sup>230</sup> Tunstall-Pedoe H. WHO MONICA Project Principal Investigators. The World Health Organization MONICA project (monitoring of trends and determinants in cardiovascular disease): a major international collaboration. J Clin Epidemiol 1988;35:105-14.

## 1.2. Descripción de las visitas.

Para llevar a cabo las exploraciones establecidas en el protocolo se realizaron un máximo de dos visitas, cada una de ellas con unos objetivos previamente definidos. Las unidades de lípidos organizaron su calendario de la forma más eficiente, según sus posibilidades. El procedimiento que se llevó a cabo fue el siguiente:

- Se programó, por teléfono, una cita para la primera visita y se asignó al paciente un número de identificación (dado por el centro de coordinación al responsable de la unidad de lípidos).
- Se hizo un recordatorio mediante comunicación telefónica con información del proyecto que incluía las instrucciones de la primera visita, pidiéndole al sujeto que aportara:
  - Muestras de toda su medicación habitual tanto prescritas como automedicación, vitaminas y suplementos dietéticos.
  - Nombre, dirección completa y teléfono de su médico de Atención Primaria.
  - Se le recomendó que vistiera ropa comfortable.
  - Se dieron instrucciones para ir en ayunas y con muestra de orina recogida en la mañana de la cita.
- Las visitas se realizaron en un tiempo máximo de un mes.
- En ambas visitas era necesario que el sujeto estuviera en ayunas de al menos 12 horas aunque se le permitió tomar la medicación prescrita por su médico.

- Si el individuo fumaba, debía evitarlo durante la mañana del estudio.
- Se recomendó no realizar ningún otro ejercicio intenso los dos días previos a la cita.
- El personal del estudio se aseguró antes de la llegada de los pacientes, que los formularios, tubos de muestras de sangre y orina estaban preparados e indentificados.
- Cuando el participante llegó, se le agradeció su cooperación y se le explicó nuevamente en que consistía el estudio. El individuo podía recibir información sobre su estado de salud si lo deseaba.
- Se le informó sobre el objetivo del estudio y en que consistirían las exploraciones ese día.
- El participante debía leer y firmar entonces el consentimiento informado con consentimiento específico para el ADN y material genético.

#### **1.2.1 Funciones durante la primera visita.**

Durante la primera visita se cumplió el siguiente protocolo:

- Explicación del estudio y firma del consentimiento informado.
- Entrevista clínica estructurada mediante cuestionario.
- Exploración física que incluía:
  - Antropometría. Se anotó el peso (Kg) y se midió la talla (cms), la cintura (cms), la cadera (cms) y pliegue tricipital.

- Determinación de la tensión arterial en brazo con aparato OMROM 705 (IntelliSense Blood Pressure Monitor, Model HEM705C, de Omron); tanto la presión arterial sistólica (PAS) como la diastólica (PAD) se tomaron en dos ocasiones sucesivas (mmHg) separadas 5 minutos.
- Toma de presión sistólica en tobillo con aparato a medida OMROM 705 en determinaciones sucesivas (mmHg) separadas cinco minutos.
- Toma de frecuencia cardiaca (FC) y tipo de ritmo cardiaco en dos ocasiones sucesivas (latidos por minuto).
- Búsqueda de soplos cardiacos y vasculares (carotídeos, femorales, etc).
- Exploración de pulsos periféricos.
- Exploración de arco corneal.
- Exploración de xantomas tendinosos (aquíleos, extensores de la mano, codos, rodillas, palmares).
- Electrocardiograma (EKG). Si no era posible la realización del mismo en esta primera visita se citaría al paciente para su realización en la 2ª visita. Era válido un EKG realizado en los 6 meses anteriores.
- Se debían extraer muestras sanguíneas para realizar hemograma y perfil bioquímico.
- Radiografía de tórax (válida una radiografía obtenida en el último año).

### **1.2.2 Funciones durante la segunda visita.**

Esta visita se realizó como complementaria de la primera si no se había logrado realizar todo lo previsto en la misma.

Se consideró hipertenso a todo sujeto con una media de los valores de dos tomas de presión arterial sistólica y/o diastólica en sedestación, mayores o iguales a 140/90 mmHg, respectivamente, y/o cifras inferiores de presión arterial pero en tratamiento activo con fármacos antihipertensivos (criterio JNC-VI).<sup>231</sup>

Se siguieron los criterios de la Asociación Americana de Diabetes (ADA),<sup>232</sup> por los que se consideraba diabético a aquellos sujetos con:

1. Síntomas de diabetes asociados al hallazgo de una glucemia  $\geq$  a 200 mg/dl en una determinación aislada llevada a cabo a cualquier hora del día independientemente de la hora de la última comida. Los síntomas de diabetes incluyen poliuria, polidipsia y pérdida de explicada de peso, o
2. Glucemia en ayunas  $\geq$  126 mg/dl (ayuno de 8 horas o más), o
3. Glucemia  $\geq$  200 mg/dl a las 2 horas de la prueba de sobrecarga oral con 75 g de glucosa disueltos.

Para la definición de obesidad se siguieron los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS), según la cual se considera obeso a toda persona con un índice de masa corporal (IMC)  $\geq$  30 kg/m<sup>2</sup> y sobrepeso a toda persona con un IMC entre 25 y 29.9 kg/m<sup>2</sup>.

---

<sup>231</sup> Sixth report of Joint National Committee on Prevention. Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure (JNC VI). Arch Intern Med 1997;157:2413-46.

<sup>232</sup> American Diabetes Association Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 1997;4:534-6.



## 2. Población a estudio.

### 2.1 Proceso de selección de los participantes.

Los pacientes de nuestro estudio fueron seleccionados de la cohorte que la Fundación Española de HF tiene en nuestro país.<sup>233</sup>

Dentro de cada familia recogida de la cohorte existe un caso índice que es el que ha transmitido la enfermedad a sus descendientes. Por tanto, la cohorte está compuesta por pacientes con HF (caso índice) y familiares con y sin HF, según hayan heredado o no la enfermedad. De los 1260 sujetos registrados en la cohorte existen 303 casos índice (pacientes con HF) y 957 familiares entre afectados o no de HF. Entre casos índice y familiares que han heredado la enfermedad, un total de 795 pacientes tiene un diagnóstico de certeza de HF por presentar una mutación en el gen del RLDL. El diagnóstico de certeza se suele realizar a pacientes con un diagnóstico clínico > a 6 puntos dentro de los criterios MEDPED para diagnóstico clínico de HF.

Para el estudio fueron seleccionados sólo sujetos con un diagnóstico de certeza de HF. Con el fin de homogeneizar la muestra y tras eliminar los sujetos con datos perdidos en el proceso de genotipado y la eliminación de aquellos con datos faltantes en alguna de las variables principales estudiadas (colesterol total, cLDL, cHDL, triglicéridos, polimorfismo R353Q del FVII y FVII:Ag), la muestra de pacientes con HF quedó comprendida en 546 sujetos, con 174 controles sin HF.

---

<sup>233</sup> Mata P, Alonso R, Castillo S, Pocovi M; Spanish Group of Familial Hypercholesterolemia. MEDPED and the Spanish familial hipercholesterolemia foundation. *Atherosclerosis* 2002;2:9-11.

## **2.2 Criterios de inclusión.**

Se aplicaron los siguientes criterios de inclusión:

1. Familiares de primer grado naturales (padres, hermanos, hijos) y segundo grado naturales (abuelos, sobrinos, primos,tíos) de los casos afectos de HF con una edad mayor a los 15 años.
2. Diagnóstico genético de HF (mutación en el gen del RLDL) y perteneciente a la cohorte de seguimiento de HF.
3. Sin antecedente de otras enfermedades del metabolismo lipídico.
4. Firma del consentimiento informado genérico de participación en la cohorte de HF.

## **2.3 Criterios de exclusión.**

Se siguieron los siguientes criterios de exclusión:

1. Diagnóstico clínico de HF según los criterios MEDPED de la OMS de 1992.
2. Historia clínica o de laboratorio incompleta dentro de la base de HF.
3. Imposibilidad física o mental para acudir a las citas programadas por el médico.
4. Personas institucionalizadas en centros.
5. Incapacidades para dar el consentimiento informado.

### 3. Diseño del estudio.

#### 3.1 Cálculo del tamaño muestral.

En el cálculo del tamaño muestral se tuvieron en cuenta las siguientes asunciones:

-Variables principales del estudio:

a) Proporción de genotipos del FVII R353Q.

Diferencias mínimas esperadas: 16.3% (75.4 – 59.1)

Riesgo alfa = 0.05

Potencia (1- $\beta$ ) = 0.90 (90%)

Pérdidas estimadas: 5%

En base a estas premisas se precisaban al menos 165 pacientes.

b) Niveles de FVII:Ag.

Diferencias mínimas esperadas: 104 ng/ml

Riesgo alfa = 0.05

Potencia (1- $\beta$ ) = 0.90 (90%)

Pérdidas estimadas: 5%

En base a estas premisas se precisaban al menos 65 pacientes.

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba y la Fundación Jiménez Díaz (Madrid).

### 3.2 Características del estudio.

Se trata de un estudio caso-control, de corte transversal, en el seno de la Cohorte Española de Hipercolesterolemia Familiar. La muestra seleccionada estaba formada 720 sujetos, entre los que se encontraban 546 sujetos con diagnóstico genético de HF (por presentar mutación en el gen del RLDL) y 174 controles sin la enfermedad. A todos se les realizó el polimorfismo R353Q del FVII de la coagulación (rs6046) con el fin de estudiar si su presencia podría o no ser predictora de riesgo cardiovascular.

Tras el análisis del polimorfismo los sujetos se dividieron en distintos grupos: homocigotos para el alelo de mayor frecuencia (RR), homocigotos para el alelo de menor frecuencia (QQ) o heterocigotos (RQ). Según los resultados obtenidos, modelo dominante o recesivo, los individuos fueron agrupados en dos subgrupos en función del alelo R o Q (RR vs RQ/QQ).

Además se determinaron los niveles de FVII:Ag a un subgrupo de pacientes de la población inicial a estudio, 160 casos con HF y 160 controles sin la enfermedad. En ambos grupos había tanto pacientes con enfermedad cardiovascular como pacientes sin ella.

#### **4. Determinaciones analíticas.**

##### **4.1 Extracción y almacenamiento de las muestras de sangre.**

El proceso llevado a cabo para la extracción y almacenamiento de las muestras fue el siguiente:

- Las muestras sanguíneas se recogieron en la primera visita.
- Las muestras se debían de extraer después de un periodo de ayuno de al menos 12 horas.
- Durante la extracción el participante permanecería en una posición estándar (sedestación).
- Para evitar la hemoconcentración, una vez insertada la aguja, se retiró el compresor y esperó unos 10 segundos antes de la extracción de la muestra.
- Para evitar la hemólisis, se retiró la aguja de la jeringa antes de pasar la a los tubos de recogida. Asimismo los tubos tenían anticoagulante.
- Se recogieron 4 tubos de sangre, 1 tubo de EDTA (10 ml) para la obtención de determinación de análisis de bioquímica y perfil lipídico, y un tubo con citrato (10 ml) para la obtención de plasma.
- Todas las muestras debían tener las etiquetas de identificación con el mismo código.
- También se extrajeron muestras para realizar hemograma (hematocrito, hemoglobina, leucocitos, plaquetas, recuento de linfocitos, recuento de neutrófilos y velocidad de sedimentación globular) y perfil bioquímico (glucosa, colesterol total, cHDL, cLDL, triglicéridos, creatinina, ácido

úrico, AST, ALT, GGT, fosfatasa alcalina, Lp(a), LPO, LDL-oxidasa, CPK, TSH y T4), todo ello en el propio hospital de la unidad. Tanto el hemograma como el perfil bioquímico se consideraron válidos si habían sido obtenidos en los últimos 6 meses. Para TSH y T4 se consideró válida una determinación en el último año.

#### 4.2 Determinaciones bioquímicas básicas.

Inmediatamente después de la extracción sanguínea se procedió a la separación del plasma mediante ultracentrifugación a 3.000 revoluciones por minutos (10 minutos, 1500 g, 4°C). Posteriormente las muestras de plasma fueron alicuotadas, refrigeradas y congeladas a -30°C.

Las determinaciones de las concentraciones lipídicas en suero realizaron en un autoanalizador ISE-4-DDPPEPP Modular Analytics (F.Hoffman-La Roche®, Basilea, Suiza) por técnicas espectrofotométricas (métodos enzimáticos colorimétricos): método de oxidación-peroxidación para colesterol total y triglicéridos (TG).<sup>234,235</sup> El cHDL fue determinado después de la precipitación con ácido fosfowolfrámico.<sup>236</sup> El cLDL se calculó mediante la fórmula de Friedewald (  $cLDL = CT - cHDL - (TG/5)$  ).<sup>237</sup> Cuando los TG eran menores de 300 mg/dl, las concentraciones de colesterol de muy baja densidad (cVLDL) fueron calculadas por la fórmula  $TG/5$ . Si la concentración de TG era

<sup>234</sup> Allain CC, Poon LS, Chang CS, et al. Enzymatic determination of total serum cholesterol. Clin Chem 1974;20:470-5.

<sup>235</sup> Bucolo G, David H. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin Chem 1973;19:476-82.

<sup>236</sup> Assmann G, Schierwer H, Schmitz G, Hägele EO. Quantification of high density lipoprotein cholesterol by precipitation with phosphotungstic acid-MgCl<sub>2</sub>. Clin Chem 1983;29:2026-30.

<sup>237</sup> Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of a preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972;18:499-502.

mayor de 300 mg/dl, las concentraciones de cVLDL fueron calculadas por ultracentrifugación. ApoA-I, apo-B y Lp(a) se determinaron mediante técnicas de inmunoturbidimetría (Boehringer, Mannheim, Germany).<sup>238</sup>

Para las determinaciones de AST/ALT se usó un autoanalizador Hitachi PA Hitachi P-800 (Roche Diagnostics, Tokyo, Japan) por métodos enzimáticos colorimétricos (Byosistem, Barcelona, Spain; coeficiente de variación interensayo <6% y 2% respectivamente). Las determinaciones hormonales de TSH y T4 libre fueron mediante un método de inmunoensayo enzimático de micropartículas (Abott Diagnostics, Matsudo-shi, Japan; CV 2.5-6%).

#### **4.3 Cuantificación de LDL-oxidada y lipoperóxidos.**

Para la determinación de las concentraciones del LDL-oxidada (LDL-ox) se procedió a la extracción de sangre venosa que posteriormente se anticoaguló con K3EDTA (2 mg/ml), conservándola en hielo.

La concentración circulante de LDL-ox se cuantificó mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) utilizando un anticuerpo monoclonal murino (mAB-4E6-) comercializado (Oxidized LDL Elisa, Mecordia, Upsala, Sweden; límite de detección < 1 mU/l; coeficiente de variación intraensayo en nuestro laboratorio: 5.5- 6.2 %).

El anticuerpo monoclonal está específicamente dirigido frente a un epítipo de la ApoB-100 por, al menos, 60 residuos de lisina. Los aldeídos son liberados por las células endoteliales sometidas a estrés oxidativo por

---

<sup>238</sup> Riepponen P, Marniemi J, Rautaoja T. Immunoturbidimetric determination of apolipoproteins A-I and B in serum. Scand J Clin Lab Invest 1987;47:739-44.

peroxidación lipídica o por las plaquetas activadas que también pueden producir modificaciones oxidativas de la ApoB-100 en ausencia de lipoperoxidación.

La especificidad de la prueba es excelente. Los valores de C50 (concentración necesaria para obtener una inhibición del 50% de la fijación del anticuerpo en la ELISA) son 25 mg/dl de LDL nativa obtenida mediante ultracentrifugación del plasma de voluntarios sanos y 0.025 mg/dl de LDL-ox con un mínimo de 60 aldehídos sustituidos por lisina por Apo-B100 obtenida mediante oxidación inducida por cobre iónica de la misma cLDL. De este modo, una concentración plasmática de cLDL de 160 mg/dl puede contribuir a la obtención de una concentración de LDL-ox < 0.2 mg/dl.<sup>239</sup>

Para la cuantificación de los lipoperóxidos (LPO) en plasma se usó un kit de determinación colorimétrico (LPO-CC, Kamiya Biomedical Company). Las mediciones de las muestras se realizaron por duplicado. En primer lugar a 10 µl de muestra estándar (50 nmol/ml de Cumene Hydroperoxide) o blanco (PBS) se le añadió 100 µl del reactivo 1 (Enzyme Reagent: Lyophilized Enzyme Reagent (Ascórbico oxidasa y Lipoprotein lipasa) + Buffer Solution). Una vez mezclados e incubados durante 5 minutos a 30°C se les añadió 200µl de reactivo 2 (Chromogen Reagent: Lyophilized Chromogen Reagent (Cromógeno MCDP) + Buffer Solution (Buffer y hemoglobina). A continuación se mezcló y se incubó 10 minutos a 30°C. Por último, se pasó a una placa de 96 pocillos y se leyó la absorbancia a 675 nm en un fluorímetro (SPECTRA Fluor. Tecan).

---

<sup>239</sup> Paniagua JA, López-Miranda J, Pérez-Martínez P, et al. Oxidized-LDL levels are changed during short-term serum glucose variations and lowered with statin treatment in early Type 2 diabetes: a study of endothelial function and microalbuminuria. *Diabet Med* 2005;22:1647-56.



#### **4.4 Determinación de los niveles de FVII.**

Los niveles plasmáticos de FVII antigénico (FVII:Ag), expresados en ng/ml, fueron determinados en el laboratorio mediante un kit Elisa (AssyMax Human Factor VII ELISA Kit®, Assaypro) con una dosis mínima detectable de <6 ng/ml y unos coeficientes de variación intra e inter-ensayo del 5.0% y 7.1% respectivamente.

### **5. Análisis genético.**

#### **5.1 Aislamiento de ADN.**

El ADN fue aislado de las muestras de sangre periférica y purificado usando el kit Puregene® DNA Purification (Gentra Systems, Valencia, CA, USA), siguiendo el protocolo indicado por la casa comercial.

El ADN original fue diluido a una concentración del 2 ng/μl y alicuotado en platos de 96 pocillos. Unos pocos pocillos dentro de cada plato fueron alicuotados con agua pura para que sirvieran como controles. Otra estrategia empleada para un mayor control fue que algunas muestras fueron replicadas con otro número de identificación en diferentes pocillos. Todos los platos de 96 pocillos con el ADN fueron almacenados a -18°C.

## 5.2 Genotipaje del polimorfismo R353Q del factor VII.

El polimorfismo del FVII (rs6046) se determinó según lo descrito por Lindman et al,<sup>240</sup> mediante PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) a tiempo real (Stratagene Mx3005P Cultek) de una región de ADN del exón 8 del gen del FVII de la coagulación.

Se emplearon:

- ✓ 150 ng de ADN genómico,
- ✓ 3 milimolar de MgCl<sub>2</sub>.
- ✓ 200 micromolar de cada nucleótido.
- ✓ Mezcla de sonda (Taqman®) y primers (Applied Biosystems –SNP Genotyping Assays, Foster City, CA, USA-).
- ✓ 1 UI de MBL-Hot Start polimerasa
- ✓ Buffer de reacción a 1X (material Dominion-MBL).
- ✓ Agua.

-Las sondas utilizadas para la detección de la mutación fueron las siguientes:

```
CGATGCCCGTCAGGTACCACGTGCCC(C)GGTAGTGGGTGGCATGTGGGCCTCC
CGATGCCCGTCAGGTACCACGTGCCC(T)GGTAGTGGGTGGCATGTGGGCCTCC
```

<sup>240</sup> Lindman AS, Pedersen JL, Arneses H, et al. Coagulation factor VII, R353Q polymorphism, and serum choline-containing phospholipids in males at high risk for coronary disease. *Thromb Res* 2004;113:57-65.

En el polimorfismo del R353Q (rs6046) se produce la sustitución de una guanina por una adenina lo que conlleva el cambio de arginina (Arg ó R) por glutamina (Glu ó Q) en el codón 353 de la proteína.

- En la mezcla de los cebadores con la sonda se utilizó a 1X en un volumen final de 10 microlitros.

- El ADN se desnaturalizó a 95° durante 5 minutos, seguidos de 40 ciclos de desnaturalización (95°, 30 segundos), fase de unión cebadores-polimerasa (60°, 1 minuto) y extensión (72°, 30 segundos).

El ADN genómico se amplificó en un equipo de PCR a tiempo real utilizando las sondas Taqman® que llevan incorporadas dos fluoróforos (HEX comprobado y FAM) uno para cada alelo del gen (el normal y el mutado). De esta manera se identificaron los sujetos homocigotos para el alelo más común (marcados con un fluoróforo), homocigotos para el alelo menos común (donde se encuentra la mutación, sería el sitio polimórfico –marcado con el otro fluoróforo-) y heterocigotos (portadores del alelo normal y el mutado –marcados con los dos fluoróforo).

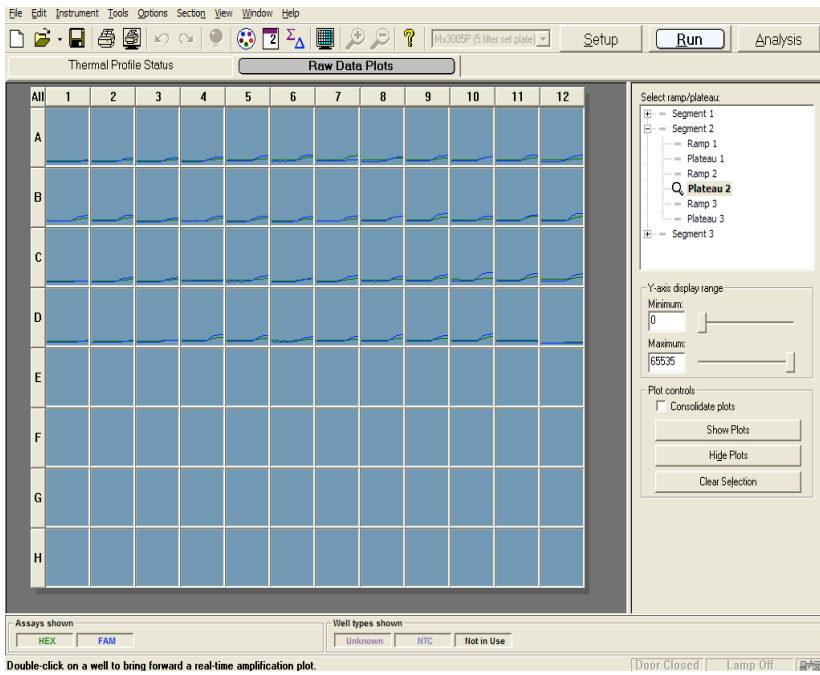
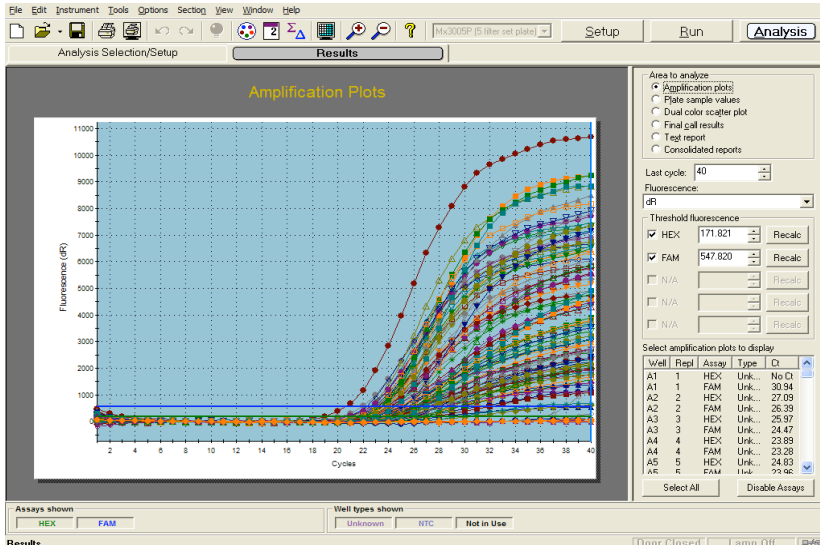
Posteriormente se determinaron los genotipos de la población mediante las curvas suministradas por el equipo de PCR.

El esquema de este proceso está representado en la **tabla 8** así como en las **imágenes 6 y 7**.

**Tabla 8.** Preparación de la mezcla utilizada para la PCR.

<b>PRIMER PASO:</b>	
1.	Añadir agua especial para PCR -----hasta un volumen final del 10 uL
2.	Buffer B 10x-----1-----1uL
3.	MgCl <sub>2</sub> 25 mM-----2,5 mM-----1uL
4.	DntpS 8MmT-----800 UmT-----1uL
5.	Mix sonda + cebadores 40x-----1x-----0,25uL
6.	MBL Hot Start 5 U/uL-----1U-----0,2uL
7.	DNAg de Genomiphi-----150ng-----XuL
Volumen de sumar 2, 3, 4, 5, 6 = 3,45 uL.	
10 – ( 3,45 + volumen necesario para 150 ng) = Volumen total de agua a añadir.	
<b>SEGUNDO PASO:</b>	
--Desnaturalización a 95 °C durante 5 minutos.	
--Se repiten 40 ciclos de:	
<i>Desnaturalización</i> a 95°C durante 30"	
<i>Annealling</i> a 60 - 61°C durante 60"	
<i>Extensión</i> a 72 °C durante 30"	
--Las muestras se conservan a 25°C.	
<b>TERCER PASO:</b>	
Lectura de gráficas y determinación del genotipo presentado.	

Imágenes 6 y 7. Curvas de análisis de genotipos obtenidas mediante PCR.



## 6. Análisis estadístico.

En el estudio estadístico de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS® versión 17.0 para Windows®. También se utilizó el paquete Microsoft Office 2007, incluyendo el procesador de textos (Word®) y el programa para gráficos (Excel®). El análisis estadístico consistió en:

### *Análisis descriptivo*

Cálculo de frecuencias absolutas y relativas para las variables cualitativas con sus intervalos de confianza (IC) al 95% de seguridad y media  $\pm$  desviación estándar para las variables cuantitativas.

### *Comparación de variables cualitativas.*

Mediante pruebas Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) para tablas de contingencia. En el caso de tablas 2 x 2 se utilizó el estadístico  $\chi^2$ , y si alguna frecuencia esperada era  $< 5$  se aplicó la prueba exacta de Fisher.

### *Comparación de los valores medios de las variables cuantitativas.*

Mediante la prueba t de Student para 2 muestras independientes o análisis de varianza de un factor para más de dos muestras independientes.

### *Niveles de significación*

En todas las pruebas estadísticas se consideraron significativos los valores  $p < 0.05$  y los contrastes de hipótesis fueron bilaterales.

### *Análisis de regresión*

Para valorar la asociación del genotipo R353Q del FVII con la enfermedad cardiovascular, se calculó la odds ratio (OR crudas), con su IC al 95%, mediante regresiones logísticas univariadas.

Para ajustar por las variables sexo, edad, hipertensión arterial, índice de masa corporal, xantomas, diabetes mellitus, cHDL, cLDL, tabaquismo y tratamiento hipolipemiante se aplicó un modelo de regresión logística multivariable (OR ajustadas).

## **7. Referencias bibliográficas.**

Para las distintas referencias bibliográficas se utilizó la web PUBMED (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), el motor de búsqueda de libre acceso a la base de datos MEDLINE ofrecido por la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos; se emplearon diversas entradas o palabras clave MeSH (*Medical Subjects Heading*) del Index Medicus.

Las referencias aparecen presentadas siguiendo el formato habitual de la revista americana "*New England Journal of Medicine*" (Massachusetts Medical Society).

## RESULTADOS





### 1. Características basales de la población a estudio.

El estudio incluyó 720 sujetos, entre los que se encontraban 174 controles sin HF y 546 casos diagnosticados genéticamente de HF.

En el análisis de las características basales no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las variables sexo (55.7% de mujeres en el grupo control y 47.3% en el grupo HF), IMC (27.7 en controles y 26.6 en HF, ambos en sobrepeso), hipertensión arterial (10.3% y 12.7% en controles y HF respectivamente), diabetes mellitus (2.3% en controles y 2.4% en casos), niveles de triglicéridos ( $102.2 \pm 61.1$  mg/dl en casos y  $109.1 \pm 62.5$  mg/dl en HF) y tabaquismo (46.8 % en controles y 49.4% en HF). En la variable edad se encontró diferencia significativa ( $39.7 \pm 17.5$  años en controles y  $43.5 \pm 16.3$  años en HF).

Por otro lado y, como cabía esperar, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.001$ ) en cuanto a los niveles de colesterol total, cLDL y cHDL (expresados en mg/dl), en el desarrollo de xantomas (102 pacientes con HF los presentaron) y en el número de pacientes con tratamiento hipolipemiente (más del 83% de los pacientes diagnosticados de HF tomaban tratamiento).

En cuanto a la enfermedad cardiovascular global el 14.7% de los pacientes con HF presentaron algún evento frente al 4.6% de los controles, con  $p < 0.001$ . Destacar además la existencia de diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la edad del primer evento cardiovascular entre los

controles y aquellos con HF,  $57.1 \pm 13.3$  años y  $46.7 \pm 11.1$  años respectivamente.

Todas estas características basales de los sujetos a estudio se muestran en la **Tabla 9**.

**Tabla 9.** Características basales de los pacientes a estudio.

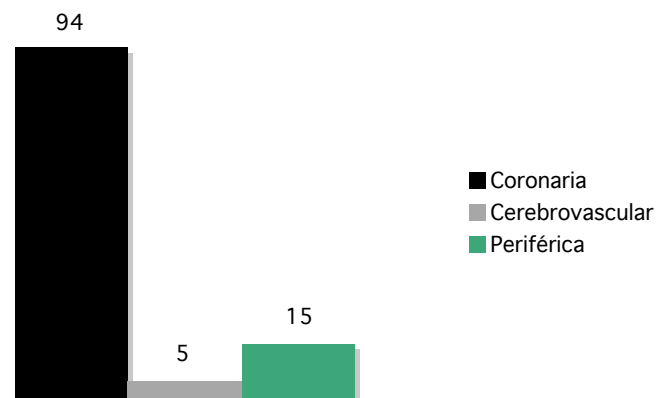
	Controles <i>n</i> =174	Hipercolesterolemia Familiar <i>n</i> =546	Valor P
Edad (años)	$39.7 \pm 17.5$	$43.5 \pm 16.3$	<b>0.009</b>
Mujeres (%)	55.7	47.3	0.62
IMC	25.7	26.6	0.20
HTA (%)	10.3	12.7	0.41
DM (%)	2.3	2.4	1.000
Colesterol total (mg/dl)	$239.6 \pm 70.3$	$270.3 \pm 70.4$	<b>&lt;0.001</b>
Triglicéridos (mg/dl)	$102.2 \pm 61.1$	$109.1 \pm 62.5$	0.22
cLDL(mg/dl)	$168.4 \pm 68.4$	$201.3 \pm 67.1$	<b>&lt;0.001</b>
Xantomas (%)	0	18.6% (102)	<b>&lt;0.001</b>
cHDL (mg/dl)	$50.2 \pm 13.4$	$46.1 \pm 13.2$	<b>&lt;0.001</b>
Tabaquismo (%)	46.8	49.4	0.55
Tto. Hipolipemiente	66 (37.9%)	458 (83.9%)	<b>&lt;0.001</b>
Enfermedad CV global	8 (4.6%)	80 (14.7%)	<b>&lt;0.001</b>
Edad primer evento CV (años)	$57.1 \pm 13.3$	$46.7 \pm 11.1$	<b>0.01</b>

Valores expresados en media  $\pm$  desviación estandar. **IMC**: índice de masa corporal; se calculó dividiendo el peso por la talla al cuadrado. **HTA**: hipertensión arterial. **DM**: diabetes mellitus. **cLDL**: colesterol transportado en lipoproteínas de baja densidad. **cHDL**: colesterol transportado en lipoproteínas de alta densidad. **Tto**: tratamiento. **CV**: cardiovascular.

## 2. Enfermedad cardiovascular.

Como se refiere previamente, 80 (14.7%) de los pacientes con HF presentaron algún evento cardiovascular. De éstos, 75 pacientes presentaron enfermedad coronaria, 4 enfermedad cerebrovascular y 12 pacientes desarrollaron afectación arterial periférica (**figura 5**).

**Figura5.** Enfermedad cardiovascular en sujetos con HF (%).



En los sujetos control, 8 (4.6%) desarrollaron algún evento cardiovascular, de los cuales 6 presentaron enfermedad coronaria.

Debe destacarse la baja frecuencia de *enfermedad cerebrovascular* tanto en el grupo control (1.7%) como en los pacientes con HF (0.7%), sin que se encontrara diferencia significativa ( $p=0.37$ ).

En relación a la *enfermedad arterial periférica* su frecuencia fue de un 2.1% en pacientes con HF y de un 0.5% en los controles ( $p=0.21$ ).

Todos estos resultados se detallan en la **tabla 10**.

**Tabla 10.** Distribución de la enfermedad cardiovascular en la población a estudio.

	Controles <i>n=174</i>	Hipercolesterolemia Familiar <i>n=546</i>	Valor P
<b>Enf. Coronaria</b>	6 (3.4%)	75 (13.7%)	<b>&lt; 0.001</b>
<b>Enf. Cerebrovascular</b>	3 (1.7%)	4 (0.7%)	0.37
<b>Enf. Arterial Periférica</b>	1 (0.5%)	12 (2.1%)	0.21

Al analizar la distribución por *territorios vasculares*, 71 pacientes (13%) presentaban afectación de un único territorio (coronaria, cerebrovascular o periférica), mientras que en 9 (1.6%) existían dos o más territorios afectados, encontrándose diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la distribución de los eventos cardiovasculares con respecto al grupo control ( $p<0.001$ ).

**Tabla 11.** Enfermedad cardiovascular en función de los territorios afectados.

	Controles <i>n=174</i>	Hipercolesterolemia Familiar <i>n=546</i>	Valor P
<b>Distribución ECV:</b>			<b>&lt; 0.001</b>
<b>-un territorio</b>	6 (3.5%)	71 (13%)	
<b>-dos o más territorios</b>	2 (1.2%)	9 (1.6%)	

### 3. Polimorfismo R353Q del factor VII.

En el análisis de la distribución genotípica del polimorfismo R353Q (rs6046) del gen del FVII, se encontró que el 75.1% de los pacientes con HF eran homocigotos para el alelo dominante (RR), el 23.3% heterocigotos (RQ) y el 1.6% homocigotos para el alelo recesivo (QQ). En el grupo control el 75.3% eran RR, el 21.3% RQ y el 3.4% QQ, sin existir diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.32$ ).

**Tabla 12.** Genotipos del polimorfismo R353Q del FVII.

	Controles <i>n=174</i>	Hipercolesterolemia Familiar <i>n=546</i>	Total <i>N=720</i>	Valor P*
<b>Genotipo R353Q FVII</b>				0.32
RR	131 (75.3%)	410 (75.1%)	541 (75.1%)	
RQ	37 (21.3%)	127 (23.3%)	164 (22.8%)	
QQ	6 (3.4%)	9 (1.6%)	15 (2.1%)	

\*Valores P expresados mediante  $\chi^2$  (Chi-cuadrado de Pearson). **FVII:** factor VII.

Los datos genotípicos obtenidos tanto en controles como en casos se encontraban en equilibrio Hardy-Weinberg, tal y como se refleja en la **tabla 13**.

**Tabla 13.** Equilibrio de Hardy-Weinberg.

<b>Controles</b> <i>n=174</i>		RR	RQ	QQ	Valor P*
Observados		131	37	6	0.28
Esperados		128.45	42.1	3.45	
<b>Hipercolesterolemia Familiar</b> <i>n=546</i>					
Observados		410	127	9	0.97
Esperados		410.62	125.75	9.63	

\*Valores P expresados mediante  $\chi^2$  (Chi-cuadrado de Pearson).

### 3.1 Frecuencia alélica.

En relación a la frecuencia alélica (presencia del alelo R o del Q) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de controles y el grupo de pacientes con HF (0.86 y 0.87, IC 95% 0.82, 0.89 y 0.85, 0.89 respectivamente, para el alelo R; 0.14 y 0.13, IC 95% 0.11, 0.18 y 0.11, 0.15 respectivamente, para el alelo Q).

Estos datos se recogen en la **tabla 14**.

**Tabla 14.** Frecuencia alélica del polimorfismo R353Q.

Frecuencia alélica	Controles <i>n</i> =174	Hipercolesterolemia Familiar <i>n</i> =546
R	0.86 (0.82-0.89)	0.87 (0.85-0.89)
Q	0.14 (0.11-0.18)	0.13 (0.11-0.15)

### 3.2 Análisis por subgrupos.

Ante la baja frecuencia del genotipo QQ en ambos grupos (casos y controles) se realizó un agrupamiento en función de la presencia o no del alelo Q, de manera que al analizar los genotipos obtenidos en dos subgrupos, RR versus RQ/QQ (541 y 179 sujetos respectivamente), tampoco se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas (**tabla 15**).

**Tabla 15.** Análisis de los genotipos del polimorfismo R353Q por grupos RR vs RQ/QQ.

	Controles <i>n</i> =174	Hipercolesterolemia Familiar <i>n</i> =546	Total <i>N</i> =720	Valor P*
RR	131 (75.3%)	410 (75.1%)	541 (75.1%)	0.96
RQ/QQ	43 (24.7%)	136 (24.9%)	179 (24.9%)	

\*Valores P expresados mediante  $\chi^2$  (Chi-cuadrado de Pearson). **FVII**: Factor VII.



#### **4. Polimorfismo R353Q y riesgo cardiovascular en pacientes con HF.**

##### **4.1 Análisis univariante.**

Para establecer la posible relación entre los distintos genotipos (RR,RQ y QQ) del polimorfismo R353Q y la mayor o menor incidencia de enfermedad cardiovascular en los pacientes con HF, se analizó la enfermedad cardiovascular de manera global así como de manera individual según el territorio afectado (enfermedad coronaria, cerebrovascular o arterial periférica).

##### **4.1.1 Enfermedad cardiovascular global.**

En relación a la enfermedad cardiovascular global se realizó un análisis univariable en el que no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre aquellos sujetos portadores del genotipo RR y los portadores del RQ, al igual que en los homocigotos para el gen no dominante (genotipo QQ), tal y como se describe en la **tabla 16**.

Estos resultados se mantenían al agrupar los genotipos en función de la presencia o no del alelo Q (RQ/ QQ).

**Tabla 16.** Enfermedad cardiovascular global en pacientes con HF (análisis univariable).

	Enfermedad cardiovascular global			OR (IC 95%)**	P
	Pacientes (n= 546)	NO (n= 466)	SI (n= 80)		
<b>Genotipo</b>					
<b>R353Q FVII</b>					
RR	410	350 (75.1)	60 (75.0)	1.00 (Referencia)	
RQ	127	110 (23.5)	17 (21.3)	0.89 (0.50 – 1.59)	0.70
QQ	9	6 (1.4)	3 (3.7)	2.88 (0.70 -11.84)	0.14
RQ/QQ	136	116 (24.9)	20 (25.0)	0.99 (0.58 – 1.72)	0.98

\*\*OR: odds ratio. IC: intervalo de confianza. FVII: factor VII.

#### 4.1.2 Enfermedad arterial coronaria.

En la valoración de la enfermedad coronaria se realizó también un análisis univariable en el que no se encontraron diferencias significativas entre los distintos genotipos (RR, RQ, QQ).

Los resultados se repiten en la agrupación en función de la presencia del alelo Q (RQ/QQ).

Estos datos se presentan en la **tabla 17**.

**Tabla 17.** Enfermedad coronaria en pacientes con HF (análisis univariante).

	Enfermedad coronaria Pacientes (%)			OR (IC 95%)**	P
	Pacientes (n= 546)	NO (n= 471)	SI (n= 75)		
<b>Genotipo</b>					
<b>R353Q FVII</b>					
RR	410	354 (75.1)	56 (74.7)	1.00 (Referencia)	
RQ	127	111 (23.5)	16 (21.3)	0.90 (0.50 – 1.63)	0.73
QQ	9	6 (1.4)	3 (4.0)	3.12 (0.76 -12.86)	0.11
RQ/QQ	136	117 (24.9)	19 (24.3)	1.02 (0.58 – 1.78)	0.96

\*\*OR: odds ratio. IC: intervalo de confianza. FVII: factor VII.

#### 4.1.3 Enfermedad arterial periférica.

Al analizar la enfermedad arterial periférica se realizó análisis univariante y, al igual que en el análisis de los territorios previos, no se encontró diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la influencia de los distintos genotipos (RR, RQ, QQ) en la misma.

De nuevo al agrupar los genotipos (RQ/QQ) no se encontró relación, como se muestra en la **Tabla 18**.

**Tabla 18.** Enfermedad vascular periférica en pacientes con HF (análisis univariante).

	Enfermedad vascular periférica			OR (IC 95%)**	P
	Pacientes (n= 546)	NO (n= 534)	SI (n= 12)		
<b>Genotipo</b>					
<b>R353Q FVII</b>					
RR	410	401 (75.1)	9 (75.0)	1.00 (Referencia)	
RQ	127	125 (23.4)	2 (13.7)	0.71 (0.15 –3.34)	0.67
QQ	9	8 (1.5)	1 (8.3)	5.56 (0.63 -49.33)	0.12
RQ/QQ	136	132 (24.9)	3 (24.0)	1.00 (0.27 – 3.77)	0.99

\*\*OR: odds ratio. IC: intervalo de confianza. FVII: factor VII.

#### 4.1.4 Enfermedad arterial cerebrovascular.

En cuanto a la enfermedad cerebrovascular el número de eventos fue tan pequeño (4 sujetos -0.7%-) que no permitió realizar el análisis (inferior a 10).

**Tabla 19.** Enfermedad cerebrovascular en pacientes con HF.

Enfermedad cerebrovascular		
Pacientes	NO	SI
(n= 546)	542	4

#### 4.2 Análisis de regresión multivariante.

Para valorar la posible relación entre los distintos genotipos del polimorfismo y la enfermedad cardiovascular, tanto de forma global como dependiendo del territorio afectado (enfermedad coronaria y arterial periférica), se realizó además un análisis de regresión logística multivariante ajustado por sexo, edad índice de masa corporal, xantomias, hipertensión arterial, tabaquismo, diabetes mellitus, cLDL, cHDL y tratamiento hipolipemiante.

Al igual que ocurrió para el univariante, el análisis multivariante no pudo realizarse en el subgrupo de pacientes con enfermedad cerebrovascular dado su bajo número (4 sujetos).

##### 4.2.1 Enfermedad cardiovascular global.

El análisis multivariante entre los distintos genotipos del polimorfismo R353Q del FVII y la enfermedad cardiovascular de manera global en pacientes con HF, no aportó resultados estadísticamente significativos, como se refleja en la **tabla 20**.

Estos resultados se mantuvieron al analizar los pacientes en función de los genotipos agrupados por alelos (RQ/QQ).

**Tabla 20.** Enfermedad cardiovascular global (análisis multivariante).

	Enfermedad cardiovascular			OR ajustada (IC 95%)**	P
	Pacientes (n= 546)	NO (n= 466)	SI (n= 80)		
<b>Genotipo</b>					
<b>R353Q FVII</b>					
RR	410	350 (75.1)	60 (75.0)	1.00 (Referencia)	
RQ	127	110 (23.6)	17 (21.3)	0.76 (0.36 – 1.58)	0.46
QQ	9	6 (1.3)	3 (3.7)	3.53 (0.66 – 18.92)	0.14
RQ/QQ	136	116 (24.9)	20 (25.0)	0.89 (0.45 – 1.78)	0.75

\*\*OR: odds ratio. IC: intervalo de confianza. FVII: factor VII.

#### 4.2.2 Enfermedad arterial coronaria.

El análisis de regresión multivariante aplicado a la enfermedad arterial coronaria tampoco aportó resultados significativos, tanto al valorar cada uno de los genotipos como agrupándolos en función de los alelos (**tabla 21**).

**Tabla 21.** Enfermedad coronaria (análisis multivariante).

Genotipo	Enfermedad coronaria Pacientes (%)			OR ajustada (IC 95%)**	P
	Pacientes (n= 546)	NO (n= 471)	SI (n= 75)		
<b>R353Q FVII</b>					
RR	410	354 (75.1)	56 (74.7)	1.00 (Referencia)	
RQ	127	111 (23.5)	16 (21.3)	0.90 (0.43 – 1.87)	0.77
QQ	9	6 (1.4)	3 (4.0)	3.33 (0.64 – 17.24)	0.15
RQ/QQ	136	117 (24.9)	19 (24.3)	1.05 (0.52 – 2.08)	0.90

\*\*OR: odds ratio. IC: intervalo de confianza. FVII: factor VII.

### 4.2.3 Enfermedad arterial periférica.

Resultados similares se obtuvieron al analizar la enfermedad arterial periférica, sin relación significativa entre la misma y los genotipos (**tabla 22**).

**Tabla 22.** Enfermedad vascular periférica (análisis multivariante).

	Enfermedad vascular periférica			OR ajustada (IC 95%)**	P
	Pacientes (n= 546)	NO (n= 534)	SI (n= 12)		
<b>Genotipo</b>					
<b>R353Q FVII</b>					
RR	410	401 (75.1)	9 (75.0)	1.00 (Referencia)	
RQ	127	125 (23.4)	2 (13.7)	0.78 (0.15 – 3.84)	0.76
QQ	9	8 (1.5)	1 (8.3)	5.77 (0.26 – 125.96)	0.26
RQ/QQ	136	132 (24.9)	3 (24.0)	1.03 (0.26 – 4.17)	0.96

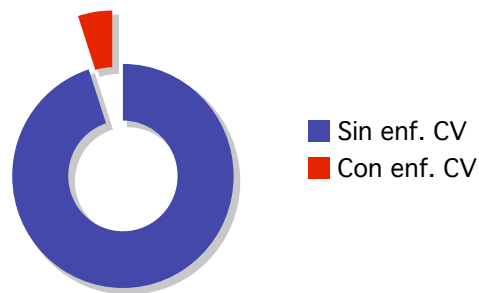
\*\*OR: odds ratio. IC: intervalo de confianza. FVII: factor VII.



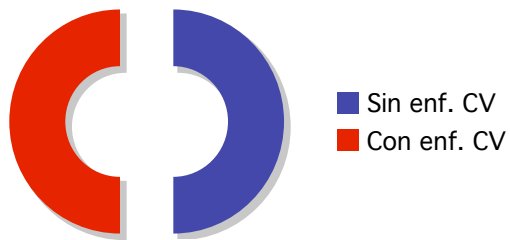
**5. Niveles de FVII.**

Los niveles plasmáticos de FVII:Ag (expresados en ng/ml) fueron determinados en un subgrupo de 320 pacientes, entre los que se encontraban 160 controles (incluyendo 8 con enfermedad cardiovascular) y 160 pacientes con HF (80 de ellos con algún evento cardiovascular). **(Figuras 6 y 7).**

**Figura 6.** Distribución enfermedad cardiovascular en controles con FVII:Ag.



**Figura 7.** Distribución enfermedad cardiovascular en HF con FVII:Ag.



La distribución de los genotipos, agrupados en función de la presencia o no del alelo Q (RR vs RQ/QQ), era similar en ambos subgrupos (120 = RR y 40 = RQ/QQ), con  $p > 0.05$ .

### 5.1 Niveles de FVII en función del genotipo en casos y controles.

Para valorar los niveles de FVII en función de los distintos genotipos se realizó análisis de la varianza para dos factores (HF y genotipo), ajustado por sexo, edad, diabetes mellitus, tabaquismo, hipertensión arterial y enfermedad cardiovascular. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de FVII:Ag para la interacción entre ambos factores ( $p = 0.96$ ). (Tabla 23).

**Tabla 23.** Niveles de FVII en controles y casos en función del genotipo.

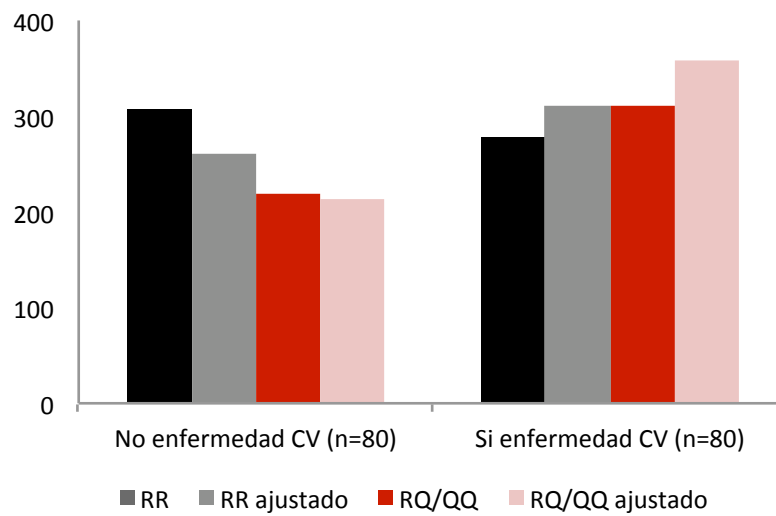
		Controles <i>N=160</i>	Hipercolesterolemia Familiar <i>N=160</i>
Genotipo R353Q FVII	Niveles FVII:Ag (ng/ml)		
RR ( <i>n = 120</i> )	Media	374.6 ± 239.6	292.8 ± 157.6
	Media ajustada	372.9 ± 204.7	288.6 ± 211.2
RQ/QQ ( <i>n = 40</i> )	Media	387.5 ± 248.2	265.6 ± 130.8
	Media ajustada	376.7 ± 198.1	293.9 ± 200.2

Valores expresados como media ± desviación estándar. Análisis de la varianza para dos factores (HF y genotipo) ajustado por edad, sexo, diabetes, tabaquismo, hipertensión arterial y enfermedad cardiovascular. No se encontraron diferencias para la interacción entre ambos factores (0.96). **FVII:Ag:** factor VII antigénico.

**5.2 Niveles de FVII y enfermedad cardiovascular en pacientes con HF.**

Se analizó además el comportamiento de los niveles de FVII en el subgrupo de los 160 pacientes con HF en función del genotipo (RR vs RQ/QQ) y de la presencia o no de enfermedad cardiovascular. Como se refiere previamente, 80 de estos pacientes presentaban algún evento cardiovascular. (Figura 8).

**Figura 8.** Niveles de FVII (ng/ml) en pacientes con HF.



CV: cardiovascular.

En el análisis de la varianza para enfermedad cardiovascular y genotipo en estos pacientes, ajustando por edad, sexo, diabetes, hipertensión arterial y tabaquismo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la interacción entre ambos ( $p = 0.97$ ). (**Tabla 24**).

**Tabla 24.** Niveles de FVII y enfermedad cardiovascular en pacientes con HF.

Genotipo R353Q FVII	Niveles FVII:Ag (ng/ml)	Enfermedad cardiovascular	
		NO (n = 80)	SI (n = 80)
RR (n = 60)	Media	307 ± 175.4	278.6 ± 137.5
	Media ajustada	260.9 ± 240.0	311.7 ± 167.7
RQ/QQ (n = 20)	Media	219.7 ± 111.2	311.4 ± 135.5
	Media ajustada	213.3 ± 168.1	359.9 ± 152.3

Valores expresados como media ± desviación estándar. Análisis de la varianza para dos factores (enfermedad cardiovascular y genotipo) ajustado por edad, sexo, diabetes mellitus, hipertensión arterial y tabaquismo. No se encontraron diferencias para la interacción entre ambos factores ( $p=0.97$ ). **FVII:** factor VII. **FVII:Ag:** factor VII antigénico.

### 6. Polimorfismo R353Q e índice de masa corporal.

Se analizó el comportamiento del IMC en los controles y en aquellos pacientes con HF, valorando la posible relación entre los distintos genotipos y dicha variable. Para este análisis se agruparon los genotipos en función de la presencia o no del alelo Q.

El análisis se realizó mediante ANOVA de dos factores. No se obtuvieron resultados estadísticamente significativos en dicho análisis (**tabla 25**).

**Tabla 25.** Genotipos R353Q FVII e IMC.

	IMC		Valor P*
	Controles <i>n=174</i>	Hipercolesterolemia Familiar <i>n=546</i>	
<b>Genotipo R353Q FVII</b>			0.62
RR	25.7 ± 5.0	26.6 ± 10.1	
RQ/QQ	25.6 ± 4.6	25.9 ± 4.6	

Valores expresados en media ± desviación estándar. \*ANOVA de dos factores.

**FVII:** factor VII. **IMC:** índice de masa corporal.

### 7. Polimorfismo R353Q y perfil lipídico.

Se analizó el comportamiento de los parámetros básicos del perfil lipídico básico (colesterol total, cLDL, cHDL y triglicéridos) en los controles y en los pacientes con HF, valorando la posible relación entre los distintos genotipos y dichas variables dependientes.

Al igual que en el índice de masa corporal, para el análisis de estos parámetros los genotipos fueron agrupados en función de la presencia o no del alelo Q y se realizó un ANOVA de dos factores.

No se obtuvieron resultados significativos en ninguno de los parámetros analizados, si bien se observó tendencia a la significación en los niveles de cHDL y cLDL ( $p=0.06$  y  $p=0.07$ ). Estos resultados se describen en las **tablas 26, 27, 28 y 29**.

**Tabla 26.** Genotipos R353Q FVII y colesterol total.

	Colesterol total (mg/dl)		Valor P*
	Controles <i>n=174</i>	Hipercolesterolemia Familiar <i>n=546</i>	
<b>Genotipo R353Q FVII</b>			0.11
RR	244.4 ± 73.6	269.4 ± 171.8	
RQ/QQ	225.6 ± 57.9	273.3 ± 66.1	

Valores expresados en media ± desviación estándar. \*ANOVA de dos factores. **FVII**: factor VII.

**Tabla 27.** Genotipos R353Q FVII y triglicéridos.

	Triglicéridos (mg/dl)		Valor P*
	Controles <i>n</i> =174	Hipercolesterolemia Familiar <i>n</i> =546	
<b>Genotipos R353Q FVII</b>			0.40
RR	105.5 ± 64.8	109.6 ± 55.1	
RQ/QQ	92.5 ± 47.3	109.1 ± 62.5	

Valores expresados en media ± desviación estándar. \*ANOVA de dos factores. **FVII**: factor VII.

**Tabla 28.** Genotipos R353Q FVII y colesterol HDL.

	cHDL (mg/dl)		Valor P*
	Controles <b>N</b> =174	Hipercolesterolemia Familiar <b>N</b> =546	
<b>Genotipos R353Q FVII</b>			0.07
RR	49.1 ± 12.8	46.2 ± 13.7	
RQ/QQ	53.5 ± 14.8	45.7 ± 11.6	

Valores expresados en media ± desviación estándar. \*ANOVA de dos factores. **FVII**: factor VII.

**Tabla 29.** Genotipos R353Q FVII y colesterol LDL.

	cLDL (mg/dl)		Valor P*
	Controles <i>n</i> =174	Hipercolesterolemia Familiar <i>n</i> =546	
<b>Genotipos R353Q FVII</b>			0.06
RR	173.5 ± 72.1	200.1 ± 68.7	
RQ/QQ	153.1 ± 53.7	205.2 ± 62.0	

Valores expresados en media ± desviación estándar. \*ANOVA de dos factores. **FVII**: factor VII.

## DISCUSIÓN





En este estudio, el polimorfismo R353Q (rs6046) del gen del FVII de la coagulación así como su frecuencia alélica, no predicen el riesgo de enfermedad cardiovascular en pacientes con HF. Por otro lado, los niveles plasmáticos de FVII determinados no se encuentran relacionados con la enfermedad cardiovascular en dichos pacientes.

La HF es la enfermedad monogénica más prevalente en el ser humano, afectando aproximadamente a uno de cada quinientos sujetos del mundo desarrollado. Además se asocia a un elevado riesgo de enfermedad cardiovascular precoz y grave; se calcula que el 50% de los hombres y el 20% de las mujeres con HF que no reciben tratamiento desarrollarán un evento coronaria alrededor de los 50 años.<sup>241</sup> Incluso se ha observado un aumento del riesgo relativo para un evento coronario fatal por debajo de los 40 años de edad.

La prevalencia de enfermedad cardiovascular en este trabajo, al analizar pacientes con HF, fue del 14.7%, con una edad media del  $45.5 \pm 16.3$  años, mientras que el desarrollo de estos eventos cardiovasculares en la población española con el mismo rango de edad se estima alrededor del 2.6%.<sup>242</sup> Además la prevalencia de la HF en el mundo occidental varía de manera considerable, alcanzando en algunas series hasta el 39% de la población.<sup>243</sup> Estas variaciones han sido atribuidas a numerosos factores, tales como los distintos criterios diagnósticos utilizados en los estudios que englobaban pacientes con HF

---

<sup>241</sup> Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. *BMJ* 1991;303:893-96.

<sup>242</sup> Baena Díez JM, del Val García JL, Tomás Pelegrina J, et al. Cardiovascular disease epidemiology and risk factors in primary care. *Rev Esp Cardiol* 2005;58:367-73.

<sup>243</sup> Alonso R, Mata N, Castillo S, et al. Cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: influence of low-density lipoprotein receptor mutation type and classic risk factors. *Atherosclerosis* 2008;200:315-21.

(clínicos o genéticos), a las diferencias metodológicas y de diseño empleadas e incluso a la posible influencia directa de factores medioambientales, como podría ser la dieta. Varios estudios, relativamente recientes, han demostrado que el consumo de una dieta Mediterránea rica en aceite de oliva reduce de manera importante la incidencia de enfermedades cardiovasculares en la población general,<sup>242,244</sup> es más, incluso provocando una disminución en los niveles plasmáticos de FVII activado, como demostraron Gómez et al en su estudio.<sup>245</sup> Estas circunstancias podría tener una influencia directa sobre aquellos sujetos con HF.

La expresión fenotípica de la HF en términos de inicio, desarrollo y severidad de la afectación vascular arteriosclerótica también varía de manera considerable. Varios estudios han analizado la influencia de los factores de riesgo cardiovascular clásicos y de las variaciones funcionales en la mutaciones del RLDL.<sup>246,247</sup> Sin embargo estos elementos sólo podrían explicar de manera parcial las diferencias observadas en dicha expresión. Por otro lado, múltiples estudios han descrito que aquellos pacientes con HF que desarrollan xantomas tienen un mayor riesgo cardiovascular en comparación a aquellos que no los presentan.<sup>248,249</sup> Un reciente metaanálisis demuestra este hecho y concluye que

---

<sup>244</sup> López-Miranda J, Badimon L, Bonanome A. Monounsaturated fat and cardiovascular risk. *Nutr Rev* 2006;64:S2-S12.

<sup>245</sup> Gómez P, Fernández de la Puebla RA, Castro P, et al. Effect of the Mediterranean diet on fasting concentrations of activated factor VII in healthy persons. *Rev Esp Cardiol* 2005;58:285-9.

<sup>246</sup> de Saugé Noltin PR, Defesche JC, Buirma RJ, et al. Prevalence and significance of cardiovascular risk in a large cohort of patients with familial hypercholesterolaemia. *J Intern Med* 2003;253:161-8.

<sup>247</sup> Umans-Eckenhausen MA, Sijbrands EJ, Kastelein JJ, Defesche JC. Low-density lipoprotein receptor gene mutations and cardiovascular risk in a large genetic cascade screening population. *Circulation* 2002;106:3031-6.

<sup>248</sup> Civeira F, Castillo S, Alonso R, et al. Tendon xanthomas in familial hypercholesterolemia are associated with cardiovascular risk independently of the low-density lipoprotein receptor gene mutation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1960-5.

la presencia de xantomas se asocia a un riesgo 3 veces superior de padecer algún evento cardiovascular entre los pacientes con HF, sugiriendo además que los xantomas y la enfermedad cardiovascular compartirían una etiología similar.<sup>250</sup> En este aspecto la población hipercolesterolémica de nuestro estudio presentó una prevalencia de enfermedad cardiovascular global del 14.7%, muy baja si la comparamos con otras cohortes similares de HF como la de Simon Broome,<sup>251</sup> cuya prevalencia global era mucho más alta (60%). En esta cohorte, el 48% de los pacientes con HF presentaban xantomas tendinosos lo cual podría justificar de manera parcial esta alta prevalencia de enfermedad cardiovascular, más aún si la comparamos con nuestra muestra, donde sólo el 18.6% de los pacientes desarrolló los xantomas. Así pues el menor número de eventos cardiovasculares en nuestros pacientes podría justificarse en parte debido a la baja presencia de xantomas. Otro aspecto importante que también habría que considerar sería la diferencia en cuanto a los criterios diagnósticos utilizados. La cohorte de Simon Broome establece criterios clínicos para el diagnóstico de HF mientras que todos nuestros casos tenían un diagnóstico genético de certeza; esto podría conllevar un aumento en el número de faltos positivos diagnosticados de HF y por lo tanto un aumento del número de eventos cardiovasculares encontrados.

Pese a todo esto deben existir otras circunstancias aún no conocidas, como podrían ser determinados factores genéticos, que jueguen un papel

---

<sup>249</sup> Van Aalst-Cohen ES, Jansen EC, Tanck MW, et al. Diagnosing familial hypercholesterolaemia: the relevance of genetic testing. *Eur Heart J* 2006;27:2240-6.

<sup>250</sup> Oosterver DM, Vermissen J, Yazdanpanah M, Defesche JC, Kastelein JJ, Sijbrands EJ. The risk of tendon xanthomas in familial hypercholesterolemia by variation in genes of the reverse cholesterol transport pathway and the low-density lipoprotein pathway. *Eur Heart J* 2010;31:1007-12.

<sup>251</sup> Humphries SE, Whittall RA, Hubbart CS, et al. Simon Broome Familial Hyperlipidaemia Register Group and Scientific Steering Committee: Genetic causes of familial hypercholesterolaemia in patients in the UK: relation to plasma lipid levels and coronary heart disease risk. *J Med Genet* 2006;43:943-9.

fundamental en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular de estos pacientes. La variabilidad genética de esta población estaría determinada por la aparición de determinados polimorfismos que podrían actuar como potenciales predictores del riesgo cardiovascular.

Entre aquellos genes que mayor interés han despertado por su posible relación con esta heterogeneidad fenotípica se encuentra el gen del FVII. Varios de sus polimorfismos han sido asociados con variaciones en cuanto al riesgo de desarrollar eventos cardiovasculares tras analizarse en grupos de pacientes con arteriosclerosis severa.<sup>252,253,254</sup> Estas diferencias estarían relacionadas fundamentalmente con modificaciones en los niveles y actividad plasmática del propio FVII o bien con la presencia o ausencia de determinados alelos.<sup>255,256</sup>

Nuestro trabajo analiza los diferentes genotipos del polimorfismo R353Q del gen del FVII en una muestra de pacientes con HF, comparando su potencial asociación con la enfermedad cardiovascular, tanto a nivel coronario, cerebrovascular como arterial periférico. Múltiples estudios sugieren que el riesgo cardiovascular global parece ser independiente de este polimorfismo R353Q;<sup>257,258</sup> sin embargo, un meta-análisis ha mostrado que los portadores del

---

<sup>252</sup> Girelli D, Russo C, Ferraresi P, et al. Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000;343:774-80.

<sup>253</sup> Lacoviello L, Di Castelnuovo A, de Nijff, et al. Polymorphism in the coagulation factor VII gene and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998;338:79-85.

<sup>254</sup> Fujimaki T, Kato K, Yoshida T, et al. Association of genetic variants with myocardial infarction in Japanese individuals with chronic kidney disease. *Thromb Haemost* 2009;101:963-8.

<sup>255</sup> Kathiresan S, Yang Q, Larson MG, et al. Common genetic variation in five thrombosis genes and relations to plasma hemostatic protein level and cardiovascular disease risk. *Thromb Vasc Biol* 2006;26:1405-12.

<sup>256</sup> Jeffery S, Poliniecki J, Leatham J, et al. A protective contribution of the Q allele of the R353Q polymorphism of the factor VII gene in individuals with chronic stable angina? *Int J Cardiol* 2005;28:395-9.

<sup>257</sup> Feng DL, Tofler GH, Larson MG, et al. Factor VII polymorphisms, factor VII levels, and prevalent cardiovascular disease: the Framingham heart study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:593-600.

alelo Q presentarían un menor riesgo.<sup>259</sup> Es más, se ha observado una menor tasa de infartos agudos de miocardios en estas poblaciones.<sup>254, 256</sup>

Algunos estudios han descrito una reducción en los niveles plasmáticos de FVII en aquellos pacientes heterocigotos (RQ) u homocigotos (QQ) para el alelo no dominante, asociando por lo tanto esta reducción a la presencia del alelo Q.<sup>260,261</sup> Un estudio de Girelli et al, publicado en *New England Journal of Medicine*, incluso sugiere un posible efecto protector de este alelo Q, lo cual permitiría explicar por qué pacientes con arteriosclerosis coronaria severa y portadores del mismo no desarrollarían el infarto agudo de miocardio.<sup>252</sup>

Frente a estos resultados los datos de nuestro trabajo no encuentran diferencias en la distribución genotípica (RR, RQ, QQ) y en la frecuencia alélica (R o Q) del polimorfismo R353Q del FVII entre los casos (HF) y los controles, siendo estas distribuciones y frecuencias similares a las descritas en estudios previos.<sup>262,263</sup> No obstante, y como era de esperar, el análisis de la enfermedad cardiovascular entre los pacientes con y sin HF muestra diferencias significativas ( $p < 0.001$ ). Sin embargo el análisis de la enfermedad cardiovascular de manera

---

<sup>258</sup> Van Der Krabben MD, Rosendaal FR, Van der Bom JG, Doggen CJ. Polymorphisms in coagulation factors and the risk of recurrent cardiovascular events in men after a first myocardial infarction. *J Thromb Haemost* 2008;6:720-5.

<sup>259</sup> Wu AHB, Tsongalis GJ. Correlation of polymorphisms to coagulation and biochemical risk factors for cardiovascular diseases. *Am J Cardiol* 2001;87:1351-6.

<sup>260</sup> Green F, Kelleher C, Wilkes H, Temple A, Meade T, Humphries S. A common genetic polymorphism associated with lower coagulation factor VII levels in healthy individuals. *Arterioscler Thromb* 1991;11:540-6.

<sup>261</sup> Bernardi F, Arcieri P, Bertina RM, et al. Contribution of factor VII genotype to activated FVII levels. Differences in genotype frequencies between Northern and Southern European populations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:2548-53.

<sup>262</sup> Lindman AS, Pedersen JJ, Arnesen H, Hjerkin EM, VeireØd, Prydz H, Seljeflot I. Coagulation factor VII, R353Q polymorphisms, and serum choline-containing phospholipids in males at high risk for coronary heart disease. *Thromb Res* 2004;113:57-65.

<sup>263</sup> Rubattu S, Di Angelantonio E, Nitsch D, et al. Polymorphisms in prothrombotic genes and their impact on ischemic stroke in a Sardinian population. *Thromb Haemost* 2005;93:1095-1100.

global en aquellos sujetos con HF no muestra que existan variaciones en cuanto a su frecuencia en función de ser portador de uno u otro genotipo para dicho polimorfismo. Estos hallazgos estarían en consonancia con resultados previos donde tampoco se encontró la relación entre el polimorfismo y el riesgo cardiovascular, tal y como se describe en los estudios más recientes de Batalla,<sup>264</sup> Kathiresan<sup>265</sup> y Maitland-van der Zee.<sup>266</sup> Aunque los pacientes con HF se encuentran en una situación de elevado riesgo para el desarrollo de enfermedad cardiovascular, no presentaron diferencias en la aparición de la misma en función de la presencia de uno u otro alelo. A este respecto, y con el objetivo de valorar con detalle la posible influencia del alelo Q, los pacientes de nuestro estudio portadores del mismo fueron agrupados (grupo RQ/QQ), sin que su comparativa frente a los no portadores (grupo RR) aportara diferencias en ninguno de los aspectos analizados. Estos resultados podrían verse determinados por la presencia en estos sujetos hipercolesterolémicos de niveles muy elevados de cLDL y disminuidos de cHDL, ambos factores bien conocidos e independientes para el desarrollo prematuro de fenómenos cardiovasculares, de manera que la influencia del posible “efecto protector” del alelo Q no se llevaría a cabo. Por otra parte, tampoco se encontró relación causal en los portadores del alelo R, que determina el genotipo más frecuente en la población y se relaciona con un mayor riesgo cardiovascular.

Otro de los aspectos a tener en cuenta sería la posible relación entre el polimorfismo y la afectación de territorios vasculares determinados (coronario,

---

<sup>264</sup> Batalla A, Alvarez R, Reguero JR, et al. Lack of association between polymorphisms of the coagulation factor VII and myocardial infarction in middle-aged Spanish men. *Int J Cardiol* 2001;80:209-12.

<sup>265</sup> Kathiresan S, Yang Q, Larson MG, et al. Common genetic variation in five thrombosis genes and relations to plasma hemostatic protein level and cardiovascular disease risk. *Thromb Vasc Biol* 2006;26:1405-12.

<sup>266</sup> Maitland-van der Zee, AH, Peters BJ, Lynch AI, et al. The effect of nine common polymorphisms in coagulation factor genes (F2, F5, F7, F12 and F13) on the effectiveness of statins: the GenHAT study. *Pharmacogenet Genomics* 2009;19:338-44.

cerebrovascular o periférico). Aunque de manera global nuestros resultados no mostraran asociación, múltiples estudios han planteado variaciones dependiendo del territorio arterial analizado. La mayoría de ellos se han centrado en la enfermedad coronaria, con resultados variables como ya se ha descrito ampliamente, pero también han valorado la enfermedad cerebrovascular y en menor medida la arterial periférica. Los datos de nuestro estudio, analizados en función del territorio afecto, no muestran relación entre el polimorfismo y la enfermedad coronaria per sé así como la arterial periférica de manera aislada. Con respecto a esta última dos estudios en los que se incluyen pacientes con enfermedad arterial periférica tampoco encontraron asociación con el polimorfismo.<sup>267,268</sup> En relación a la enfermedad cerebrovascular, la baja frecuencia de episodios en nuestros pacientes (únicamente 4 sujetos de los 546 con HF y 3 en los controles), impidió un análisis estadístico que pudiera comparar nuestros resultados con los de trabajos previos.<sup>269,270</sup>

En cuanto a los niveles de FVII, nuestro estudio determinó las concentraciones plasmáticas de FVII:Ag en 320 sujetos, 160 con HF y otros 160 libres de ella. En un primer paso se analizaron las posibles variaciones en estos niveles de FVII dependiendo de los distintos genotipos, para lo cual se unificaron de nuevo en dos grupos (RR vs RQ/QQ), teniendo en cuenta el bajo número de portadores del genotipo homocigoto no dominante (QQ) así como los

---

<sup>267</sup> Lee AJ, Fowkes FG, Lowe GD, Connor JM, Rumley A. Fibrinogen, factor VII and PAI-1 genotypes and the risk of coronary and peripheral atherosclerosis: Edinburg Artery Study. *Thromb Haemost* 1999;81:553-60.

<sup>268</sup> Feng D, Tofler GH, Larson MG, et al. Factor VII gene polymorphisms, factor VII levels, and prevalent cardiovascular disease. The Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:593-600.

<sup>269</sup> Rubattu S, Di Angelantonio E, Nitsch D, et al. Polymorphisms in prothrombotic genes and their impact on ischemic stroke in a Sardinian population. *Thromb Haemost* 2005;93:1095-100.

<sup>270</sup> Maguire JM, Thakkinstian A, Sturm J, et al. Polymorphisms in platelet glycoprotein 1b $\alpha$  and factor VII and risk of ischemic stroke. A meta-Analysis. *Stroke* 2008;39:1710-6.



resultados de varios estudios donde se describen menores niveles asociados al alelo Q y mayores al alelo R.<sup>271,272</sup> Nuestros datos no encuentran variaciones en los niveles de FVII teniendo en cuenta los genotipos y el padecer o no HF (p=0.96). Estos resultados apoyarían los obtenidos en el análisis previo donde no se encontraba relación entre la enfermedad cardiovascular como tal y el polimorfismo, en consonancia con aquellos estudios en los que la falta de asociación entre ambas también se acompañaría de escasa o nula variación en los niveles de FVII.<sup>273, 274, 275</sup> Un segundo análisis valoró los niveles de FVII:Ag en los pacientes con HF, teniendo en cuenta su genotipo y la presencia o ausencia de enfermedad cardiovascular. Al igual que ocurrió previamente tampoco se encontraron variaciones de los niveles según el genotipo entre aquellos con o sin enfermedad cardiovascular. Estos resultados nos permitirían plantear la ausencia de relación entre el polimorfismo R353Q del FVII y el riesgo cardiovascular en pacientes con HF, sin que además las concentraciones plasmáticas de FVII:Ag puedan establecerse como posible mecanismo favorecedor del desarrollo de la enfermedad cardiovascular.

Por último se valoró además el comportamiento de varios factores relacionados directamente con la enfermedad cardiovascular, como son el

---

<sup>271</sup> Girelli D, Russo D, Ferraresi P, et al. Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000;343:774-80.

<sup>272</sup> Shanker J, Perumal G, Maitra A, et al. Genotype-phenotype relationship of F7 R353Q polymorphism and plasma factor VII coagulant activity in Asian Indian families predisposed to coronary artery disease. *J Genet* 2009;88:291-7.

<sup>273</sup> Heywood DM, Carter AM, Catto AJ, Bamford JM, Grant PJ. Polymorphisms of the factor VII gene and circulating FVII:C levels in relation to acute cerebrovascular disease and poststroke mortality. *Stroke* 1997;28:816-21.

<sup>274</sup> Kathiresan S, Yang Q, Larson MG, et al. Common genetic variation in five thrombosis genes and relations to plasma hemostatic protein level and cardiovascular disease risk. *Thromb Vasc Biol* 2006;26:1405-12.

<sup>275</sup> Shanker J, Perumal G, Maitra A, et al. Genotype-phenotype relationship of F7 R353Q polymorphism and plasma factor VII coagulant activity in Asian Indian families predisposed to coronary artery disease. *J Genet* 2009;88:291-7.

índice de masa corporal y varios parámetros del perfil lipídico (colesterol total, cHDL, cLDL y triglicéridos) y su posible relación con el polimorfismo. Nuestros resultados coincidirían con los descritos por Song et al<sup>276</sup> sobre una muestra de pacientes con enfermedad coronaria en los cuales no encuentra dicha relación, coincidiendo con la falta de asociación entre el polimorfismo y el riesgo cardiovascular.

Este trabajo presenta varias limitaciones que podrían condicionar los resultados obtenidos, entre ellas la que estaría en relación con el bajo número de eventos cardiovasculares en los pacientes afectos de HF (14.7%). Esto podría deberse a la edad media de los pacientes incluidos,  $43.5 \pm 16.3$  años, y a la edad del primer episodio cardiovascular,  $46.7 \pm 11.1$  años. Estudios similares, como el de Jansen et al<sup>277</sup> que valoran la influencia de determinantes genéticos en el riesgo cardiovascular de pacientes con HF, encuentran un 33.1% de enfermedad en su cohorte, si bien la edad media del primer evento cardiovascular ascendía a los 48.2 años y se valoraron pacientes con una edad media en la última visita de  $56.4 \pm 11.4$  años. Por otro lado, el haber determinado únicamente la fracción antigénica del FVII podría impedir el hallazgo de variaciones en fracciones diferentes (actividad coagulante, FVII activado), tal y como plantean parte de los estudios descritos. Aún así, la heterogeneidad de todos estos estudios y sus resultados obligarían a valorar futuros trabajos. Por último debería considerarse la complejidad de la HF en relación a los mecanismos etiopatogénicos que determinan su elevado riesgo cardiovascular; el estado de activación crónica de

---

<sup>276</sup> Song J, Yoon YM, Jung HJ, Hong SH, Park H, Kim JQ. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G promoter polymorphism and coagulation factor VII Arg353Gln polymorphism in Korean patients with coronary artery disease. *J Korean Med Sci* 2000;15:146-52.

<sup>277</sup> Jansen AC, van Aalst-Cohen ES, Tanck MW, et al. Genetic determinants of cardiovascular risk in familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1475-81.

los mecanismos de la coagulación y hemostasia planteado en este tipo de pacientes, que condicionaría un estado protrombótico continuo, unido a las intensas alteraciones en las distintas fracciones lipídicas que los caracterizan, podrían conllevar múltiples variaciones en cuanto al efecto de los distintos genotipos o incluso de los propios alelos sobre las concentraciones de FVII y el desarrollo de eventos cardiovasculares, diferenciándose así de los resultados que plantean los estudios previos.

Frente a estas limitaciones, y como aspecto pionero de nuestro trabajo, no conocemos hasta la fecha ninguno que haya valorado el polimorfismo R353Q del FVII de la coagulación en pacientes con HF, lo cual aportaría un aspecto novedoso en el complejo conocimiento de los mecanismos que provocan la elevada incidencia de enfermedad cardiovascular de estos pacientes y las elevadas consecuencias en cuanto a morbimortalidad asociadas. El elevado número de pacientes analizados, con más de 500 pacientes con un diagnóstico de certeza de HF (genético), sería otro de los aspectos destacables del estudio, lo cual permitiría apoyar gran parte de los resultados obtenidos y las conclusiones.

En definitiva, nuestro estudio no encuentra relación entre el polimorfismo R353Q, las concentraciones plasmáticas de FVII y la enfermedad cardiovascular en una población de pacientes con HF. Estos resultados, a diferencia de los encontrados en otras poblaciones sin HF pero con riesgo cardiovascular igualmente elevado, permitiría descartar el posible papel de estos factores en su desarrollo.

## **CONCLUSIONES**



**A. CONCLUSIÓN PRINCIPAL.**

El polimorfismo R353Q (rs6046) del factor VII de la coagulación no predice la incidencia de enfermedad cardiovascular en pacientes con Hipercolesterolemia Familiar.

**B. CONCLUSIONES SECUNDARIAS.**

1. El polimorfismo R353Q (rs6046) del factor VII de la coagulación presenta una distribución genotípica en la cohorte española de Hipercolesterolemia Familiar similar a la de la población general. Además los niveles de factor VII no presentan variaciones en función de padecer Hipercolesterolemia Familiar o no.

2. En pacientes con Hipercolesterolemia Familiar no se ha encontrado relación alguna entre los distintos genotipos del polimorfismo R353Q (rs6046) del factor VII de la coagulación y la enfermedad cardiovascular dependiendo del territorio afectado, ya sea enfermedad coronaria, cerebrovascular o arterial periférica.

3. Las concentraciones plasmáticas de factor VII en los pacientes con Hipercolesterolemia Familiar no presentan variaciones dependiendo de la presencia o no de enfermedad cardiovascular.

4. El análisis del índice de masa corporal y de los parámetros básicos del perfil lipídico (colesterol total, cLDL, cHDL y triglicéridos) en pacientes

con y sin Hipercolesterolemia Familiar no aporta variaciones dependiendo del genotipo del polimorfismo R353Q (rs6046) del factor VII de la coagulación.

# ABREVIATURAS





ADA: Asociación Americana de Diabetes.

ADN: ácido desoxirribonucleico.

ALOX5AP: proteína activadora de la 5 lipooxigenasa.

ALT: alanino-aminotransferasa.

ANOVA: análisis de la varianza.

apo-B: apolipoproteína B.

APOB: mutación de la apo-B.

ARN: ácido ribonucleico.

AST: aspartato-aminotransferasa.

bp: pares de bases.

cHDL: colesterol vehiculizado en lipoproteínas de alta densidad.

Ck: creatin-fosfokinasa.

cLDL: de colesterol vehiculizado en lipoproteínas de baja densidad.

cms: centímetros.

CT: colesterol total.

cVLDL: colesterol vehiculizado en proteínas de muy baja densidad.

DM: diabetes mellitus.

EFG: factor de crecimiento epidérmico.

EKG: electrocardiograma.

ELISA: ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas.

FIX: factor IX.

FIXa: factor IX activado.

FT: factor tisular.

FVII: factor VII.

FVII:Ag: factor VII antigénico.

FVII:C: factor VII con actividad procoagulante.

FVIIa: factor VII activado.

FX: factor X.

FXa: factor X activado.

FXII: factor XII.

FXIIa: factor XII activado.

GGT: Gamma- glutamil transpeptidasa.

H0: hipótesis nula.

H1: hipótesis alternativa.

HAR: hipercolesterolemia autosómica recesiva.

HF: hipercolesterolemia familiar.

HMG-Coa: 3-hidroxi-3-metilglutarial coenzima A reductasa.

HTA: hipertensión arterial.

IC: intervalo de confianza.

IMC: índice de masa corporal.

Kb: kilobase.

KDa: kilodalton.

Kg: kilogramo.

LDL-ox: lipoproteína de baja densidad oxidada.

LDLRAP1: proteína 1 del adaptador del LDL.

Lp(a): lipoproteína A.

LPO: lipoperóxidos.

MEDPED: programa para el diagnóstico precoz y prevención de muerte prematura.

MeSH: Medical Subjects Heading.

ml: mililitros.

mmHg: milímetros de mercurio.

MONICA: proyecto Mónica: Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease.

ng: nanogramos.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OR: odds ratio.

PAD: presión arterial diastólica.

PAS: presión arterial sistólica.

PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

RLDL: receptor de lipoproteínas de baja densidad.

SNP: polimorfismo de nucleótido simple.

T4: tiroxina.

TSH: hormona estimulante del tiroides.



## **ARTÍCULOS DERIVADOS DE LA TESIS**



RESEARCH

Open Access

## R353Q polymorphism in the factor VII gene and cardiovascular risk in Heterozygous Familial Hypercholesterolemia: a case-control study

Juan Criado-García<sup>1</sup>, Francisco Fuentes<sup>1</sup>, Cristina Cruz-Teno<sup>1</sup>, Antonio García-Ríos<sup>1</sup>, Anabel Jiménez-Morales<sup>1</sup>, Javier Delgado-Lista<sup>1</sup>, Pedro Mata<sup>2</sup>, Rodrigo Alonso<sup>2</sup>, José López-Miranda<sup>1</sup> and Francisco Pérez-Jiménez<sup>1\*</sup>, for Spanish Group for the Study of Familial Hypercholesterolemia<sup>1</sup>

### Abstract

**Background:** Heterozygous Familial Hypercholesterolemia (FH) is a genetic disorder characterized by a high risk of cardiovascular disease. Certain polymorphisms of the factor VII gene have been associated with the development of coronary artery disease and there is a known association between factor VII levels and polymorphic variants in this gene. To date, no study has evaluated the association between factor VII and coronary artery disease in patients with FH.

**Results:** This case-control study comprised 720 patients (546 with FH and 174 controls). We determined the prevalence and allele frequencies of the R353Q polymorphism of factor VII, the plasma levels of factor VII antigen (FVII Ag) and whether they could be predictive factors for cardiovascular risk. 75% (410) of the patients with FH were RR, 23% (127) RQ and 1.6% (9) QQ; in the control group 75.3% (131) were RR, 21.3% (37) RQ and 3.4% (6) QQ ( $p = 0.32$ ). No statistically significant associations were observed in the distribution of genotypes and allele frequencies between case (FH) and control groups. Nor did we find differences when we evaluated the relationship between the R353Q polymorphism and cardiovascular risk (including coronary disease, ischemic stroke and peripheral arterial disease), either in the univariate analysis or after adjustment for sex, age, arterial hypertension, body mass index, xanthomas, diabetes, smoking, HDLc and LDLc and lipid-lowering treatment. The FVII Ag concentrations behaved in a similar fashion, with no differences for the interaction between controls and those with FH (RR vs. RQ/QQ;  $p = 0.96$ ). In the subgroup of patients with FH no association was found among cardiovascular disease, genotype and FVII Ag levels (RR vs. RQ/QQ;  $p = 0.97$ ).

**Conclusions:** Our study did not find a direct relationship between cardiovascular risk in patients with Heterozygous Familial Hypercholesterolemia, the R353Q polymorphism of factor VII and FVII Ag levels.

**Keywords:** Familial Hypercholesterolemia Factor VII, R353Q polymorphism

### Background

Heterozygous Familial Hypercholesterolemia (FH) is an autosomal codominant disease caused by defects in the low-density lipoprotein receptor (LDLR) gene [1]. It is a genetic disorder characterized by elevated levels of plasma low-density lipoproteins cholesterol (LDLc)

ranging from 300 to 400 mg/dl, corneal arcus, tendon xanthomas and a high prevalence of early-onset coronary disease. It is extremely heterogeneous, with an incidence of one in 500 persons (0.2%) [2,3]. The study of the mechanisms that encourage the development of cardiovascular disease (CVD) is of great interest, given the variability both of the clinical picture and in the therapeutic response that characterizes this disease. Moreover, not all diagnosed patients present clinical symptoms, so a better understanding of the factors that lead to some patients developing early-onset CVD while

\* Correspondence: fperezjimenez@uco.es

<sup>1</sup>Lipids and Atherosclerosis Unit, Department of Medicine, IMIBIC/Hospital Universitario Reina Sofía/Universidad de Córdoba, Córdoba, Spain and CIBER Fisiopatología Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

Full list of author information is available at the end of the article





others do not, would be very useful as a means of evaluating the risk and adopting preventive measures.

In patients at high CVD risk, such as patients with FH, there appears to be a chronic activation of the mechanisms of coagulation and hemostasis, which leads to what is regarded as a permanent prothrombotic condition [4,5]. Thrombosis is the basis of the most acute manifestations of coronary artery disease. The atheromatous plaque rupture, with the consequent exposure of tissue factor to blood and its subsequent union with factor VII (FVII), initiates the coagulation cascade [6]. One of the components of hemostasis that has aroused interest for its potential role in the development of coronary disease and stroke is FVII. Some studies have associated high levels of plasma FVII with an elevated risk of coronary artery disease [7-10], although these findings have not been confirmed by other studies leading to highly variable results [11,12]. The R353Q polymorphism of the FVII gene has been among those most closely associated with variations in plasma levels of FVII [13-16]. This is a simple nucleotide polymorphism (SNP), characterized by the substitution of a guanine base by an adenine, which involves the substitution of arginine (R) by glutamine (Q) in codon 353 of this protein [8]. Lower levels of FVII have been detected in carriers of the Q allele than in individuals who are homozygous for the more common R allele [17,18]. Carriers of the Q allele may therefore be protected against acute thrombotic events, as has been demonstrated by a number of case-control studies in which the Q allele was associated with a reduced risk of acute myocardial infarct [19-24]; however, this association was weaker [25] or was not detected in another studies [26-28].

The principal objectives of this study were therefore to analyze the prevalence and allele frequency of the R353Q polymorphism and the plasma FVII levels in FH patients with or without CVD and in family members who were unaffected by FH (controls), and to determine whether the presence of this polymorphism could be a predictor of CVD risk in these patients.

## Material and methods

### Study design and study population

This was a case-control study of a sample population selected from a Spanish FH Longitudinal Cohort Study, supported by the "Fundación Española de Hipercolesterolemia Familiar" <http://www.cholesterolfamiliar.com>. One person per family (index case) was also included. The clinical diagnosis of FH was made in accordance with the diagnostic criteria homogenized by the MEDPED international cooperative program, which is coordinated by the World Health Organization (WHO) [29]. All patients with FH included in the study were heterozygous carriers for known functional mutations in the

LDLR gene. This FH genetic diagnosis was carried out also in control patients, assuring the no-FH diagnosis. A written informed consent was obtained from all participants before their inclusion in the cohort and the protocol was approved by the ethic committee of the CEIC Fundación Jiménez Díaz (Madrid). STREGA criteria were used in the reporting of our study [30,31].

We determined the polymorphism in 720 patients. Among them there were 546 persons affected by FH (cases) and 174 family members unaffected by FH (controls). Clinical data concerning sex, age, history of arterial hypertension (HT), smoking, diabetes mellitus (DM), body mass index (BMI), xanthomas, total cholesterol level, triglycerides, LDLc, high-density lipoproteins cholesterol (HDLc), treatment for hyperlipemia and CVD were collected.

### Cardiovascular events

The evaluation and definition of CVD events was based on the WHO MONICA project [32]. CVD was classified as "early onset" when it occurred at an age of less than 55 years in men and 65 in women. CVD events were evaluated via analysis of the CVD history of the patient himself and those of his first-degree (parents, siblings and children) and second-degree (grandparents, aunts and uncles, cousins and nieces and nephews by blood) family who had a documented clinical history of a) ischemic cardiopulmonary (myocardial infarct, angina pectoris, surgery or any other coronary revascularization procedure), b) cerebrovascular disease or c) peripheral vascular disease.

### Sampling procedures

On enrollment in the study, blood samples were obtained by venous puncture from fasting patients. Samples were sent to a central laboratory for the extraction of genomic DNA from the leukocyte fraction of fresh blood, using the Puregen<sup>®</sup> (DNA isolation kit, Gentra Systems, MN, U.S.A.). The genomic DNA was used for the determination of the R353Q mutation of the FVII coagulation gene.

### Determination of FVII polymorphism

FVII polymorphism was determined according to Lindman et al. [33], by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) (Stratagene Mx3005P Cultiect) of a DNA region of exon 8 of the FVII coagulation gene. We used 150 ng of genomic DNA, 3 mM of MgCl<sub>2</sub>, 200 μM of each nucleotide, 1 IU of Hot Start polymerase and reaction buffer to 1X (Dominion-MBL).

The primers were mixed with the probe (GATGCCCGTCAGGTACCACGTGCCC (C/T) GGTA GTGGGTGGCATGTGGGCCTCC) to 1X in a final volume of 10 μl (Taqman<sup>®</sup>-Applied Biosystems). The

DNA was denatured at 95°C for 5 min, followed by 40 cycles of denaturation at 95°C for 30 s, a phase of primer-polymerase union (60°C for 1 min) and extension (72°C for 30 s). The population genotypes were subsequently analyzed using the curves supplied by the RT-PCR equipment. In the R353Q assay, a guanine base is replaced by an adenine, which requires the substitution of arginine (R) by glutamine (Q) in codon 353 of this protein.

Standard good laboratory practices were undertaken to ensure the accuracy of genotype data, including the inclusion of dummy duplicates.

#### Determination of plasma FVII Ag concentrations

FVII Ag levels were determined using an Elisa Kit (AssayMax Human Factor VII ELISA Kit<sup>®</sup>, Assaypro) with a minimum detectable dose < 6 ng/ml and an intra and inter-assay coefficients of variation of 5.0 % and 7.1% respectively.

#### Quantification of plasma lipid levels

Plasma lipid levels (mg/dl) were determined by spectrophotometry (enzymetric colorimetry) in a Modular Analytics ISE-4-DDPPEEP autoanalyzer (F. Hoffmann-La Roche, Basle, Switzerland); an oxidation-peroxidation method was employed to assay total cholesterol, HDLc and triglycerides; LDLc was estimated by Friedewald's formula (LDLc = total cholesterol - triglycerides/5-HDLc).

#### Statistical analysis

The SPSS statistical package (version 17.0 for Windows) was utilized for all statistical analyses, which comprised:

- descriptive analysis of absolute and relative frequencies with 95% confidence intervals (CI) and means and standard deviations of the quantitative variables.
- comparison of qualitative variables using chi-squared contingency tables; in the case of 2 × 2 tables, the chi-squared table alone was used, while if any expected frequency was < 5, Fisher's exact test was employed.
- comparisons of the mean values of the quantitative variables by means of Student's t-test for two independent samples or single-factor analysis of variance for more than two independent samples.

In all the statistical tests, values of  $p < 0.05$  were treated as significant and the hypothesized contrasts were bilateral.

In order to evaluate the association of the FVII genotype with CVD, we calculated the odds ratio (crude OR) and its 95% CI by univariate logistical regressions. In

order to control for sex, age, HT, BMI, xanthomas, DM, LDLc, HDLc, smoking and lipid-lowering therapy, we employed a multivariate logistics model (adjusted OR).

## Results

### Baseline characteristics

The general characteristics of the patients are shown in Table 1. No significant differences were found in the following variables: sex, BMI, HT, DM or triglyceride levels between the FH and control groups. However there were differences in age, total cholesterol, LDLc and HDLc levels, xanthomas (102 of 546 FH patients developed them, 18.9%), in those patients under lipid-lowering treatment (more than 83% of the FH), in the number of CVD events as well as in global CVD and in the mean age of the first event.

### Cardiovascular disease

In 14.7% of the patients with FH a CVD event occurred; 75 patients developed coronary artery disease, 4 cerebrovascular disease and 12 peripheral arterial disease. In the distribution by vascular territories, 71% of FH with CVD had affectation of a single territory while in 9%, two or more territories were affected, with a statistically significant difference in the distribution of the CVD events compared with the control group ( $p < 0.001$ ). We must emphasize the low frequency of cerebrovascular disease in both the control (1.7%) and the FH group (0.7%), with no significant difference between them ( $p = 0.37$ ). The frequency of peripheral vascular disease (predominantly in the lower extremities) was 2.1% in FH patients and 0.5% in the controls ( $p = 0.21$ ).

### The R353Q polymorphism

In the analysis of the R353Q genotypes distribution (Table 2), we found that 75.1% of the patients with FH were RR, 21.3% were RQ and 3.4% QQ, without any evidence of differences between the control and FH groups ( $p = 0.32$ ). Similar results were obtained when we analyzed this genotypes distribution comparing RR vs RQ/QQ ( $p = 0.96$ ). In the allele frequencies (R or Q allele presence), we found no statistically significant differences between case (FH) and control groups (0.86 and 0.87, IC 95% 0.82, 0.89 and 0.85, 0.89 respectively for the R allele; 0.14 and 0.13, IC 95% 0.11, 0.18 and 0.11, 0.15 respectively for the Q allele). The allele frequencies in both were adjusted to the Hardy-Weinberg equilibrium ( $p = 0.97$  and  $p = 28$ , respectively).

### Polymorphism and cardiovascular risk

In order to identify possible relationships between the different genotypes and higher or lower prevalence of CVD in FH patients (Table 3), we performed an univariate analysis. With respect to global CVD we found no

**Table 1 Basic characteristics of patients and controls**

	Controls N = 174	Familial hypercholesterolemia N = 546	Value of P
Age (years)	39.7 ± 17.5	43.5 ± 16.3	<b>0.009</b>
Women (%)	55.7	47.3	0.62
BMI	25.7	26.6	0.20
HT (%)	10.3	12.7	0.41
DM (%)	2.3	2.4	1.000
Total cholesterol (mg/dl)	239.6 ± 70.3	270.3 ± 70.4	<b>&lt; 0.001</b>
Triglycerides (mg/dl)	102.2 ± 61.1	109.1 ± 62.5	0.22
LDLc (mg/dl)	168.4 ± 68.4	201.3 ± 67.1	<b>&lt; 0.001</b>
HDLc (mg/dl)	50.2 ± 13.4	46.1 ± 13.2	<b>&lt; 0.001</b>
Xanthomas	0.0	102 (18.6%)	<b>&lt; 0.001</b>
Smoking (%)	46.8	49.4	0.55
Lipid-lowering treatment	66 (37.9%)	458 (83.9%)	<b>&lt; 0.001</b>
CV disease	8 (4.6%)	80 (14.7%)	<b>&lt; 0.001</b>
First CV event (years)	57.1 ± 13.3	46.7 ± 11.1	<b>0.01</b>
Coronary artery disease	6 (3.4%)	75 (13.7%)	<b>&lt; 0.001</b>
Cerebrovascular disease	3 (1.7%)	4 (0.7%)	0.37
Peripheral arterial disease	1 (0.5%)	12 (2.1%)	0.21
CVD distribution:			
-single territory	6 (3.5%)	71 (13%)	<b>&lt; 0.001</b>
-two or more territories	2 (1.2%)	9 (1.6%)	

Values expressed as means ± standard deviation. BMI: body mass index, calculated by dividing weight by height squared. HT: arterial hypertension. DM: diabetes mellitus. CV: cardiovascular. LDLc: low-density lipoproteins cholesterol. HDLc: high-density lipoproteins cholesterol.

statistical differences between carriers of the RR and RQ genotypes, just as in those subjects who were homozygous for the non-dominant gene (RR genotype). The separately analysis of coronary artery disease and peripheral vascular disease led to same results; this analysis could not be applied to cerebrovascular disease because of its low incidence (four subjects). Multivariate logistic regression analysis, adjusted for sex, age, HT, BMI, xanthomas, DM, HDLc, LDLc, smoking habit and treatment for hyperlipemia found no association between the genotypes of the FVII R353Q mutation and CVD.

#### FVII Ag levels

Plasma FVII Ag levels (ng/mL) were determined in a subgroup of 320 patients, 160 controls (including 8 with CVD) and 160 FH patients (80 with CVD). The genotypes distribution (RR vs RQ/QQ) between both groups was similar ( $p > 0.05$ ). Analysis of variance for two factors (FH and genotype) adjusted for sex, age, DM, smoking, HT and CVD was applied and no differences were found in FVII Ag levels for the interaction between both factors ( $p = 0.96$ ) (Table 4). We also studied the FVII Ag concentration in patients with FH ( $n = 160$ )

**Table 2 FVII genotype polymorphisms of FH and control patients**

	Controls N = 174	Familial hypercholesterolemia N = 546	Total N = 720	Value of P*
Genotype R353Q FVII				0.32
RR	131 (75.3%)	410 (75.1%)	541 (75.1%)	
RQ	37 (21.3%)	127 (23.3%)	164 (22.8%)	
QQ	6 (3.4%)	9 (1.6%)	15 (2.1%)	
				0.96
RR	131 (75.3%)	410 (75.1%)	541 (75.1%)	
RQ/QQ	43 (24.7%)	136 (24.9%)	179 (24.9%)	
Allele frequency				
R	0.86 (0.82-0.89)	0.87 (0.85-0.89)		
Q	0.14 (0.11-0.18)	0.13 (0.11-0.15)		

\*P values expressed by  $\chi^2$  (Pearson). FVII: Factor VII.

**Table 3 Multivariate analysis of FH patients**

	CVD Patients (%)			OR (CI 95%)*	P	Adjusted OR** (CI 95%)	P
	Patients (n = 546)	No (n = 466)	Yes (n = 80)				
<b>FVII</b>							
RR	410	350 (75.1)	60 (75.0)	1.00 (Reference)		1.00 (Reference)	
RQ	127	110 (23.6)	17 (21.3)	0.89 (0.50 - 1.59)	0.70	0.76 (0.36 - 1.58)	0.46
QQ	9	6 (1.3)	3 (3.7)	2.88 (0.70 - 11.84)	0.14	3.53 (0.66 - 18.92)	0.14
RQ/QQ	136	116 (24.9)	20 (25.0)	0.99 (0.58 - 1.72)	0.98	0.89 (0.45 - 1.78)	0.75
<b>CAD Patients (%)</b>							
	Patients (n = 546)	No (n = 471)	Yes (n = 75)	OR (CI 95%)*	P	Adjusted OR** (CI 95%)	P
<b>FVII</b>							
RR	410	354 (75.1)	56 (74.7)	1.00 (Reference)		1.00 (Reference)	
RQ	127	111 (23.5)	16 (21.3)	0.90 (0.50 - 1.63)	0.73	0.90 (0.43 - 1.87)	0.77
QQ	9	6 (1.4)	3 (4.0)	3.12 (0.76 - 12.86)	0.11	3.33 (0.64 - 17.24)	0.15
RQ/QQ	136	117 (24.9)	19 (24.3)	1.02 (0.58 - 1.78)	0.96	1.05 (0.52 - 2.08)	0.90
<b>PAD Patients (%)</b>							
	Patients (n = 546)	No (n = 534)	Yes (n = 12)	OR (CI 95%)*	P	Adjusted OR** (CI 95%)	P
<b>FVII</b>							
RR	410	401 (75.1)	9 (75.0)	1.00 (Reference)		1.00 (Reference)	
RQ	127	125 (23.4)	2 (13.7)	0.71 (0.15 - 3.34)	0.67	0.78 (0.15 - 3.84)	0.76
QQ	9	8 (1.5)	1 (8.3)	5.56 (0.63 - 49.33)	0.12	5.77 (0.26 - 125.96)	0.26
RQ/QQ	136	132 (24.9)	3 (24.0)	1.00 (0.27 - 3.77)	0.99	1.03 (0.26 - 4.17)	0.96

\*Crude OR obtained by univariate logistic regression analysis. \*\*Multivariate logistic regression adjusted for sex, age, body mass index, xanthomas, arterial hypertension, smoking, diabetes mellitus, LDLc, HDLc and lipid-lowering treatment. FVII: Factor VII. FH: Heterozygous Familial Hypercholesterolemia. CVD: cardiovascular disease. CAD: coronary artery disease. PAD: peripheral artery disease.

depending on the presence or not of CVD; in the analysis of variance for CVD and genotype adjusted for age, sex, DM, smoking and HT no differences were found for the interaction between them ( $p = 0.97$ ) (Table 5).

#### Discussion

In our study, the R353Q polymorphism of the FVII gene, its allele frequency and the FVII Ag levels neither predict nor are directly related to the prevalence of CVD in FH patients.

FH is the monogenetic disease with the highest prevalence in human beings and it is associated with a high risk of early and serious CVD. The global prevalence of

CVD in this study was 14.7%, with a mean age of  $45.5 \pm 16.3$  years, while it is estimated that in general spanish population the prevalence in the same age range is 2.6% [34]. The prevalence of FH is highly variable in western populations, being as high as 39% in some series [35]. These variations have been attributed to a number of factors, such as the different diagnostic criteria (genetic or clinical) used in the FH studies, differences in the methodologies employed and the possible direct influence of environmental factors, such as diet. In fact, it has been demonstrated that consumption of a Mediterranean diet rich in olive oil reduces the incidence of CVD in the general population [34], even leading to a

**Table 4 FVII Ag levels in controls and FH patients**

Genotype R353Q FVII	FVII levels (ng/mL)	Controls (n = 160)	Familiar hypercholesterolemia (n = 160)
		RR (n = 120)	Mean
	Adjusted mean	372.9 ± 204.7	288.6 ± 211.2
RQ/QQ (n = 40)	Mean	387.5 ± 248.2	265.6 ± 130.8
	Adjusted mean	376.7 ± 198.1	293.9 ± 200.2

Values expressed as means ± standard deviation. Analysis of variance for two factors (FH and genotype) adjusted for age, sex, diabetes, smoking, arterial hypertension and cardiovascular disease. No differences were found for the interaction between both factors (0.96). FVII: Factor VII.

**Table 5 FVII Ag levels in FH patients and CVD**

Genotype R353Q FVII	FVII levels (ng/mL)	CVD	
		No (n = 80)	Yes (n = 80)
RR (n = 60)	Mean	307.1 ± 175.4	278.6 ± 137.5
	Adjusted mean	260.9 ± 240.0	311.7 ± 167.7
RQ/QQ (n = 20)	Mean	219.7 ± 111.2	311.4 ± 135.5
	Adjusted mean	213.3 ± 168.1	359.9 ± 152.3

Values expressed as means ± standard deviation. Analysis of variance for two factors (CVD and genotype) adjusted for age, sex, diabetes mellitus, smoking and arterial hypertension. No differences were found for the interaction between both factors (0.97). CVD: cardiovascular disease. FVII: Factor VII.

reduction in the level of activated FVII [37], which would also have a direct influence on subjects with FH. The phenotypic expression of FH in terms of onset and severity of atherosclerotic vascular disease varies considerably. A paucity of consistent data exist on factors that contribute to these phenotypic differences. Several studies have analyzed the influence of traditional CVD risk factors and the functional variety of LDLR mutation on this phenotypic variability [38,39]. However, they can only partially explain the observed differences. Therefore other still unknown factors, such as genetic conditions, could play an important role in the development of CVD in these patients. This is sustained by the fact that clustering of CVD occurs in FH kindred. The genetic variability of this population sample would be determined by the presence or absence of certain polymorphisms as potential predictor of CVD risk. Also a number of studies have demonstrated that FH patients with xanthomas have a higher risk of CVD compared to those without them [40,41]. A recent meta-analysis has demonstrated this fact concluding that the presence of tendon xanthomas is associated with a 3 times higher risk of CVD among FH patients, suggesting that xanthomas and CVD may share a common etiology [42]. Our population had a 14.7% of global CVD prevalence, very low if we compare it with another FH cohort as Simon Broome [43], whose global prevalence was much higher (60%). In Simon Broome cohort, 48% of FH patients presented with tendon xanthomas; this fact could partially justify the highest prevalence of CVD when we compared it with our study where only 18.6% developed them. This low prevalence of CVD could be explained by the low presence of tendon xanthomas in our population. On the other hand we should also considered that Simon Broome cohort used clinical criteria for FH diagnosis; in our cohort genetic diagnosis of FH was carried out in all cases.

Among those potentially interesting genes of such phenotypic variability is FVII gene. Several of its

polymorphisms have been associated with differences in the risk of suffering CVD events when they have been analyzed in groups of severe atherosclerosis patients [18,19,23,24], basically due to variations in their levels and plasma activity, which may encourage a state of hypercoagulability [13,16]. Our study analyzed the different types of the R353Q polymorphism of FVII gene in a sample of FH patients, comparing their potential association with CVD (coronary, cerebrovascular and peripheral artery disease). Some studies have suggested that global CVD risk appears to be independent of the R353Q polymorphism of FVII [44-46]; however, a meta-analysis has demonstrated that bearers of the Q allele are at lesser risk [47]. Furthermore, a lower rate of myocardial infarcts has been observed in such populations [23,24]. Several studies have described a reduction in circulating FVII levels in patients who are heterozygous (RQ) or homozygous (QQ) for the non-dominant gene thus associating these levels with the presence of the Q allele [13,14]. One study by Girelli et al. has even suggested a possible protective effect of this allele, as a means of explaining why patients with severe coronary arteriosclerosis do not evolve acute myocardial infarct [18]. In the face of these results, the data from our study, in which the frequency distribution of the various FVII alleles is identical to that of the general population [33,48], do not shown any differences in terms of CVD frequency between the subjects who are homozygous for the various alleles when patients, with or without FH, are compared. Although FH patients are at high risk of CVD, they do not present differences in the frequency of CVD events as a function of being carriers, or not, of either allele. The fact that these patients present elevated levels of total cholesterol and LDLc, and lower levels of HDLc (these being factors that are independent of the development of early-onset cardiovascular phenomena), may have influenced our results, without such findings having been observed in association with allele Q. On the other hand, there was no causal relationship between the carriers of the R allele, which determines the most frequent genotype in the population, and development of CVD.

Respecting plasma FVII Ag levels our data do not shown differences in controls and FH patients and no relation could be established with the genotype and also with its allelic distribution (RR vs. RQ/QQ). These results contrast with some studies that found lower FVII levels in carriers of Q allele [13] and moreover no protective effect could be attributed to Q allele in our population [14]. In the subgroup of patients affected of FH, the comparison between those with or without CVD showed no change in the adjusted mean levels of FVII depending on genotype. All these circumstances would support the absence of association between the

R353Q polymorphism and CVD risk in our FH patients, according to all those studies where global CVD risk appears to be independent of the R353Q polymorphism of FVII [44-46].

We must also consider, as one of the possible reasons that could justify this lack of relation between the polymorphism and CVD, the low number of cardiovascular events developed in our FH patients (14.7%), probably because of their mean age, just  $43.5 \pm 16.3$  with an age in the first CV event of  $46.7 \pm 11.1$  years. Jansen et al [49], who investigated the contribution of polymorphisms in multiple candidate genes to CVD risk, found a 33.1% of CVD frequency in their FH cohort, where the mean age of onset of CVD was 48.2 years, although they analyzed patients with age at last visit of  $56.4 \pm 11.4$  years.

### Conclusions

We are unaware of any study that has associated FVII with CVD risk in FH patients and our study is thus a pioneer in this respect. It has been well demonstrated that there are variations in the concentration and activity of FVII as a function of the genotype involved, with these being lower in carriers of the Q allele. As our data have shown, therefore, the R353Q polymorphism of FVII gene does not predict cardiovascular risk in the sample of FH patients in the Spanish Cohort.

### Disclosures

None of the authors had any conflict of interest.

### Funding Sources

This work was supported by research grants from the Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC-08-2008), National Health Institute; CIBER (CBO/6/03), Instituto de Salud Carlos III; CICYT (SAF 01/2466-C05 04 to F P-J, SAF 01/0366 to J L-M, AGL 2004-07907 to J L-M, AGL 2006-01979 to JL-M), the Spanish Ministry of Health (FIS 01/0449, FIS PI041619 to CM); Fundación Cultural "Hospital Reina Sofía-Cajal"; Consejería de Salud, Servicio Andaluz de Salud (00/212, 00/39, 01/239, 01/243, 02/64, 02/65, 02/78, 03/73, 03/75, 04/237, 04/191, 04/238, 05/396); Consejería de Educación, Plan Andaluz de Investigación, Universidad de Córdoba; Centro Excelencia Investigadora Aceite de Oliva y Salud (CEAS); NIH grants HL54776 and DK07503; Fundación Española de Hipercolesterolemia Familiar.

### List of Abbreviations

FH: Heterozygous Familial Hypercholesterolemia; LDLR: low-density lipoprotein receptor; CVD: cardiovascular disease; FVII: factor VII; FVII Ag: factor VII antigen; HDLc: high-density lipoproteins cholesterol; LDLc: low-density lipoproteins cholesterol; DM: diabetes mellitus; BMI: body mass index; HT: arterial hypertension.

### Acknowledgements

This study was performed using data obtained from the Heterozygous Familial Hypercholesterolemia Cohort Study and from the medical centers currently active in that project:  
Fundación Jiménez Díaz de Madrid (Pedro Mata - Rodrigo Alonso Karlez)  
Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba (Francisco Fuentes Jiménez)  
Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla (José Villar Ortiz - Ovidio Muñoz Grijalvo)  
Hospital Ramón y Cajal, Madrid (Clotilde Vázquez Martínez -Francisco Arrieta)  
Hospital de Mérida, Badajoz (Pedro Sáenz Aranzubia)  
Hospital de Elche, Alicante (Mar Piedecausa-Selfa - Ana Maestre Peiró)  
Hospital San Pedro de Alcántara, Cáceres (Juan Francisco Sánchez Muñoz-Torrero)  
Hospital Clínico, Barcelona (Daniel Zambón Rados)  
Hospital Donostia, Donostia (Fátima Almagro Múgica)  
Hospital Central, Asturias (Pilar Gómez Enterría - Ceferino Martínez Faedo)  
Hospital Ciudad Real, Ciudad Real (Jesús Galiana Gómez del Pulgar)  
Hospital Nuestra Señora de la Candelaria, Tenerife (Francisca Pereyra -Mercedes Muros)  
Hospital Comarcal Vega Baja, Orihuela, Alicante (José María Cepeda Rodrigo), and with the direct support of CIBER (CBO6/03), Instituto de Salud Carlos III and Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC 08-2008; Plan Nacional de Investigación, Ministerio de Ciencia e Innovación). Special acknowledgments to Elisa Muñoz (IMBIC/Reina Sofía University Hospital) in the statistical analysis and interpretation. The CIBEROBN is an initiative of the Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

### Author details

<sup>1</sup>Lipids and Atherosclerosis Unit, Department of Medicine, IMBIC/Hospital Universitario Reina Sofía/Universidad de Córdoba, Córdoba, Spain and CIBER Fisiopatología Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain. <sup>2</sup>Lipid Clinic. Internal Medicine, IIS- Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain.

### Authors' contributions

JCG: Development of study design, determination of FVII polymorphism and FVII Ag concentrations, statistical analysis and interpretation, draft manuscript. FF: Development of study design, collection data and analysis and interpretation. CCT: Determination of FVII polymorphism and FVII Ag concentrations. AGR: Collection data. AJM: Development of study design, statistical analysis. JDL: Statistical analysis. PM: Collection and data interpretation. RA: Collection and data interpretation. JLM: Development of study design, statistical analysis and interpretation. FPJ: Development of study design, statistical analysis and interpretation. All authors have read and approved the final manuscript.

Received: 27 February 2011 Accepted: 9 April 2011  
Published: 9 April 2011

### References

1. Goldstein JL: **Familial hypercholesterolemia**. In *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. Edited by: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle E. New York: McGraw-Hill; 2001:2863-913.
2. Goldstein JL, Schrott HJ, Hazzard WR, Bierman EL, Motulsky AG: **Hyperlipidemia in coronary heart disease. II. Genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia**. *J Clin Invest* 1973, **52**:1544-68.
3. Soutar AK, Naoumova RP: **Mechanisms of disease: genetic causes of familial hypercholesterolemia**. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007, **4**:214-25. Review.
4. Pérez-Jiménez F, Lista JD, Pérez-Martínez P, López-Segura F, Fuentes F, Cortés B, Lozano A, López-Miranda J: **Olive and haemostasis: a review on its healthy effects**. *Public Health Nutr* 2006, **9**(8A):1083-8. Review.
5. Mutanen M, Freese R: **Fats, lipids and blood coagulation**. *Curr Opin Lipidol* 2001, **12**:25-29.
6. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH: **Mechanisms of disease-the pathogenesis of coronary artery disease and the acute syndromes**. *N Engl J Med* 1992, **326**:242-50.
7. Meade TW, Mellows S, Brozovic M, Miller GJ, Chakraborti WR, North WR, Haineer AP, Stirling Y, Imeson JD, Thomson SG: **Haemostatic function and**

- ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park heart study. *Lancet* 1986, **2**:533-7.
8. Heinrich J, Balleisen L, Schulte H, Assmann G, vandeloo J: **Fibrinogen and factor VII in the prediction of coronary risk. Results from de PROCAM study in healthy men.** *Arterioscler Thromb* 1994, **14**:54-9.
  9. Campo G, Valgimigli M, Ferraresi P, Malagutti P, Baroni M, Arcozzi C, Gemmati D, Perocco G, Parrinello G, Ferrari R, Bernardi F: **Tissue factor and coagulation factor VII levels during acute myocardial infarction: association with genotype and adverse events.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006, **26**:2800-06.
  10. Karatela RA, Sainani GS: **Interrelationships of factor VII activity and plasma leptin with insulin resistance in coronary heart disease.** *Atherosclerosis* 2010, **209**:235-40.
  11. Cooper JA, Miller GJ, Bauer KA, Morrissey JH, Meade TW, Howarth DJ, Barzegar S, Mitchell JP, Rosenberg RD: **Comparison of novel hemostatic factors and conventional risk factors for prediction of coronary heart disease.** *Circulation* 2000, **102**:2816-22.
  12. Eriksson-Berg M, Silveira A, Orth-Gomer K, hamsten A, Schenck-Gustafsson K: **Coagulation factor VII in middle-aged women with and without coronary heart disease.** *Thromb Haemost* 2001, **85**:787-92.
  13. Green F, Kelleher C, Wilkes H, Temple A, Meade T, Humphries S: **A common genetic polymorphism associated with lower coagulation factor VII levels in healthy individuals.** *Arterioscler Thromb* 1991, **11**:540-6.
  14. Bernardi F, Arcieri P, Bertina RM, Chiarotti F, Corral J, Pinotti M, Prydz H, Samama M, Sandset PM, Strom R, Garcia VV, Mariani G: **Contribution of factor VII genotype to activated FVII levels. Differences in genotype frequencies between Northern and southern European populations.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997, **17**:2548-53.
  15. Mtraoui N, Aboud N, Bouraoui H, Haizem S, Gris JC, Busson M, Tamim H, Almawi WY, Mahjoub T: **Reduction in coagulation factor VII plasma levels by R353Q but not the -323P0/10 promoter polymorphism in healthy Tunisians.** *Am J Hematol* 2005, **79**:11-6.
  16. Kathiresan S, Yang Q, Larson MG, Camargo AL, Tofler GH, Hirschhorn JN, Gabriel SB, O'Connell CL: **Common genetic variation in five thrombosis genes and relations to plasma hemostatic protein level and cardiovascular disease risk.** *Thromb Vasc Biol* 2006, **26**:1405-12.
  17. Bernardi F, Marchetti G, Pinotti M, Arcieri P, Baroncini C, Papacchini M, Zeponi E, Ursicino N, Chiarotti F, Mariani G: **Factor VII gene polymorphisms contribution about one third of the factor VII levels variation in plasma.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996, **16**:72-6.
  18. Girelli D, Russo C, Ferraresi P, Olivieri O, Pinotti M, Friso S, Manzato F, Mazzucco A, Bernardi 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**:774-80.
  19. Lacoviello L, DiCastelnuovo A, de Knijff P, D'Orazio A, Amore C, Arboretti R, Klufft C, Benedetta Donati M: **Polymorphism in the coagulation factor VII gene and the risk of myocardial infarction.** *N Engl J Med* 1998, **338**:79-85.
  20. Shikomata K, Kondo T, Ohno M, Takeshita K, Inden Y, Lino S, Saito H, Hirai M: **Effects of coagulation Factor VII polymorphisms on the coronary artery disease in Japanese: Factor VII polymorphism and coronary disease.** *Thromb Res* 2002, **15**:493-8.
  21. Geng X, Jin GD, Fu GS, Ji MA, Shann J, Wang JA: **Polymorphisms in the genes for coagulation factor II, V, VII in patients undergoing coronary angiography.** *J Zhejiang Univ Sci* 2003, **4**:369-73.
  22. Ogawa M, Abe S, Biro S, Saigo M, Kihara T, Setoyama S, Matsuoka T, Toda H, Torii H, Atsuchi Y, Toyama Y, Tateishi S, Minagoe S, Maruyama I, Tei C: **R353Q polymorphism, activated factor VII, and risk of premature myocardial infarction in Japanese men.** *Circ J* 2004, **68**:520-25.
  23. Jeffery S, Poliniacki J, Leatham E, Bevan D, Ireson N, Talbot S, Cole D, Kaski JC: **A protective contribution of the Q allele of the R353Q polymorphism of the factor VII gene in individuals with chronic stable angina?** *Int J Cardiol* 2005, **28**:395-9.
  24. Fujimaki T, Kato K, Yoshida T, Oguri M, Watanabe S, Metoki N, Yoshida H, Satoh K, Aoyagi Y, Nishigaki Y, Tanaka M, Nozawa Y, Kimura G, Yamada Y: **Association of genetic variants with myocardial infarction in Japanese individuals with chronic kidney disease.** *Thromb Haemost* 2009, **101**:963-68.
  25. Lane A, Green F, Scarabin PY, Nicaud V, Bara L, Humphries S, Evans A, Luc G, Cambou JP, Arveiler D, Cambien F: **Factor VII Arg/Gln (B53) polymorphism determines factor VII coagulant activity in patients with myocardial infarction (MI) and control subjects in Belfast and in France but is not a Strong indicator of MI risk in the ECTIM study.** *Atherosclerosis* 1996, **119**:119-27.
  26. Batalla A, Alvarez R, Reguero JR, Gonzalez P, Alvarez V, Cubero GL, Cortina A, Coto E: **Lack of association between polymorphisms of the coagulation factor VII and myocardial infarction in middle-aged Spanish men.** *Int J Cardiol* 2001, **80**:209-12.
  27. Zheng Y, Liu E, Higgins J, Keavney BD, Lowe GD, Danesh S: **Seven haemostatic polymorphisms in coronary disease: meta-analysis of 66155 cases and 91397 controls.** *Lancet* 2006, **367**:651-58.
  28. Maguire JM, Thakkinstan A, Sturm J, Levi C, Lincz L, Parsons M, Whyte S, Attia J: **Polymorphisms in platelet glycoprotein 1ba and factor VII and risk of ischemic stroke: a meta-analysis.** *Stroke* 2008, **39**:1710-16.
  29. WHO: **Human Genetics Program. Familial hypercholesterolaemia, a global prospective.** Ginebra: WHO; 1999.
  30. Simeria I, Mother D, Hirst A, Hoey K, Schultz KF, Altman DG: **Transparent and accurate reporting increases reliability and impact of your research: reporting guidelines and the EQUATOR Network.** *BMC Med* 2010, **26**:8-24.
  31. Simeria I, Mother D, Hoey J, Schulz KF, Altman DG: **A catalogue of reporting guidelines for health research.** *Eur J Clin Invest* 2010, **40**:35-53, Review.
  32. World Health Organization Cardiovascular Diseases Unit: **WHO MONICA Project: MONICA Manual.** Geneva: World Health Organization; 1990.
  33. Lindman AS, Pedersen JJ, Arnesen H, Hjerkin EM, Veire2d MB, Prydz H, Seljefflot I: **Coagulation factor VII, R353Q polymorphism, and serum choline-containing phospholipids in males at high risk for coronary heart disease.** *Thromb Res* 2004, **113**:57-65.
  34. Baena Diez JM, del Val García JL, Tomás Pelegrina J, Martínez Martínez JL, Martín Peñacoba R, González Tejón I, Raidó Quintana EM, Pomares Sajkiewicz M, Altés Boronat A, Alvarez Pérez B, Piñol Forcadell P, Rovira España M, Oller Colom M: **Cardiovascular disease epidemiology and risk factors in primary care.** *Rev Esp Cardiol* 2005, **58**:367-373.
  35. Alonso R, Mata N, Castillo S, Fuentes F, Saenz P, Muñoz O, Galiana J, Figueras R, Diaz JL, Gomez-Enterria P, Mauri M, Piedecausa M, Irigoyen L, Aguado R, Mata P, Spanish Familial Hypercholesterolaemia Group: **Cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: influence of low-density lipoprotein receptor mutation type and classic risk factors.** *Atherosclerosis* 2008, **200**:315-21.
  36. López-Miranda J, Badimon L, Bonanome A: **Monounsaturated fat and cardiovascular risk.** *Nutr Rev* 2006, **64**:S2-S12.
  37. Gómez P, Fernández de la Puebla RA, Castro P, López-Miranda J, Marín C, Fuentes F, Pérez-Martínez P, Velasco F, Moreno JA, Torres A, Pérez-Jiménez F: **Effect of the Mediterranean diet on casting concentrations of activated factor VII in healthy persons.** *Rev Esp Cardiol* 2005, **58**:285-9.
  38. de Saugé Noltin PR, Defesche JC, Buirma RJ, Hutten BA, Lansberg PJ, Kastelein JJ: **Prevalence and significance of cardiovascular risk in a large cohort of patients with familial hypercholesterolaemia.** *J Intern Med* 2003, **253**:161-8.
  39. Umans-Eckenhuisen MA, Sijbrands EJ, Kastelein JJ, Defesche JC: **Low-density lipoprotein receptor gene mutations and cardiovascular risk in a large genetic cascade screening population.** *Circulation* 2002, **106**:3031-6.
  40. Civeira F, Castillo S, Alonso R, Meriño-Ibarra E, Cenarro A, Artied M, Martín-Fuentes P, Ros E, Pocióvi M, Mata P, Spanish Familial Hypercholesterolemia Group: **Tendon xanthomas in familial hypercholesterolemia are associated with cardiovascular risk independently of the low-density lipoprotein receptor gene mutation.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005, **25**:1960-5.
  41. van Aalst-Cohen ES, Jansen EC, Tanck MW, Defesche JC, Trip MD, Lansberg PJ, Stalenhoef AF, Kastelein JJ: **Diagnosing familial hypercholesterolaemia: the relevance of genetic testing.** *Eur Heart J* 2006, **27**:2240-6.
  42. Oosterver DM, Vermissen J, Yazdanpanah M, Defesche JC, Kastelein JJ, Sijbrands EJ: **The risk of tendon xanthomas in familial hypercholesterolemia by variation in genes of the reverse cholesterol transport pathway and the low-density lipoprotein pathway.** *Eur Heart J* 2010, **31**:1007-12.
  43. Humphries SE, Whittall RA, Hubbart CS, Maplebeck S, Cooper JA, Soutar AK, Naoumova R, Thompson GR, Seed M, Durrington PN, Miller JP, Betteridge DJ, Neil HA, Simon Broome Familial Hyperlipidaemia Register Group and Scientific Steering Committee: **Genetic causes of familial hypercholesterolaemia in patients in the UK: relation to plasma lipid levels and coronary heart disease risk.** *J Med Genet* 2006, **43**:943-9.



44. Feng DL, 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 polymorphism, factor VII levels, and prevalent cardiovascular disease—the Framingham heart study.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000, **20**:593-600.
45. Lee AJ, Fowkes FGR, Lowe GDO, Connor JM, Rumely A: **Fibrinogen, factor VII and PAI-1 genotypes and the risk at coronary and peripheral atherosclerosis: Edinburgh artery study.** *Thromb Haemost* 1999, **81**:553-60.
46. Van der Krabben MD, Rosendaal FR, Van der Bom JG, Doggen CJ: **Polymorphisms in coagulation factors and the risk of recurrent cardiovascular events in men after a first myocardial infarction.** *J Thromb Haemost* 2008, **6**:720-5.
47. Wu AHB, Tsongalis GJ: **Correlation of polymorphisms to coagulation and biochemical risk factors for cardiovascular diseases.** *Am J Cardiol* 2001, **87**:1361-6.
48. Rubattu S, Di Angelantonio E, Nitsch D, Gigante B, Zanda B, Stanzione R, Evangelista A, Pirisi A, Rosati G, Volpe M: **Polymorphisms in prothrombotic genes and their impact on ischemic stroke in a Sardinian population.** *Thromb Haemost* 2005, **93**:1095-100.
49. Jansen AC, van Aalst-Cohen ES, Tanck MW, Cheng S, Fontecha MR, Li J, Defesche JC, Kastelein JJ: **Genetic determinants of cardiovascular risk in familial hypercholesterolemia.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005, **25**:1475-81.

doi:10.1186/1476-511X-10-50

**Cite this article as:** Criado-García et al: **R353Q polymorphism in the factor VII gene and cardiovascular risk in Heterozygous Familial Hypercholesterolemia: a case-control study.** *Lipids in Health and Disease* 2011 **10**:50.

**Submit your next manuscript to BioMed Central  
and take full advantage of:**

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at  
[www.biomedcentral.com/submit](http://www.biomedcentral.com/submit)









