

UNIVERSIDAD DE SAKAMANGA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA



La apoptosis en el Infarto Agudo de Miocardio.

*Asociación de los polimorfismos Arg72Pro del gen P53 y T309G
del gen MDM2 con el tamaño del infarto, la función ventricular
izquierda post-infarto y el desarrollo de insuficiencia cardiaca*

TESIS DOCTORAL

Juan Carlos Rama Merchán

2014

***La apoptosis en el Infarto Agudo de Miocardio.
Asociación de los polimorfismos Arg72Pro del gen P53 y T309G
del gen MDM2 con el tamaño del infarto, la función ventricular
izquierda post-infarto y el desarrollo de insuficiencia cardiaca***

TESIS DOCTORAL

Juan Carlos Rama Merchán

2014

DIRECTORES:

Prof. Dr. D. IGNACIO CRUZ GONZÁLEZ.

Profesor asociado de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca.

Facultativo especialista en Cardiología. Hospital Clínico Universitario de Salamanca.

Prof. Dr. D. ROGELIO GONZÁLEZ SARMIENTO.

Catedrático y Director del Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca.

Hospital Clínico Universitario de Salamanca.

Universidad de Salamanca.

Prof. Dr. D. IGNACIO CRUZ GONZÁLEZ.

Profesor asociado de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca.

Facultativo especialista en Cardiología. Hospital Clínico Universitario de Salamanca.

Prof. Dr. D. ROGELIO GONZÁLEZ SARMIENTO.

Catedrático y Director del Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca.

Hospital Clínico Universitario de Salamanca.

Universidad de Salamanca.

CERTIFICAN:

Que el trabajo realizado bajo nuestra dirección por D. Juan Carlos Rama Merchán, titulado: **“La apoptosis en el Infarto Agudo de Miocardio. Asociación de los polimorfismos *Arg72Pro* del gen *P53* y *T309G* del gen *MDM2* con el tamaño del infarto, la función ventricular izquierda post-infarto y el desarrollo de insuficiencia cardiaca”** reúne las condiciones de originalidad requeridas para la obtención del título de Doctor en Medicina.

Y para que así conste a todos los efectos oportunos, firmamos la siguiente certificación en Salamanca, Mayo de 2014.

Fdo: Dr. D. Ignacio Cruz González

Fdo: Dr. D. Rogelio González Sarmiento

AGRADECIMIENTOS

Quiero mostrar mi más sincera gratitud a todas las personas que han hecho posible la consecución de este trabajo.

En primer lugar, quiero agradecer a los directores de este trabajo, los doctores Ignacio Cruz González y Rogelio González Sarmiento, grandes profesionales y buenas personas, por su inestimable ayuda en la creación y desarrollo de este proyecto.

Quiero dar las gracias también, a mis compañeros del Servicio de Cardiología del Hospital Universitario de Salamanca y al personal del laboratorio de medicina molecular y genética de la Facultad de Medicina, especialmente a D^a. Irene Rodríguez, por su destacada colaboración.

Al Profesor D. Cándido Martín Luengo, por su interés y apoyo en la elaboración de este proyecto.

Por último, quisiera agradecer a mi familia y a Ana, la comprensión, paciencia y cariño que me han prestado todo este tiempo.

Sin todos ellos, este trabajo no habría sido posible.

A mis padres

A mi hermana

A Ana

ABREVIATURAS

AI: Angina inestable

AP: Angioplastia primaria

ARA-II: Antagonistas de los receptores de la angiotensina II

CI: Cardiopatía isquémica

CK: Creatin-Kinasa

CK-MB: Creatin-Kinasa MB

DM: Diabetes Mellitus

ECG: Electrocardiograma

EAC: Enfermedad arterial coronaria

ECV: Enfermedad cardiovascular

FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo

HTA: Hipertensión arterial

IAM: Infarto agudo de miocardio

IECA: Inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina

IC: Insuficiencia cardiaca

ICP: Intervencionismo coronario percutáneo

IAMCEST: Infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST

IAMSEST: Infarto agudo de miocardio sin elevación del segmento ST

IM: Infarto de miocardio

SCA: Síndrome coronario agudo

SCACEST: Síndrome coronario agudo con elevación del segmento ST

SCASEST: Síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST

TIMI: Thrombolysis In Myocardial Infarction trial

TnI: Troponina I

ÍNDICE TEMÁTICO

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR ATEROSCLERÓTICA.....	23-25
1.1.1. Aterosclerosis coronaria.....	25-26
1.1.2. Disfunción endotelial.....	26-27
1.1.3. Lesión aterosclerótica vulnerable: “placa de alto riesgo o vulnerable”	28-29
1.1.4. Factores de riesgo de aterosclerosis	29-31
1.2. SÍNDROME CORONARIO AGUDO	31
1.2.1. Introducción.....	31
1.2.2. Concepto y fisiopatología.....	31-33
1.2.3. Manifestaciones y formas clínicas.....	33
1.2.3.1. Síndrome coronario agudo sin elevación del ST	34
1.2.3.2. Síndrome coronario agudo con elevación del ST	34-35
1.2.4. Infarto agudo de miocardio con elevación del ST	35
1.2.4.1. Definición e historia natural.....	35-37
1.2.4.2. Marcadores séricos de necrosis miocárdica: valor diagnóstico	37-38
1.2.4.2.1. Complejo troponina.....	38-39
1.2.4.2.2. Creatinquinasa	39
1.2.4.2.3. Creatinquinasa MB	39-40
1.2.4.2.4. Estimación del tamaño del infarto de miocardio mediante el análisis de los marcadores biológicos de necrosis miocárdica	41-43
1.2.4.3. Reperusión coronaria	43
1.2.4.3.1. Intervencionismo coronario percutáneo vs fibrinólisis	43-44
1.2.4.4. Estratificación pronóstica tras un infarto de miocárdico.....	44-45
1.2.4.4.1. Impacto pronóstico del tamaño del infarto de miocardio	45-46

1.2.4.4.2.	Estimación y valor pronóstico de la función ventricular izquierda post- infarto.....	46-47
1.2.4.4.3.	Insuficiencia cardiaca post-infarto: prevalencia, características clínicas e importancia pronóstica	47-48
1.3.	LA APOPTOSIS EN EL INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO	48
1.3.1.	Apoptosis: definición y conceptos claves	48-50
1.3.2.	Mecanismos moleculares implicados en la apoptosis: vías de activación	50-51
1.3.2.1.	Vía extrínseca o de los receptores de muerte	52
1.3.2.2.	Vía intrínseca	52-53
1.3.3.	Importancia de la apoptosis en la fisiopatología del infarto de miocardio	53-54
1.4.	GEN SUPRESOR DE TUMORES <i>P53</i>	54
1.4.1.	Introducción: <i>P53</i> , “el guardián del genoma”.....	54-56
1.4.2.	Implicación del gen <i>P53</i> en la apoptosis celular.....	56-57
1.4.3.	Polimorfismos genéticos: conceptos y aplicaciones clínicas.....	58-59
1.4.3.1.	Polimorfismo <i>Arg72Pro</i> del gen <i>P53</i>	59-60
1.4.3.2.	Polimorfismo <i>Arg72Pro</i> del gen <i>P53</i> y apoptosis miocárdica: estudios experimentales con cardiomiocitos.....	60-61
1.5.	GEN APOPTÓTICO <i>MDM2</i>	62
1.5.1.	Introducción.....	62
1.5.2.	Implicación del gen <i>MDM2</i> en la apoptosis celular: interacción <i>MDM2-P53</i>	62-63
1.5.3.	Polimorfismo <i>T309G</i> del gen <i>MDM2</i>	64
2.	HIPOTESIS Y OBJETIVOS	
2.1.	Hipótesis.....	67-68
2.2.	Objetivos	68
2.2.1.	Objetivo general	68

2.2.2.	Objetivos específicos	68
3.	MATERIAL Y MÉTODOS	
3.1.	Diseño y población del estudio.....	71
3.2.	VARIABLES ANALIZADAS	72-73
3.3.	Extracción del DNA	73
3.4.	Genotipado del polimorfismo <i>Arg72Pro</i> del gen <i>P53</i>	74-75
3.5.	Genotipado del polimorfismo <i>T309G</i> del gen <i>MDM2</i>	75-76
3.6.	Análisis estadístico	77
3.7.	Aspectos éticos	77
4.	RESULTADOS	
4.1.	Características basales de la población	81
4.2.	Análisis del polimorfismo <i>Arg72Pro</i> del gen <i>P53</i>	81-84
4.2.1.	Polimorfismo <i>Arg72Pro</i> del gen <i>P53</i> y tamaño del infarto de miocardio	84-87
4.2.2.	Polimorfismo <i>Arg72Pro</i> del gen <i>P53</i> y función ventricular izquierda post-infarto	88-89
4.2.3.	Análisis del tamaño del infarto y la función ventricular izquierda post-infarto en el subgrupo de pacientes con reperfusión coronaria precoz.....	90
4.2.4.	Polimorfismo <i>Arg72Pro</i> del gen <i>P53</i> y desarrollo de insuficiencia cardiaca post-infarto	91-95
4.3.	Análisis del polimorfismo <i>T309G</i> del gen <i>MDM2</i>	96-99
4.4.	Polimorfismo <i>T309G</i> del gen <i>MDM2</i> , tamaño del infarto y función ventricular izquierda post-infarto	99
4.5.	Polimorfismo <i>T309G</i> del gen <i>MDM2</i> y desarrollo de insuficiencia cardiaca post-infarto	100
4.6.	Efecto combinado de los polimorfismos <i>Arg72Pro</i> del gen <i>P53</i> y <i>T309G</i> del gen <i>MDM2</i> en el tamaño del infarto, la función ventricular izquierda post-infarto y el desarrollo de insuficiencia cardiaca.....	101-102

5. DISCUSIÓN

5.1.	Predictores independientes del tamaño del infarto, la función ventricular izquierda post-infarto y el desarrollo de insuficiencia cardiaca	107
5.1.1.	Tamaño del infarto agudo de miocardio	107
5.1.2.	Infarto de miocardio de localización anterior	108
5.1.3.	Fracción de eyección del ventrículo izquierdo.....	109
5.1.4.	Hipertensión arterial	110
5.2.	La apoptosis en el infarto agudo de miocardio	111
5.3.	Asociación del polimorfismo <i>Arg72Pro</i> del gen <i>P53</i> con el tamaño del infarto agudo de miocardio.....	112-113
5.4.	Asociación del polimorfismo <i>Arg72Pro</i> del gen <i>P53</i> con la función ventricular izquierda post-infarto	114-115
5.5.	Asociación del polimorfismo <i>Arg72Pro</i> del gen <i>P53</i> con el desarrollo de insuficiencia cardiaca post-infarto.....	116-118
5.6.	Asociación del polimorfismo <i>T309G</i> del gen <i>MDM2</i> aislado y combinado con el polimorfismo <i>Arg72Pro</i> del gen <i>P53</i> con el tamaño del infarto, la función ventricular izquierda post-infarto y el desarrollo de insuficiencia cardiaca.	119-121
6.	LIMITACIONES	123-126
7.	CONCLUSIONES.....	127-130
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	131-156

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Mortalidad proporcional en España por todas las causas. Instituto Nacional de Estadísticas, 2011

Figura 2: Histología de una arteria coronaria.

Figura 3: Arquitectura del endotelio vascular coronario.

Figura 4: Formación y evolución de la placa de ateroma.

Figura 5: OCT (Optical Coherence Tomography) a nivel de la arteria descendente anterior media.

Figura 6: Trombosis coronaria oclusiva debida a rotura de una placa vulnerable o de alto riesgo.

Figura 7: Clasificación de los síndromes Coronario Agudos.

Figura 8: El ECG muestra una elevación del segmento ST anterolateral.

Figura 9: Complejo troponina.

Figura 10: Cinética de los marcadores de daño miocárdico en el IAM.

Figura 11: Asociación de los niveles de TnT a las 72 horas y pico de CK y el SPECT miocárdico en la estimación del tamaño del infarto.

Figura 12: Mortalidad según tamaño del IAM.

Figura 13: Se representa de forma esquemática las principales fases del proceso apoptótico.

Figura 14: Vías de activación de la apoptosis.

Figura 15: Estructura y dominios funcionales de la proteína *P53*.

Figura 16: Ciclo celular y apoptosis.

Figura 17: Activación y regulación de la proteína *P53*.

Figura 18: Estudios experimentales con cardiomiocitos.

Figura 19: Gen *MDM2*.

Figura 20: Interacción *MDM2-P53*.

- Figura 21: Polimorfismo *SNP309 T >G del gen MDM2*.
- Figura 22: Electroforesis en gel de agarosa al 3 % de los fragmentos amplificados por PCR del codón 72 de *P53* y digeridos con la enzima *BstUI*.
- Figura 23: Electroforesis en gel de agarosa al 3 % de los fragmentos amplificados por PCR del *SNP-309* del gen *MDM2* y digeridos con la enzima *MspA1I*.
- Figura 24: Niveles pico de CK (U/L) según los genotipos del polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53*.
- Figura 25: Niveles pico de CK-MB (ng/ml) según los genotipos del polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53*.
- Figura 26: Niveles pico de Troponina I (ng/ml) según los genotipos del polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53*.
- Figura 27: FEVI (%) post-infarto según los genotipos del polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53*.
- Figura 28: Subgrupo de pacientes con IAMCEST sometidos a reperusión coronaria (fibrinólisis o AP) según los genotipos del polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53*.
- Figura 29: Supervivencia libre de ingresos por IC según los genotipos del polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53*.
- Figura 30: FEVI post-infarto (%) según los genotipos del polimorfismo *T309G* del gen *MDM2*.
- Figura 31: Niveles pico de CK-MB (ng/ml) según los genotipos de los polimorfismos *Arg72Pro del gen P53* y *T309G del gen MDM2*.
- Figura 32: Supervivencia libre de ingresos hospitalarios por IC según los genotipos del polimorfismo *T309G* del gen *MDM2*.
- Figura 33: Supervivencia libre de ingresos hospitalarios por IC según los genotipos de los polimorfismos *Arg72Pro del gen P53* y *T309G del gen MDM2*.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación de los factores de riesgo cardiovascular.

Tabla 2: Características de los marcadores de daño miocárdico.

Tabla 3: Diferencias morfológicas y funcionales entre necrosis y apoptosis.

Tabla 4: Frecuencias genotípicas del polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53*.

Tabla 5: Características clínicas y demográficas de la población del estudio.

Tabla 6: Datos analíticos, del IAM, ecocardiográficos y del procedimiento de revascularización coronaria.

Tabla 7: Tratamiento farmacológico al alta hospitalaria.

Tabla 8: Características clínicas, del IAM, ecocardiográficas y genotípicas de la población del estudio según el tamaño del IM.

Tabla 9: Análisis multivariante de los factores predictivos del tamaño del IM.

Tabla 10: Características clínicas, del IAM, ecocardiográficas y genotípicas de la población del estudio según la FEVI post-infarto.

Tabla 11: Análisis multivariante de los factores predictivos de la FEVI post-infarto.

Tabla 12: Frecuencia de IC intrahospitalaria.

Tabla 13: Características clínicas, del IAM, ecocardiográficas y genotípicas de la población del estudio según la presencia o no de IC-IH.

Tabla 14: Análisis multivariante de los factores predictivos del desarrollo de IC-IH.

Tabla 15: Características clínicas y demográficas de la población del estudio según la presencia o no de IC tardía.

Tabla 16: Análisis multivariante de los factores predictivos del desarrollo de IC tardía.

Tabla 17: Frecuencias genotípicas del polimorfismo *T309G* del gen *MDM2*.

Tabla 18: Características clínicas y demográficas de la población del estudio según el polimorfismo *T309G* del gen *MDM2*.

Tabla 19: Datos analíticos, del IAM, ecocardiográficos y del procedimiento de revascularización coronaria.

Tabla 20: Tratamiento farmacológico al alta hospitalaria.

Tabla 21: Frecuencia de IC intrahospitalaria (polimorfismo *T309G* del gen *MDM2*)

Tabla 22: Datos clínicos, del IAM y ecocardiográficos

iNTRoDVCCiÓN

1.1 LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR ATEROSCLERÓTICA

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) arterioscleróticas son la principal causa de muerte y discapacidad en todo el mundo ¹ (Figura 1). De entre las diferentes manifestaciones de la ECV, la cardiopatía isquémica (CI) destaca por su alta prevalencia y morbi-mortalidad asociada, y en concreto su manifestación fundamental, el infarto agudo de miocardio (IAM). Sólo la CI produce más de 7 millones de muertes anuales (un 12,8 % de todas las muertes en el mundo) ².

En España, se producen cada año más de 140.000 muertes y más de 5 millones de estancias hospitalarias por CI, con unos costes de asistencia sanitaria que suponen el 15 % de los gastos totales. Todo ello ha convertido a esta enfermedad en una prioridad de política sanitaria al más alto nivel ³.

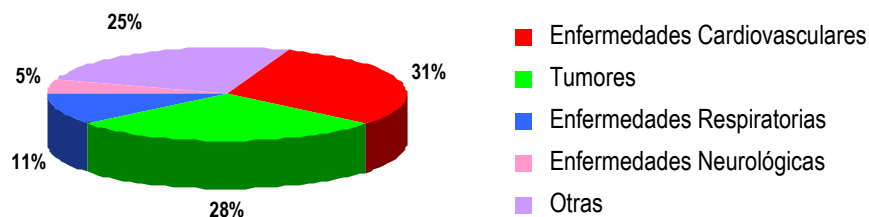


Figura 1. Mortalidad proporcional en España por todas las causas. Instituto Nacional de estadística, 2011

La mayoría de las ECV pueden prevenirse actuando sobre factores de riesgo como el consumo de tabaco, la hipertensión arterial, la diabetes, la hipercolesterolemia, la obesidad y la inactividad física.

La arteriosclerosis, es un concepto genérico que hace referencia al engrosamiento y endurecimiento de las arterias independientemente de su tamaño. Cuando la arteriosclerosis afecta a arterias de mediano y gran calibre, se denomina aterosclerosis ⁴.

El término aterosclerosis, deriva de la unión de dos términos: *ateroma* (depósito focal de material graso) y *esclerosis* (depósito focal de material fibroso) ⁴. Se trata de un proceso inflamatorio crónico que afecta a las arterias de diferentes lechos vasculares y que se caracteriza por el engrosamiento y pérdida de la elasticidad de la capa íntima y media. Su lesión básica es la placa de ateroma, que se compone fundamentalmente de lípidos, tejido fibroso y células inflamatorias ⁵ (Figura 2).

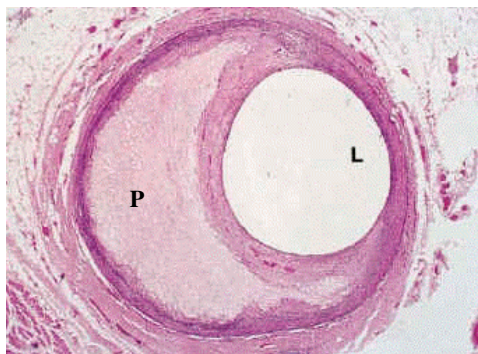


Figura 2. Histología de una arteria coronaria. Se observa una placa de ateroma (P) excéntrica lipídica. El depósito lipídico está separado de la luz vascular (L) por el casquete de la placa formado por tejido conjuntivo y células musculares lisas

Aunque la aterosclerosis es un proceso que afecta simultáneamente a arterias de diferentes regiones, tiende a localizarse mayoritariamente en las arterias que irrigan el corazón (coronarias), el cerebro (carótidas, vertebrales y cerebrales) y las extremidades inferiores (iliacas y femorales). Es conocido que la presencia de afectación vascular en una localización concreta se asocia con mayor riesgo de desarrollarla en otros lechos vasculares ⁶.

De esta forma, las manifestaciones clínicas debidas a la aterosclerosis van a estar en relación con el lecho vascular afectado. En las arterias coronarias se manifiesta por la aparición de angina de esfuerzo o síndrome coronario agudo (SCA); en el cerebro cursa clínicamente como accidente cerebrovascular agudo (ACV), accidente isquémico transitorio (AIT) o incluso como demencia multiinfarto, y en las arterias periféricas la expresión clínica es la claudicación intermitente o la isquemia aguda de una extremidad.

Además, la forma de presentación de la aterosclerosis puede ser crónica, por estenosis progresiva de la luz arterial (como en la angina estable o la claudicación intermitente), o aguda, por la rotura súbita de una placa y la formación de un trombo oclusivo (como ocurre en los SCA o en los ictus isquémicos) ⁷.

1.1.1 Aterosclerosis coronaria

La aterosclerosis coronaria es la forma más común de ECV. Sus manifestaciones clínicas (IAM, angina de pecho y muerte súbita) constituyen la primera causa de mortalidad en la población adulta en países desarrollados ⁸. Como se ha descrito anteriormente, la aterosclerosis es una enfermedad sistémica y progresiva que afecta específicamente a la capa más interna de la pared de las arterias denominada endotelio (Figura 3).

El endotelio ejerce un papel central como sensor y transmisor de señales, y modula el tránsito de macromoléculas entre la sangre y la pared vascular. Dicho proceso se realiza mediante un complejo sistema microvesicular compuesto por caveolas y un glucocálix (en su superficie apical) rico en glucosaminoglicanos sulfatados, que permiten la absorción selectiva de diversas macromoléculas ⁹.

Además, las células endoteliales protegen la pared arterial frente al desarrollo de lesiones y contribuyen a la homeostasis vascular mediante el control continuo de los estímulos que reciben y la adaptación de su estado funcional. Estas células son capaces de detectar los cambios tanto físicos (estrés mecánico) como químicos (moléculas circulantes) y transformarlos en respuestas funcionales adaptativas. También, el endotelio tiene funciones antitrombóticas y anticoagulantes, y controla la actividad de las células musculares lisas de la capa media (tono vascular y proliferación) ¹⁰.

Desde un punto de vista conceptual, se acepta que el inicio de la aterosclerosis coronaria se debe a un complejo mecanismo de respuesta a una agresión vascular y en su progresión estaría involucrado un daño endotelial crónico ^{11, 12}. Se ha propuesto que el daño vascular podría tener diferentes grados que englobarían desde la alteración funcional de un endotelio morfológicamente normal (tipo I), hasta la “denudación” endotelial con daño intimal que favorecería la adhesión plaquetaria, pero con una lámina elástica interna preservada (tipo II) y, por último, una “denudación” endotelial con daño vascular más profundo (tipo III) que terminaría por desencadenar las complicaciones trombóticas ¹³.

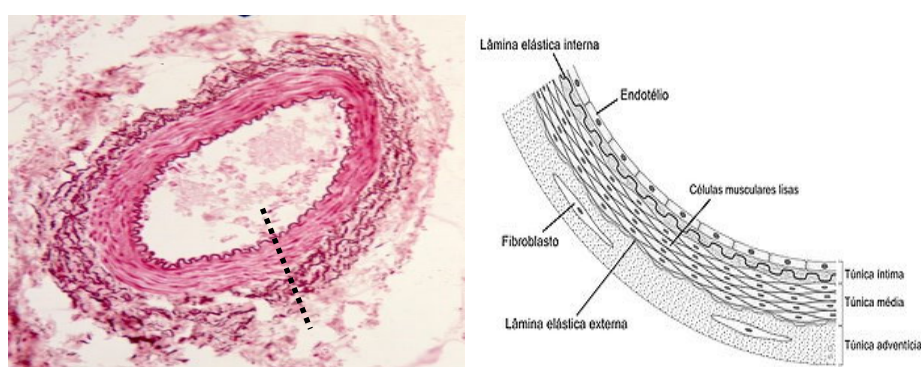


Figura 3. Arquitectura del endotelio vascular coronario

La pérdida progresiva de la capacidad del endotelio para controlar el tráfico de macromoléculas hacia el interior de la pared permite un mayor depósito de moléculas circulantes (como las lipoproteínas de baja densidad), iniciando el proceso de disfunción endotelial ¹⁴.

1.1.2 Disfunción endotelial

La disfunción endotelial se considera en la actualidad una de las primeras manifestaciones de la enfermedad vascular y la arteriosclerosis. Dicho proceso conduce progresivamente a un desequilibrio en la biodisponibilidad de sustancias activas de origen endotelial, lo que predispone a la inflamación, la vasoconstricción y el incremento de la permeabilidad vascular. Todo ello puede facilitar el desarrollo de arteriosclerosis, agregación plaquetaria y trombosis ¹⁵ (Figura 4).

Cuando las células endoteliales son dañadas por diversos estímulos o mediadores inflamatorios, muestran en su superficie moléculas de adhesión de la familia de las selectinas, como la E y la P, y moléculas de adhesión vascular e intercelular, como las VCAM y las ICAM, que son inmediatamente reconocidas por sus respectivos ligandos en las células inflamatorias circulantes ¹⁶. Simultáneamente, las células endoteliales alteradas sintetizan y secretan otras moléculas que atraen más células inflamatorias hacia el lugar de la lesión. Entre las principales moléculas secretadas se encuentran las citocinas, los factores de crecimiento derivados de las plaquetas (PDGF), factores quimiotácticos, como la proteína 1 quimiotáctica para monocitos (MCP-1) y el fibroblasto básico (bFGF) ¹⁶. Estos fenómenos son comunes en el inicio de cualquier reacción inflamatoria y explican, en el caso de la enfermedad aterosclerótica, el elevado reclutamiento de monocitos en la pared íntima vascular que se observa en las fases iniciales de la formación de las placas ateroscleróticas ¹⁶.

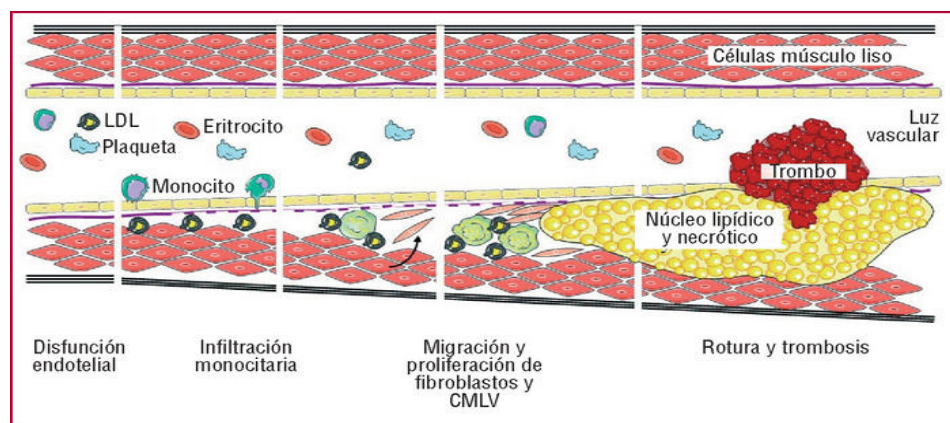


Figura 4. Formación y evolución de la placa de ateroma. El colesterol se deposita dentro de la placa de ateroma desencadenando un proceso inflamatorio y la formación de una cápsula de tejido fibroso entre la placa de ateroma y la arteria. Conforme avanza la placa de ateroma, se va produciendo un estrechamiento progresivo de la luz de la arteria. Además, la placa de ateroma puede romperse bruscamente, formándose un trombo que ocluye rápidamente la luz vascular ¹⁷

Es conocido que los factores de riesgo tradicionales, como la hipercolesterolemia, la hipertensión arterial, la diabetes y el tabaco, actúan como verdaderos estímulos proinflamatorios capaces de alterar el normal funcionamiento del endotelio, favoreciendo la aparición de lesiones ateroscleróticas ¹⁸.

1.1.3 Lesión aterosclerótica vulnerable: “placa de alto riesgo o vulnerable”

Las placas de alto riesgo o vulnerables se caracterizan por tener un núcleo lipídico grande, separado de la luz vascular por una delgada cápsula fibrosa y con un importante componente inflamatorio en su interior ¹⁹. También se conocen como placas de alto riesgo, aquellas que sin tener un componente lipídico significativo, presentan una actividad inflamatoria relevante que las hace propensas a erosionarse en su superficie y dar lugar a un evento coronario agudo ¹⁹.

Durante muchos años se pensó que la lesión responsable de los SCA era una placa coronaria intensamente estenótica, sin embargo, distintos análisis histopatológicos han puesto de manifiesto que la mayoría de los IAM tienen su origen en lesiones ateroscleróticas que antes de los episodios agudos sólo causaban estenosis leves o moderadas ^{7, 19}.

Aunque las placas de ateroma responsables de los eventos isquémicos agudos suelen tener una arquitectura y una composición celular heterogéneas, existen ciertas características bien definidas que diferencian estas lesiones de las que nos encontramos en los pacientes con enfermedad coronaria estable ¹⁹: capa fibrosa fina, amplio núcleo lipídico y gran contenido en células inflamatorias (Figura 5).

Es importante destacar que no es sólo la composición de la placa de ateroma la que determina su propensión a la rotura; al incluir el concepto de “inflamación” como clave en el desarrollo de eventos coronarios agudos, el papel de diversos tipos celulares en el desarrollo de la enfermedad aterosclerótica pasa a un primer escalón. Por ello, en la actualidad se prefiere utilizar el término de “placa de alto riesgo” en lugar de “placa vulnerable” ²⁰.

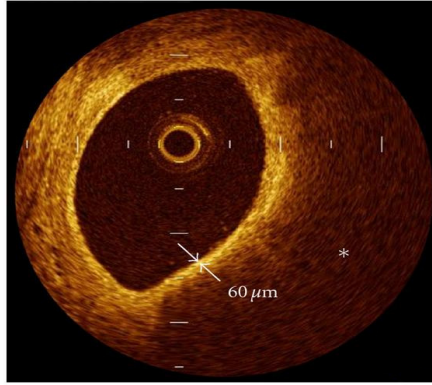


Figura 5. OCT (Optical Coherent Tomography) a nivel de arteria descendente anterior media. Se observa una placa de ateroma excéntrica, con gran contenido lipídico (estrella) y con una fina capa fibrosa (flechas blancas). Se trata de una placa vulnerable o de alto riesgo

1.1.4 Factores de riesgo de aterosclerosis

La mayoría de la información que conocemos acerca de los factores de riesgo ateroscleróticos procede de estudios epidemiológicos, liderados por el *Framingham heart Study* estadounidense²¹. Este proyecto, que comenzó en el año 1948, fue el primer estudio que identificó los “factores de riesgo” en el desarrollo de la CI.

En el momento actual, no sólo está aumentando la prevalencia de factores de riesgo individuales, sino también de aquellos que se presentan de forma simultánea²². La prevalencia del síndrome metabólico, un conjunto de factores de riesgo relacionados con la obesidad abdominal, HTA, dislipidemia y resistencia a la insulina, ha aumentado en un 34 % en los últimos años²².

Podemos dividir a los factores de riesgo ateroscleróticos en 3 grupos: causales, condicionales y predisponentes¹¹ (Tabla 1). Los factores de riesgo *causales*, son los que promueven el desarrollo de la arteriosclerosis y predisponen a la enfermedad coronaria. Estos factores actúan con independencia unos de otros y sus efectos son sumatorios. Los factores de riesgo *condicionales* son los que se asocian con un

aumento del riesgo de CI, pero su relación causal con ésta no está totalmente aclarada, y por último, los factores de riesgo *predisponentes* son los que empeoran los factores de riesgo causales ¹¹.

Parece claro que cuando los factores de riesgo se presentan juntos, aumentan la probabilidad de sufrir un evento cardiovascular mucho más que cuando actúan de manera aislada, ya que interactúan entre ellos. Además, la reducción moderada de varios factores de riesgo reduce el riesgo cardiovascular más que el control óptimo de uno solo de ellos ²².

Tabla 1. Clasificación de los factores de riesgo cardiovascular

<p><u>Factores de riesgo causales</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Hipertensión arterial • Diabetes Mellitus • cLDL elevado • cHDL bajo • Tabaco • Edad avanzada
<p><u>Factores de riesgo condicionales</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Hipertrigliceridemia • Particular de LDL pequeñas y densas • Homocisteína sérica elevada • Lipoproteína (a) sérica elevada • Fibrinógeno, PAI-I • Proteína C reactiva
<p><u>Factores de riesgo predisponentes</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Obesidad (IMC > 30) • Inactividad física • Insulinorresistencia • Obesidad abdominal • Historia familiar de CI prematura • Características étnicas • Factores psicosociales • Factores económicos

cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; PAI-I: inhibidor del activador del plasminógeno I; CI: Cardiopatía isquémica; IMC: Índice de masa corporal.

Por tanto, el conocimiento y detección de estos factores de riesgo resulta primordial en la valoración del riesgo cardiovascular, pieza fundamental para las estrategias de intervención en el campo de las ECV.

1.2 SÍNDROME CORONARIO AGUDO

1.2.1 Introducción

El SCA es la manifestación clínica más frecuente y nociva de la enfermedad coronaria, que sigue siendo la principal causa de muerte y morbilidad en la Unión europea, registrándose más de 741.000 fallecimientos anuales por esta causa ²³. Además, los costes sanitarios (directos e indirectos) derivados de esta patología son muy elevados.

1.2.2 Concepto y fisiopatología

El término SCA fue introducido por el Dr. Fuster, en 1985, para diferenciar los eventos fisiopatológicos específicos que distinguen la enfermedad coronaria estable, de la AI y el IAM ²⁴. El SCA es un término operacional, especialmente útil en la evaluación de los pacientes con dolor torácico y con el que se designa a cualquier conjunto de síntomas clínicos compatibles con isquemia miocárdica aguda ²⁴.

Este síndrome engloba a diferentes manifestaciones clínicas de la CI, como son la AI, el IAM y la muerte súbita de causa cardíaca. Puesto que la muerte súbita tiene una presentación clínica y un enfoque terapéutico muy distinto, en la práctica sólo se consideran la AI y el IAM como SCA.

El método fundamental para distinguir AI de IAM es la detección de necrosis miocárdica a través de la elevación sérica de diferentes marcadores biológicos, mientras que la aparición o no de ondas Q en el ECG, es lo que determina que los IAM se denominen como IAM Q e IAM no Q.

Por todo ello, el espectro del SCA queda definido mediante tres pilares: la clínica, el ECG y los marcadores de necrosis miocárdica ²⁵.

Está establecido que, en sus diferentes presentaciones clínicas, los SCA comparten un sustrato fisiopatológico común. Estudios anatomopatológicos, angioscópicos y biológicos han puesto de manifiesto que la rotura de la placa aterosclerótica y la posterior trombosis coronaria, forman parte del mecanismo fisiopatológico subyacente en la mayoría de los SCA (Figura 6). En este sentido, las lesiones ateroscleróticas vulnerables o de alto riesgo son las que tienen un mayor riesgo de inducir trombosis coronaria ²⁶.

Tras la ruptura de la placa, se exponen a la circulación componentes del núcleo lipídico altamente trombogénicos que, conjuntamente con la exposición del factor tisular, condicionan la formación local de trombina, la activación de plaquetas y la formación de fibrina. De la mayor o menor labilidad del trombo y de la capacidad de la fibrinólisis local pueden resultar tres evoluciones: la organización del trombo con crecimiento progresivo de la placa, la oclusión intermitente con fenómenos isquémicos transitorios, y la oclusión completa con necrosis de la zona afectada ²⁷.



Figura 6. Trombosis coronaria oclusiva debida a la rotura de una placa vulnerable o de alto riesgo

1.2.3 Manifestaciones y formas clínicas

A pesar de los numerosos avances en el diagnóstico de laboratorio del IAM, la anamnesis sigue siendo el punto clave. El síntoma central de los SCA es el dolor torácico, que se describe generalmente como constricción, opresión, aplastamiento o compresión, y suele tener una localización retroesternal, irradiándose con frecuencia a ambos lados de la región anterior del tórax y brazos (con predilección por el lado izquierdo).

Normalmente, el dolor torácico es prolongado (dura más de 20-30 minutos) y se suele acompañar de otros síntomas como diaforesis o náuseas. No obstante, no son infrecuentes las presentaciones atípicas, como dolor epigástrico o disnea. Los síntomas atípicos se observan con mayor frecuencia en los pacientes jóvenes (25-40 años), en los mayores de 75 años, en las mujeres y en los pacientes con diabetes mellitus (DM) o con insuficiencia renal crónica (IRC) ²⁸.

En base al patrón de presentación electrocardiográfico, los SCA se clasifican en dos tipos: síndromes coronarios agudos sin elevación del segmento ST (SCASEST) y síndromes coronarios agudos con elevación del segmento ST (SCACEST).

1.2.3.1 Síndrome coronario agudo sin elevación del ST

Comprende aquellos casos con clínica de angina que no presentan elevación persistente del segmento ST en el ECG. Las alteraciones electrocardiográficas más frecuentemente observadas son la depresión persistente o transitoria del segmento ST, la inversión de las ondas T y las ondas T planas o seudonormalización de las ondas T ²⁰.

La estrategia inicial en estos pacientes es aliviar los síntomas y la isquemia, y realizar una seriación de los marcadores de daño miocárdico (fundamentalmente la troponina). El diagnóstico de SCASEST se concretará según el resultado de la determinación de las troponinas en IAMSEST o AI ²⁰ (Figura 7).

1.2.3.2 Síndrome coronario agudo con elevación del ST

Comprende los pacientes con clínica de angina y elevación persistente (> 20 min.) del segmento ST. Generalmente, existe una oclusión coronaria aguda total y la mayoría de estos pacientes desarrollarán, en último término, un IAMCEST. Una minoría de pacientes que presenten inicialmente elevación del ST en el ECG evolucionarán hacia un IAM no Q o incluso hacia una AI ²⁹ (Figura 7).

El principal objetivo terapéutico en estos casos es conseguir una reperfusión rápida y completa mediante angioplastia primaria (AP) o tratamiento fibrinolítico ²⁷.

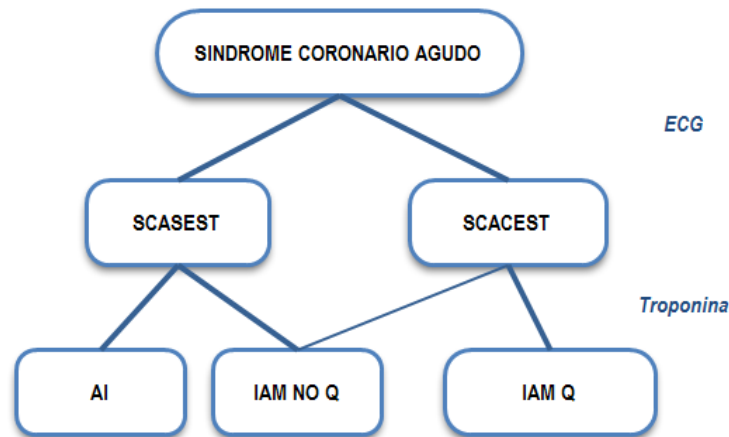


Figura 7. Clasificación de los Síndromes Coronarios Agudos. SCASEST (Síndrome coronario agudo sin elevación del ST), SCACEST (Síndrome coronario agudo con elevación del ST), AI (angina inestable), IAM (Infarto agudo de Miocardio).

1.2.4 INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO CON ELEVACIÓN DEL ST

1.2.4.1 Definición e historia natural

El término infarto de miocardio (IM) puede ser definido a partir de características clínicas, electrocardiográficas, bioquímicas, derivadas de técnicas de imagen y anatomopatológicas³⁰. Para poder establecer el diagnóstico de IAM, debe estar presente cualquiera de los siguientes criterios³¹:

- 1) Detección de ascenso y/o descenso de biomarcadores cardíacos (preferentemente troponina I o T) con al menos una determinación por encima del percentil 99 del límite superior de referencia establecido por el laboratorio (LSR), junto a evidencia de isquemia. Esta última se define como:
 - a. Cualquier síntoma compatible con la misma.
 - b. Cambios electrocardiográficos sugestivos de isquemia de nueva aparición (variaciones en el segmento ST-onda T y/o bloqueo de rama izquierda no conocido previamente).

- c. Desarrollo de ondas Q patológicas en el ECG.
 - d. Evidencia mediante técnicas de imagen de nueva pérdida de miocardio viable y/o alteraciones de la motilidad segmentaria no presentes en estudios previos.
- 2) Muerte súbita cardiaca asociada a síntomas clínicos de isquemia miocárdica y elevación del segmento ST de nueva aparición, bloqueo de rama izquierda no conocido previamente o evidencia de trombo fresco intracoronario (mediante coronariografía o autopsia).
- 3) Hallazgos anatomopatológicos compatibles con IAM.

En la gran mayoría de los IAMCEST, el suceso inicial es la ruptura de una placa aterosclerótica intracoronaria ²⁶. Tras la ruptura de esta placa, se liberan a la circulación sistémica los componentes del núcleo lipídico y se expone la matriz subendotelial subyacente a los diferentes componentes sanguíneos, lo que produce una intensa activación plaquetaria, la generación de trombina y la formación de un trombo intracoronario que da lugar a una interrupción del flujo sanguíneo ³². Si este trombo intracoronario es completamente oclusivo, se manifiesta en el ECG en forma de elevación del segmento ST (Figura 8).

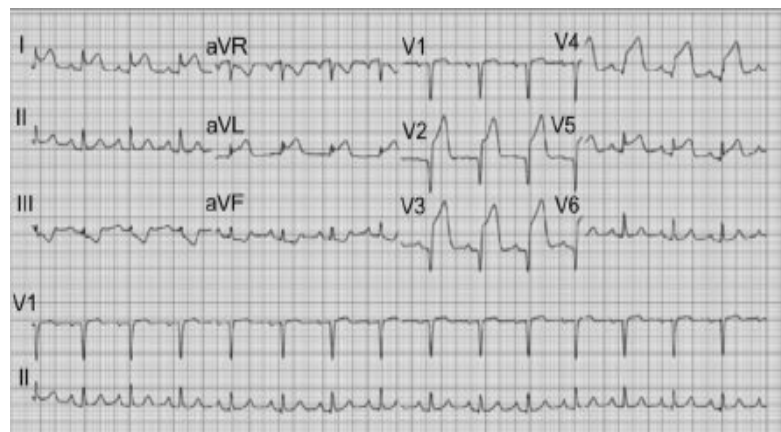


Figura 8. El ECG muestra una elevación del segmento ST antero-lateral

Una vez establecida la oclusión coronaria completa, la necrosis miocárdica comienza a desarrollarse a los 15-30 min. y progresa desde el subendocardio hacia el subepicardio de forma dependiente del tiempo ⁷.

La historia natural del IAMCEST es difícil de establecer por varios motivos, entre los que se encuentran la incidencia de IM silente, los episodios de muerte extrahospitalaria y las distintas definiciones utilizadas en los ensayos clínicos y registros publicados. Diversos estudios han puesto de manifiesto que la mortalidad en pacientes con un diagnóstico presumible de IAM durante el primer mes puede llegar hasta el 50 %, y alrededor de la mitad de estas muertes ocurren durante las primeras 2 horas ³³. Esta elevada mortalidad inicial no ha variado significativamente en los últimos años, a diferencia de lo que ha sucedido con la mortalidad hospitalaria, que ha experimentado un acusado descenso debido, principalmente, a los tratamientos antitrombóticos y de reperfusión coronaria ^{34, 35}.

1.2.4.2 Marcadores séricos de necrosis miocárdica: valor diagnóstico

Cuando los cardiomiocitos se necrosan o sufren un daño importante, pierden la integridad de la membrana y se produce el paso de macromoléculas al tejido intersticial. Estas moléculas, que reciben el nombre de marcadores biológicos de daño miocárdico, son posteriormente absorbidas por los capilares y el sistema linfático, alcanzando finalmente la circulación sistémica ³⁶⁻³⁸.

Hace una década, la medida de los marcadores biológicos de necrosis miocárdica se limitaba a la creatincinasa total (CK) y la creatincinasa MB (CK-MB). Posteriormente, el progresivo desarrollo de los inmunoanálisis permitió medir de forma más rápida la concentración de CK-MB y mioglobina, por lo que fueron aplicables al diagnóstico inmediato del SCA. Además, se empezaron a desarrollar los primeros dispositivos que permitían medir las isoformas cardiacas de las troponinas T e I.

En la actualidad, los marcadores de daño miocárdico han adquirido tal importancia en la práctica clínica, que la definición de IAM se basa en la detección en sangre de éstos, combinada con criterios clínicos o electrocardiográficos.

1.2.4.2.1 Complejo Troponina

El complejo de la troponina se halla situado en el filamento fino del complejo tropomiosina de las células contráctiles y está compuesto por tres subunidades; la Troponina I (TnI), la Troponina T (TnT) y la Troponina C (TnC). Su función principal es regular el proceso contráctil (actina-miosina) mediado por calcio ³⁹. Concretamente, la Troponina C (TnC) es responsable de la fijación del calcio, la Troponina T (TnT) liga el complejo troponina a la tropomiosina y la Troponina I (TnI), es la encargada de inhibir el complejo troponina-tropomiosina (Figura 9). Sólo la TnT y la TnI tienen interés en la práctica clínica, ya que tienen isoformas cardioespecíficas ⁴⁰.

Normalmente se observa un patrón de liberación en dos fases; un primer pico de liberación rápida, en relación con la fracción de troponina disuelta en el citoplasma de los cardiomiocitos, seguido de un segundo pico más sostenido (mayoritario) que corresponde a la unida estructuralmente al complejo tropomiosina. La primera característica las proporciona una determinada precocidad en la detección del daño miocárdico, mientras que la segunda es útil para que su detección pueda emplearse tanto a nivel diagnóstico como pronóstico ⁴¹⁻⁴³.

Además, las troponinas cardíacas han demostrado ser más sensibles que la CK y la CK-MB en la detección del “daño miocárdico leve” y tener una mayor especificidad para el diagnóstico del IAM; por todo ello, en la actualidad son los marcadores de elección para el diagnóstico del IAM ⁴⁴.

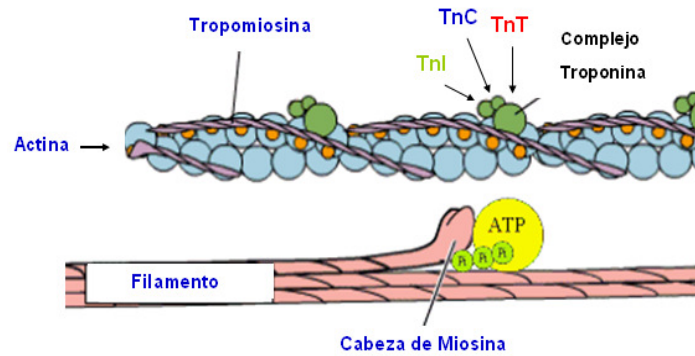


Figura 9: Complejo troponina. TnI (Troponina I), TnC (Troponina C), TnT (Troponina T)

1.2.4.2.2 Creatinquinasa

La CK es una enzima presente prácticamente en todos los tejidos, pero con predominio en la musculatura estriada. Cuando existe necrosis miocárdica, la actividad catalítica de la CK puede detectarse aumentada a partir de las 4-6 horas del inicio de la sintomatología, volviendo a la normalidad en 2 o 3 días (Tabla 2). El pico máximo de CK aparece generalmente en una media de 24 horas, sin embargo, puede adelantarse en los pacientes sometidos a reperfusión mecánica o farmacológica ⁴² (Figura 10).

A pesar de que la CK ha sido durante muchos años el marcador biológico más utilizado para el diagnóstico de la necrosis miocárdica, no es una molécula cardiospecífica y sus intervalos de referencia varían con la edad, raza, masa muscular y actividad física ⁴⁵. Además, la CK puede elevarse en una gran variedad de condiciones patológicas sin que exista daño miocárdico ⁴⁶.

1.2.4.2.3 Creatinquinasa MB

Las isoenzimas representan adaptaciones especializadas de las enzimas en diferentes células y tejidos. La isoenzima CK-MB (heterodímero de los monómeros M y B) a diferencia de otras isoenzimas de la CK, está presente en mayor cantidad en el miocardio y tiene una escasa proporción en el músculo

esquelético, por lo que es la más utilizada en la práctica clínica ⁴⁷. Se ha descrito que hasta el 20 % del total de CK en el miocardio enfermo es CK-MB ⁴⁷.

La concentración de CK-MB puede detectarse aumentada en el plasma a partir de las 4-6 horas del inicio de los síntomas, y permanece elevada hasta las 24-36 horas ^{47, 48} (Tabla 2). Hasta el desarrollo de las troponinas cardíacas, la CK-MB ha tenido un papel muy importante en el diagnóstico del IAM, y ha sido durante muchos años el “patrón oro” frente al cual se han comparado otros marcadores bioquímicos de necrosis miocárdica (Figura 10).

Tabla 2. Características de los marcadores de daño miocárdico

MARCADOR	Tiempo hasta detección	Pico máximo sin reperfusión	Retorno a rango normal
Mioglobina	1-4 horas	6-7 horas	24 horas
CK	4-6	24 horas	2-3 días
CK-MB	3-12 horas	18 horas	48-72 horas
Troponina I	4-12 horas	24 horas	5-10 días
Troponina T	3-12 horas	18 horas	48-72 horas

CK: Creatin-Kinasa; CK-MB: Creatin-Kinasa isoforma MB

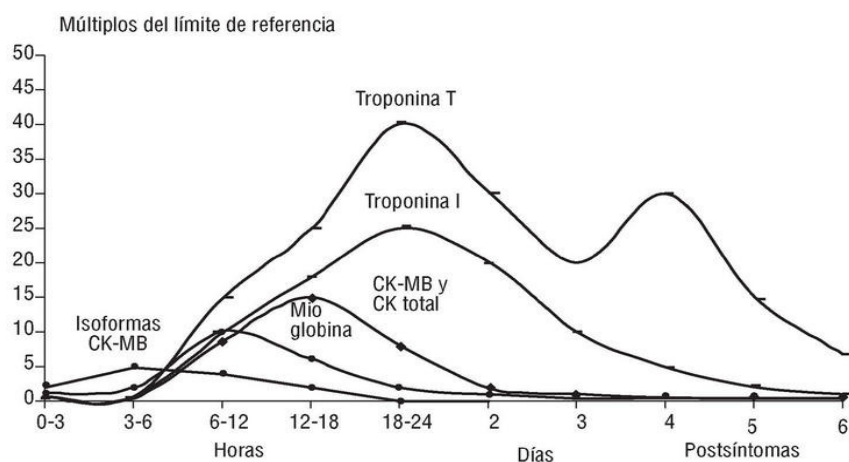


Figura 10. Cinética de los marcadores de daño miocárdico en el IAM

1.2.4.2.4 Estimación del tamaño del infarto de miocardio mediante el análisis de los marcadores biológicos de necrosis miocárdica.

La estimación del tamaño del IM mediante la cuantificación de los marcadores de necrosis miocárdica es una práctica clínica habitual y, además, un objetivo en numerosos ensayos clínicos. La determinación de estos marcadores biológicos es relativamente sencilla y económica.

A diferencia de la CK, cuya cinética de depuración se ve parcialmente alterada por los tratamientos de reperfusión, la determinación de la concentración de troponina, incluso tras una reperfusión satisfactoria, puede proporcionar un cálculo fiable del tamaño del IM ⁴⁹. Distintos estudios han conformado que la troponina es un marcador de daño miocárdico que se ve muy poco modificado por las terapias de reperfusión de la arteria responsable del IAM ⁵⁰⁻⁵².

Son numerosos los estudios que han intentado demostrar una correlación entre los marcadores de necrosis miocárdica y el tamaño del IAM, tanto en la etapa previa a la aparición de los tratamientos de reperfusión coronaria (ICP y trombolíticos) como en la era posterior ⁵³⁻⁵⁶.

Antes del empleo generalizado de los tratamientos de reperfusión en el IAMCEST, distintos trabajos de investigación realizados en animales ⁵⁷⁻⁶⁰ y en humanos ^{53, 54, 61}, demostraron una buena correlación entre los valores pico de los marcadores de daño cardíaco y la extensión de la necrosis en la necropsia. Además, estos estudios también pusieron de manifiesto que los marcadores de necrosis tenían una buena correlación con la presencia de eventos clínicos en el seguimiento, tales como arritmias ⁶², IC ^{63, 64} y mortalidad ^{65, 66}.

En la era de los tratamientos de reperfusión coronaria, también se han realizado numerosos estudios para demostrar la existencia o no de una correlación entre los marcadores de daño miocárdico y el tamaño del IM estimado por SPECT miocárdico y/o resonancia cardíaca. Así, en los estudios ESCALAT ⁵⁶ y PRIME ⁶⁷ se observó una muy buena correlación entre los niveles pico de CK y CK-MB y

el tamaño del IAM valorado por SPECT miocárdico. También se observó una correlación negativa con la FEVI (p 0,035) y la presencia de muerte o IC intrahospitalaria, p 0,007 y 0,021 respectivamente. El estudio TAMI-7⁵⁵ también mostró una firme asociación entre los niveles pico de CK-MB y el desarrollo de IC y el compuesto IC-mortalidad en pacientes con IAMCEST tratados con alteplasa. En otro estudio multicéntrico, Tzivoni et al.⁶⁸ demostraron una muy buena correlación entre los niveles y área bajo la curva de CK, CK-MB y Troponina, y entre los niveles pico aislados de CK, CK-MB y Troponina, y el tamaño del IAM estimado por SPECT miocárdico.

En pacientes con IAMCEST tratados con ICP, Licka M et al.⁶⁹ encontraron que los niveles pico de troponina y CK guardaban una buena correlación con el tamaño del IAM valorado por SPECT (Figura 11). Resultados similares han sido publicados por otros investigadores utilizando para la estimación del tamaño del IM el SPECT miocárdico⁷⁰⁻⁷⁴ y la resonancia magnética⁷⁵.

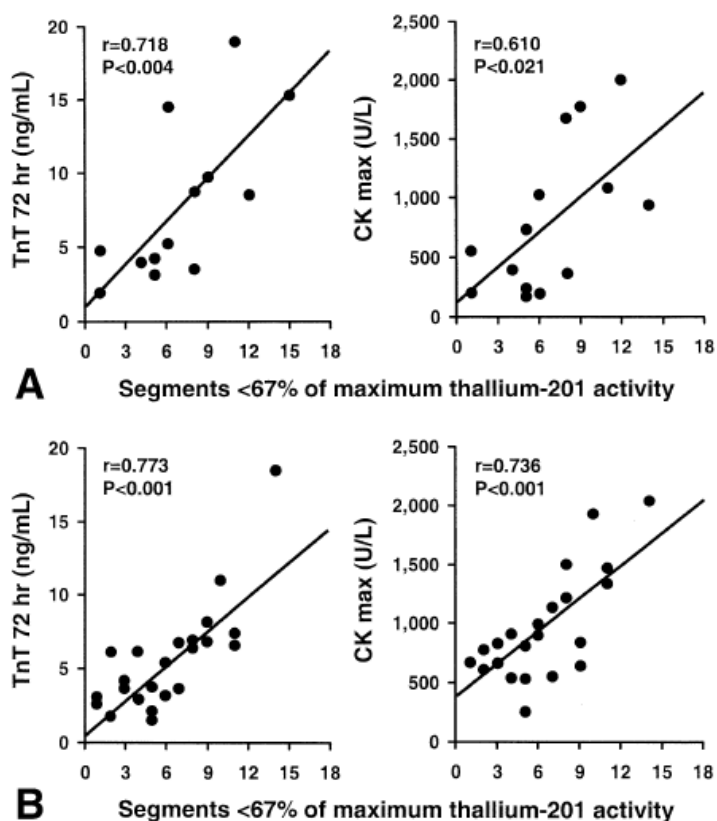


Figura 11. Asociación entre los niveles de TnT a las 72 horas y pico de CK y el SPECT miocárdico en la estimación del tamaño del infarto. A: pacientes no revascularizados. B: pacientes revascularizados

Por tanto, los marcadores de necrosis miocárdica son una herramienta atractiva para estimar fácilmente el tamaño del IM y obtener una impresión pronóstica ⁵².

1.2.4.3 Reperusión coronaria

Un diagnóstico rápido y la estratificación temprana del riesgo en pacientes con sospecha de IAM, son clave para identificar a aquellos en quienes una intervención temprana puede mejorar claramente el pronóstico. Aunque en un pequeño porcentaje de pacientes con IAMCEST se produce reperusión espontánea, en la gran mayoría existe una oclusión trombótica persistente, y la reperusión lo más precoz posible, representa el modo más eficaz para restaurar el flujo sanguíneo y disminuir las complicaciones.

1.2.4.3.1 Intervencionismo coronario percutáneo vs fibrinólisis

Existen dos regímenes terapéuticos para la revascularización de la arteria responsable del IAMCEST, la ICP primaria y la fibrinólisis. Independientemente de la estrategia escogida, el objetivo fundamental es reducir al mínimo el tiempo total de isquemia, definido como el tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas hasta la apertura de la arteria responsable del IAM ²⁹.

En las guías de práctica clínica del IAMCEST de la Sociedad Europea de Cardiología (ESC) ²⁹ y la Sociedad Americana de Cardiología (AHA) ³¹, la terapia de reperusión (mecánica o farmacológica) está indicada (clase I, nivel de evidencia A) en los pacientes con un IAMCEST de menos de 12 horas de evolución. Existe una serie de recomendaciones para elegir una u otra estrategia de revascularización ³⁰:

1º: El tiempo desde el inicio de los síntomas: la eficacia del tratamiento fibrinolítico es dependiente del tiempo que lleva ocluida la arteria, mientras que el restablecimiento del flujo coronario mediante ICP primaria, dentro de las primeras 12 horas, es menos tiempo-dependiente.

2º: El riesgo del IAM: el beneficio de la ICP primaria es más alto cuanto más riesgo (importancia de la estratificación inicial del riesgo) tiene el IM.

3º: El riesgo del tratamiento fibrinolítico: cuando las dos opciones son posibles, si el paciente tiene alto riesgo de sangrado la ICP primaria ofrece un claro beneficio.

4º: El tiempo hasta la realización de ICP urgente: las guías americanas aconsejan realizar terapia de reperfusión mediante ICP primaria si se estima que el tiempo desde el primer contacto médico y la apertura de la arteria puede ser inferior a 90 minutos. Las guías europeas recomiendan la ICP primaria como tratamiento de elección si se estima que el tiempo desde el primer contacto médico a la apertura de la arteria responsable puede ser inferior a 120 minutos. Además, aconsejan que este tiempo sea inferior a 90 minutos en los casos con menos de 2 horas de evolución, infarto de miocardio extenso y bajo riesgo de sangrado. Si se estima que no es posible cumplir con los objetivos anteriormente descritos y no existe contraindicación, se administrará tratamiento fibrinolítico lo antes posible.

1.2.4.4 Estratificación pronóstica tras un infarto de miocardio

La valoración pronóstica en los pacientes que sufren un IAM debe ir encaminada, básicamente, a estratificar los enfermos en grupos de bajo, medio y alto riesgo de presentar complicaciones durante su evolución. El pronóstico tras un IAMCEST ha mejorado notablemente en los últimos años, debido fundamentalmente a la generalización de los tratamientos de reperfusión (mecánicos o farmacológicos) y el uso de fármacos antiagregantes y cardioprotectores (bloqueadores beta e IECAs) ^{76, 77}. Todo ello ha hecho disminuir notablemente la mortalidad post-infarto ⁷⁸; concretamente, se ha pasado de una mortalidad hospitalaria del 15 % en los años ochenta a cerca del 6 % a 30 días en la actualidad ⁷⁹.

En el registro MASCARA (Manejo del Síndrome Coronario Agudo Registro Actualizado) que incluyó a más de 3.000 pacientes con SCACEST en España, la mortalidad hospitalaria se situó en el 7,6 % ⁸⁰.

1.2.4.4.1 Impacto pronóstico del tamaño del infarto de miocardio

El tamaño del IM es uno de los principales determinantes pronósticos tras un IAM ^{81, 82}. Desde un punto de vista funcional, el factor que condiciona de manera más determinante la evolución clínica a corto plazo de estos pacientes es la cantidad de miocardio funcionando que se pierde ^{83, 84} (Figura 12).

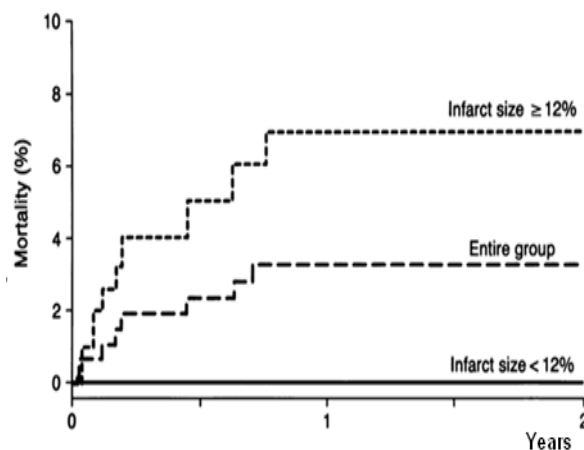


Figura 12. Mortalidad según tamaño del IAM ⁸²

La oclusión aguda de la luz coronaria conduce rápidamente a la interrupción de la actividad metabólica y funcional de los miocitos irrigados por esa arteria, lo que causa una alteración tanto de la relajación como de la contracción del territorio miocárdico afectado ⁸⁵⁻⁸⁸. El grado de disfunción ventricular vendrá esencialmente determinado por la extensión del territorio cardíaco afectado por el IM ^{89, 90}.

La incidencia de shock cardiogénico en la fase aguda del IM oscila entre el 5 y el 15 %, con un promedio del 7,5 % ⁹¹. La aparición de esta complicación está en relación directamente proporcional al

tamaño del IM, de tal forma que la necrosis de más del 40 % de la masa ventricular izquierda se asocia con frecuencia a shock cardiogénico ⁹². Distintos estudios han puesto de manifiesto que la presencia de shock cardiogénico es el factor más fuertemente relacionado con la mortalidad en la fase aguda del IM (40-60 % del total de muertes) ⁹³⁻⁹⁶.

Debido a la importancia pronóstica del tamaño del IM, la posibilidad de modificarlo ha despertado un gran interés experimental y clínico. En este sentido, el estudio de la apoptosis de los miocitos, los genes determinantes, sus vías de activación y su posible bloqueo farmacológico, han cobrado un importante protagonismo en la investigación básica en cardiología.

1.2.4.4.2 Estimación y valor pronóstico de la función ventricular izquierda post-infarto

Es ampliamente conocido que el pronóstico tras un IAM depende en gran medida del estado de la función contráctil del ventrículo izquierdo. Los efectos nocivos de la depresión de la función sistólica en la evolución clínica y pronóstico de los pacientes con IAM se han demostrado de manera concluyente ⁹⁷⁻⁹⁹. La FEVI es el parámetro no invasivo más estandarizado, reproducible y utilizado como medida de la función ventricular izquierda ¹⁰⁰.

La FEVI post-infarto tiene una relación inversamente proporcional con la mortalidad. Estudios publicados en los años 80, previos al desarrollo de los tratamientos de reperfusión coronaria, demostraron una relación estrecha entre la FEVI y la mortalidad cardiaca ¹⁰¹⁻¹⁰⁴. Trabajos posteriores, en pacientes tratados con ICP o trombolisis, como los publicados por Gosselink et al. ¹⁰⁵, demostraron una mortalidad (a los 30 ± 10 meses de seguimiento) del 16 % en pacientes con FEVI < 40 % frente al 2 % si la FEVI era > 40 %. En este mismo sentido, Nicod et al ¹⁰⁶ encontraron que los pacientes con IAMCEST y FEVI < 40 % que presentaban IC durante el ingreso, tenían mayor mortalidad comparados con aquellos con FEVI < 40 % pero sin IC (26 % frente al 12 %, p < 0,01). Estos hallazgos también fueron significativos

si la FEVI estaba entre el 40-50 % (mortalidad del 19 % frente al 6 %, $p < 0,01$) o si la FEVI era > 50 % (mortalidad del 8 % frente al 3 %; $p < 0,02$).

También la FEVI es un importante predictor de eventos arrítmicos post-infarto. En el trabajo de Richards et al. ¹⁰⁷, el RR de eventos arrítmicos tras un IAM fue significativamente superior en el grupo de pacientes con FEVI < 40 %. Otro estudio demostró que el 79 % de los pacientes con eventos arrítmicos post-infarto tenían una FEVI < 40 %, frente al 15 % en el grupo con FEVI > 40 % ($p < 0,0001$) ¹⁰⁸.

1.2.4.4.3 Insuficiencia cardíaca post-infarto: prevalencia, características clínicas e importancia pronóstica

La IC se observa al ingreso o durante la hospitalización en aproximadamente una tercera parte de los pacientes con IAM (25–35 % de los casos) ¹⁰⁹⁻¹¹². En un registro americano en el que se estudiaron más de 600.000 pacientes dados de alta con el diagnóstico de IAM y que cumplían criterios de IC, la incidencia de esta complicación fue del 29 % ¹¹³.

La incidencia de IC tardía post-infarto varía ampliamente en los distintos estudios y registros publicados, en gran parte debido a las diferentes definiciones de IC consideradas. En el estudio de Framingham ¹¹⁴, se comunicó una incidencia anual de IC tardía del 2 %, similar a la mostrada en el estudio CARE ¹¹⁵ (1,3 %). En el estudio SAVE ⁷⁸ se informó, a los 3,5 años de seguimiento, una incidencia del 15 %. Sin embargo, otros estudios poblacionales norteamericanos han encontrado una tasa de eventos de hasta el 41 % a los 6,5 años de seguimiento ¹¹⁶.

A diferencia de la IC que aparece en la fase aguda del IAM, estrechamente relacionada con la extensión y severidad del infarto (disfunción de tipo mecánico), el elemento fisiopatológico clave en el desarrollo de la IC tardía post-infarto es el remodelado ventricular (RV) ¹¹⁷.

El término RV, comprende todas aquellas variaciones moleculares, celulares e intersticiales cardiacas que se producen tras un IAM y que se manifiestan por alteraciones en el tamaño, masa, geometría y función del ventrículo izquierdo. El desarrollo de RVI es un proceso complejo y en el que se han implicados múltiples factores, entre los que destaca la apoptosis ¹¹⁸⁻¹²⁰.

A pesar de los notables avances realizados en los últimos años en el tratamiento del IAM ^{111, 121, 122}, la IC sigue siendo la complicación grave más frecuente y es, junto con la edad, el factor predictivo independiente más importante de muerte a corto y largo plazo ¹²³.

Los pacientes con IAM acompañado de IC grave tienen una mortalidad que llega a alcanzar el 30 % a los 12 meses ¹²⁴. En el estudio GRACE, la mortalidad a los 6 meses fue claramente mayor en el grupo de pacientes con IAM que desarrolló IC (20,7 % vs 5,9 %, <0.001) ¹¹⁰.

Por tanto, la IC supone, dada la alta prevalencia del IAM, un gran número de muertes en términos absolutos. Además, cualquier intervención médica que disminuya el desarrollo de IC, aunque sea en una proporción relativa baja, se traducirá en una ganancia neta de vidas salvadas.

1.3 LA APOPTOSIS EN EL INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO

1.3.1 Apoptosis: definición y conceptos claves

El término “*apoptosis*” fue utilizado por primera vez en 1972 por los investigadores Wyllie, Kerr y Currie, para indicar una nueva forma de muerte celular en el que las células morían de una manera morfológicamente distinta a la muerte por necrosis. Así, tenían lugar una serie de cambios secuenciales que no daban como resultado la pérdida de la integridad de la membrana celular y que además no desencadenaban una respuesta inflamatoria, tal y como ocurría en la muerte por necrosis ¹²⁵ (Tabla 3).

Tabla 3. Diferencias morfológicas y funcionales entre necrosis y apoptosis

	NECROSIS	APOPTOSIS
<u>Tamaño celular</u>	Edema	Retracción
<u>Membrana citoplásmica</u>	Lisis	Expresión de glucoproteínas
<u>Mitocondria</u>	Rotura	Funcional
<u>Degradación del ADN</u>	Aleatoria	Ordenada
<u>Requerimiento energético</u>	No	Si
<u>Inflamación</u>	Si	No

Por tanto, se puede definir la apoptosis como el conjunto de reacciones bioquímicas que tienen lugar en una célula y que concluyen con su muerte de una forma ordenada y silenciosa ¹²⁶.

Durante la apoptosis, se producen a nivel celular una serie de cambios estructurales y funcionales. Las células se encogen y pierden el contacto con las células vecinas; la fosfatidilserina (presente en la cara interna de la membrana plasmática) pasa al exterior de la membrana y es reconocida por los macrófagos; comienza la fragmentación nuclear por las endonucleasas endógenas, dando lugar al característico patrón de DNA en escalera en la electroforesis ¹²⁷; y por último, la membrana plasmática adquiere una apariencia vesicular debido a la formación de grandes invaginaciones (cuerpos apoptóticos) que son reconocidos y fagocitados por los macrófagos ¹²⁸ (Figura 13).

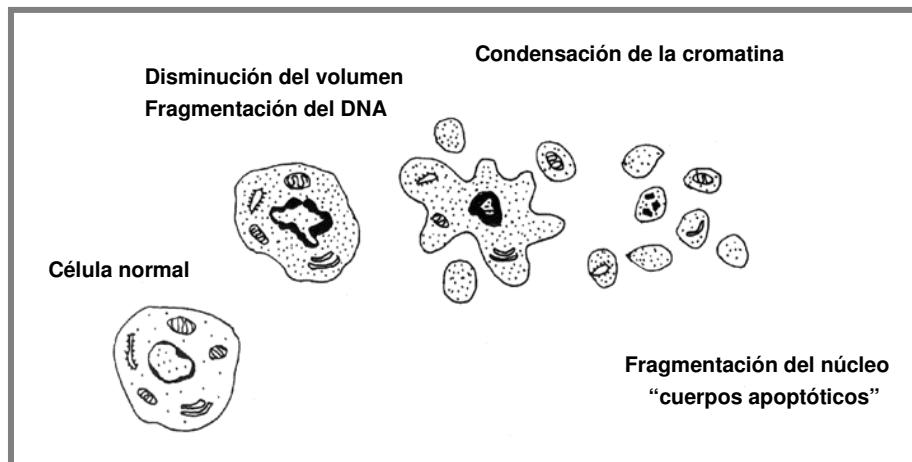


Figura 13. Se representa de forma esquemática las principales fases del proceso de apoptosis.

En los organismos pluricelulares, la apoptosis juega un importante papel durante el desarrollo, en el mantenimiento de la homeostasis tisular en el adulto, en la defensa contra infecciones y neoplasias, y en la regulación del proceso fisiológico de envejecimiento ¹²⁷.

1.3.2 Mecanismos moleculares implicados en la apoptosis: vías de activación

El mecanismo de la apoptosis es extremadamente complejo y sofisticado, ya que son múltiples las moléculas que promueven la muerte celular amplificando efectos en cascada y retroalimentación positiva con el fin de asegurar que una vez iniciado el proceso, éste sea rápido, fatal e irreversible ¹²⁹. Como mecanismo de seguridad, la célula produce reguladores para asegurar que pequeñas alteraciones no den lugar a una muerte innecesaria ¹³⁰.

Aunque la apoptosis puede ser activada por diferentes estímulos, estos confluyen en una vía común en la que juegan un papel clave unas proteínas, denominadas caspasas (cysteine aspartyl specific proteases) ¹³¹. Las caspasas son parte de la familia de las cisteína-proteasas, se sintetizan como precursores inactivos (proenzimas inertes denominadas zimógenos) y se convierten en la forma activa por rotura proteolítica ¹³⁰.

La activación inicial de una caspasa provoca una reacción en cadena que conduce a la activación de otras caspasas y a la muerte de la célula ¹³². Se conocen más de 14 caspasas y, aunque comparte una estructura común, los análisis filogenéticos han demostrado la existencia de subfamilias que presentan diferentes características entre sí y que, por tanto, pueden tener distinto papel en el proceso apoptótico ¹³³. Así, las *caspasas iniciadoras* (caspasas 2, 8, 9 y 10) presentan pro-dominios funcionales que permiten la asociación de estas moléculas con complejos de señalización, las *caspasas ejecutoras* (3, 6, y 7) son activadas por las caspasas iniciadoras y son las responsables de la interacción con otras moléculas que desencadenan la apoptosis y, por último, están las *caspasas involucradas en la inflamación o caspasas procesadoras de citoquinas* (1, 4, 5, 12, 13, y 14) ¹³³.

La activación de la vía común de la apoptosis se puede realizar mediante dos rutas no excluyentes entre sí: la denominada extrínseca o tipo I, a través de receptores situados en la membrana celular llamados receptores celulares de muerte (Death Cell Receptors) o la intrínseca o tipo II, mediante la liberación del activador mitocondrial del tipo citocromo C ¹³⁴ (Figura 14).

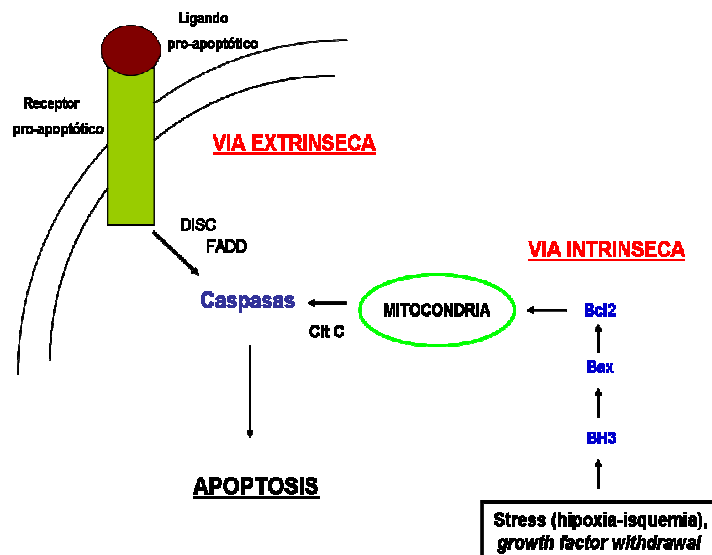


Figura 14. Vías de activación de la apoptosis. Las células poseen dos vías a través de las cuales reciben la orden de muerte: la vía extrínseca, a través de un ligando, y la vía intrínseca, que se activa frente a un estrés importante o por factores de crecimiento (growth factor withdrawal). En esta última vía, desempeña un papel fundamental la mitocondria, que libera citocromo C (Cit C) y otras sustancias importantes en la activación de las caspasas, que inician la apoptosis.

1.3.2.1 Vía extrínseca o de los receptores de muerte

Los receptores de muerte de la familia del receptor de TNF (TNFR) incluyen TNFR1, Fas (CD95), DR3/WSL y los receptores del ligando inductor de apoptosis relacionado con el TNF (TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL) ¹³⁵. Estos receptores, poseen un dominio intracelular en el extremo C-terminal del receptor denominado *dominio de muerte* o “death domain” ¹³⁶. El miembro de los receptores de muerte más estudiado y relevante en inmunología es el CD95 o Fas ¹³⁷. La oligomerización o más probablemente la trimerización del CD95 tras la unión de su ligando (FasL) es requerida para la transducción de la señal apoptótica ¹³⁸.

La vía extrínseca se inicia con la unión de un ligando de muerte a su receptor de superficie, formando el complejo multiproteico llamado DISC (Death Inducing Signaling Complex). Este complejo se une a una proteína adaptadora denominada FADD (Fas-Associated Via Death Domain)¹³⁹ y da lugar a la activación de la procaspasa 8, que rompe y activa a la procaspasa 3 y a Bid (proteína pro-apoptótica del tipo Bcl-2) a través de la cual se unen las vías apoptóticas extrínseca e intrínseca ¹⁴⁰.

1.3.2.2 Vía intrínseca

A diferencia de la vía extrínseca, que traduce señales específicas para la muerte celular, la vía intrínseca integra una amplia gama estímulos extra e intracelulares. Entre los primeros se incluyen las deficiencias en nutrientes, la hipoxia, las radiaciones y otros tipos de estrés físico-químicos, y entre los estímulos intracelulares se encuentran el estrés oxidativo, el daño al ADN y el plegamiento incorrecto de las proteínas. Todas estas señales convergen en la mitocondria y alteran su correcto funcionamiento, produciéndose la liberación de proteínas apoptogénicos al citosol ¹⁴⁰.

De todas estas proteínas apoptogénicas, la que mayor protagonismo ha experimentado es el citocromo C ¹⁴¹, un componente de la cadena respiratoria mitocondrial que se encuentra normalmente localizado entre las dos membranas mitocondriales o espacio intermembranas. Ante un estímulo como los descritos anteriormente, se produce su liberación al citosol y su unión a Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor – 1) que interactúa con la procaspasa 9, formando el complejo “citocromo C–Apaf-1–procaspasa 9–ATP” o APOPTOSOMA, que es el elemento central en la maquinaria apoptótica intrínseca. Finalmente, tras la activación de la procaspasa 9 mediante el aporte de energía (ATP), se inicia el proceso apoptótico ¹⁴².

1.3.3 Importancia de la apoptosis en la fisiopatología del infarto de miocardio

En el momento actual sabemos que la apoptosis interviene activamente en la fisiopatología de numerosas enfermedades y juega un papel crucial en el sistema cardiovascular ^{143, 144}. Dentro de la investigación en cardiología, la apoptosis ha despertado un gran interés debido a su participación en múltiples entidades nosológicas, como las cardiopatías congénitas ^{145, 146}, el síndrome de QT largo ¹⁴⁷, el síndrome de Brugada ¹⁴⁸, los bloqueos en la conducción cardíaca ¹⁴⁹, las miocardiopatías ¹⁵⁰, la cardiopatía hipertensiva ¹⁵¹, el rechazo en el trasplante cardíaco ¹⁵², la IC ¹⁵³⁻¹⁵⁵ y el IAM ^{156, 157}.

Concretamente, en el contexto de la CI, investigaciones recientes han demostrado que la apoptosis puede jugar un importante papel en el crecimiento y rotura de las placas ateromatosas, lo que en última instancia lleva al desarrollo de eventos coronarios agudos ^{158, 159}. Además, otros trabajos han puesto de manifiesto la importancia del proceso apoptótico en el desarrollo y progresión del área del IAM ¹⁶⁰, el RV adverso tras un IAM ^{161, 162} y la IC tardía post-infarto ¹⁶³⁻¹⁶⁶.

Hasta hace unos años se pensaba que la muerte celular en el contexto del IM era exclusivamente por necrosis, sin embargo, nuevas técnicas de detección de muerte celular han puesto de manifiesto la

importancia de la apoptosis en la fisiopatología del IAM ^{157, 167, 168}. Además, estudios experimentales han demostrado que la hipoxia isquémica es un fuerte inductor de la apoptosis a nivel miocárdico ¹⁶⁹.

El diagnóstico clínico de la apoptosis es ya una realidad en el ámbito de la cardiología. Podemos identificar las células apoptóticas *in vivo* mediante la administración intravenosa de proteínas humanas, como la Anexina V ¹⁷⁰, marcadas con Tecnecio 99 metaestable (Tc99m) ^{171, 172}.

En la actualidad, existe un gran interés en la investigación del rescate del miocardio que se lesiona tras un evento coronario agudo. Así, recientes trabajos han puesto de manifiesto que la inhibición de la apoptosis de los miocitos, tanto por métodos genéticos como farmacológicos, puede disminuir el tamaño del infarto, la dilatación ventricular y la mortalidad ¹⁷³⁻¹⁷⁵.

1.4 GEN SUPRESOR DE TUMORES P53

1.4.1 Introducción: P53, “el guardián del genoma”

El gen *P53* pertenece al grupo de los genes supresores de tumores, es decir, genes que evitan la transformación celular. Está localizado en el brazo corto del cromosoma 17 (posición 17p 1.3), se extiende a lo largo de 20 kb de ADN genómico, y contiene 11 exones y 393 codones. Codifica la proteína *P53*, que está formada por 393 aminoácidos y tiene un peso molecular de 53 KDa (de ahí su nombre) ^{176, 177}.

En su estructura primaria se pueden distinguir tres regiones (Figura 15): la *región N-terminal*, que contiene el dominio de activación transcripcional que permite inducir la transcripción de nuevos mRNA y por tanto la expresión de determinados genes ¹⁷⁷, la *región central*, que incluye el dominio de unión a secuencias específicas del ADN ¹⁷⁶ y la *región C-terminal*, que contiene los dominios de localización

nuclear, tetramerización y de unión a secuencias de ADN específicas para el reconocimiento del daño primario ¹⁷⁸.

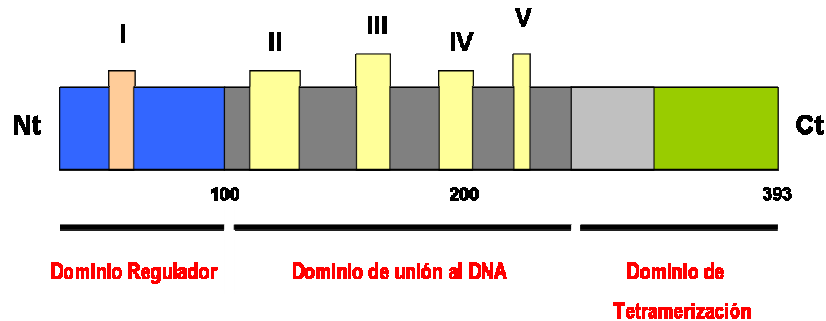


Figura 15. Estructura y dominios funcionales de la proteína P53

La proteína P53 tiene una vida media muy corta (de 5 a 30 minutos) se halla en cantidades muy pequeñas en las células normales y es inducida durante la transición de la fase G0 a G1 del ciclo celular (Figura 16). Esta proteína se encuentra mayoritariamente formando tetrámeros y se une a secuencias específicas del ADN para actuar como factor de transcripción en colaboración con otras proteínas activadoras ¹⁷⁶.

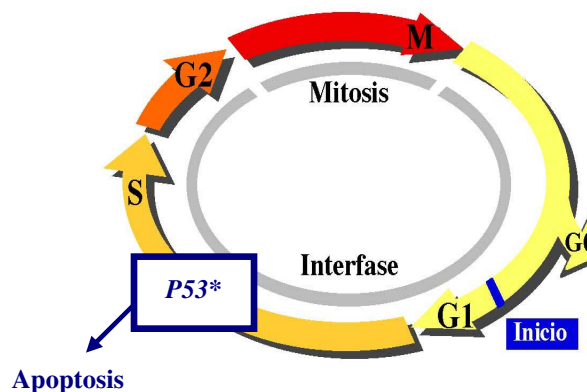


Figura 16. Ciclo celular y apoptosis. En el ciclo celular se distinguen varias fases: G0. Fase de reposo; G1. Fase de presíntesis; S. Fase de síntesis; G2. Fase de postsíntesis; M. Mitosis. * Punto de control de P53 y activación de la apoptosis.

En condiciones normales, la principal función de la proteína *P53* es la regulación de la proliferación y diferenciación celular. Para ello, se une a secuencias específicas del ADN y estimula la expresión de genes del ciclo celular que inhiben el crecimiento. Entre los genes inducibles por la proteína *P53* destacan *MDM2*, *WAF1/p21* y *GADD45* ^{179, 180}. Otras funciones de esta proteína son la síntesis y reparación del ADN, la plasticidad genómica y el control de la apoptosis ¹⁸¹⁻¹⁸³. En base a todas estas funciones, se ha denominado al gen *P53* como el “guardián del genoma”, ya que interviene, una vez activado, en el mantenimiento de su integridad ¹⁸⁴.

1.4.2 Implicación del gen *P53* en la apoptosis celular

Como hemos descrito anteriormente, el gen *P53* se encuentra involucrado en múltiples procesos celulares entre los que destacan el control de la apoptosis. Si una célula sufre un daño significativo en el ADN o es sometida a un estrés importante (por radiación, carcinógenos o fenómenos hipóxico-isquémicos) se produce la activación de la proteína *P53*, y su unión a secuencias específicas de ADN presentes en las zonas promotoras de determinados genes implicados en la inhibición del crecimiento celular.

Como consecuencia de ello, se frena la progresión del ciclo celular en G1 mediado por p21 (*WAF*), que es un potente inhibidor de varias cinasas y que permite que los enzimas de reparación del ADN corrijan los defectos inducidos, y se induce la apoptosis, mediada principalmente por las proteínas Bax, Apaf-1 y caspasa-9 ¹⁸⁴ (Figura 17).

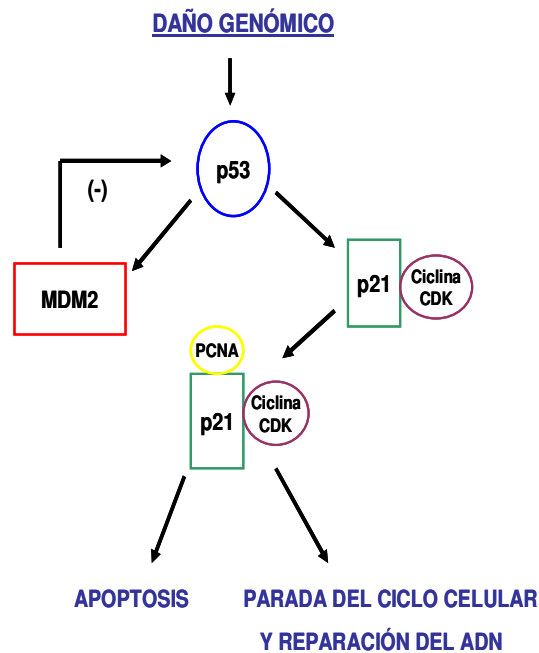


Figura 17. Activación y regulación de la proteína P53.

La modulación de la apoptosis miocárdica, basada en el diseño de nuevas estrategias farmacológicas, ha emergido como un área terapéutica prometedora en el contexto del IAM. En un estudio con ratas que fueron sometidas a isquemia miocárdica, la transfección previa del gen antiapoptótico bcl-2 se asoció con menor apoptosis de los cardiomiocitos, menor extensión del IM y mejor función ventricular con respecto a las ratas no transfectadas ¹⁸⁵. En otro estudio, el inhibidor de las caspasas ZVAD-fmk redujo significativamente la apoptosis de los cardiomiocitos y el área de infarto con respecto a los animales no tratados ¹⁸⁵⁻¹⁸⁷. También, investigaciones realizadas en roedores tratados con el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (por vía sistémica o mediante transfección), demostraron menor desarrollo de apoptosis miocárdica tras la inducción del infarto que en los animales no tratados ^{188, 189}.

Recientemente, Ying Zhang et al. ¹⁹⁰ han demostrado que el inhibidor de P53 Pifithrin-alpha (PFTa), un inhibidor sintético de P53, reduce la apoptosis de los cardiomiocitos de ratones tras la inducción de un IAM.

1.4.3 Polimorfismos genéticos: conceptos y aplicaciones clínicas

Los polimorfismos genéticos son variaciones en la secuencia del ADN, tengan o no consecuencia biológica, que se detectan en al menos el 1% de los individuos de una población ¹⁹¹. Para que un locus sea considerado polimórfico, el alelo más común de dicho locus debe tener una frecuencia poblacional menor del 99% y, además, de acuerdo con la ley de Hardy-Weinberg, al menos un 2% de la población debe ser heterocigota para ese locus ¹⁹².

A diferencia del ADN codificante, en el que se ha observado muy poca variabilidad individual, el ADN no codificante (al no estar sujeto a presión selectiva intensa) puede soportar grandes niveles de variabilidad sin que se produzca una repercusión fenotípica significativa. Este hecho ha convertido a este tipo de ADN en la mayor fuente de investigación de polimorfismos ¹⁹³.

El progresivo desarrollo de diferentes técnicas analíticas para el estudio de estos polimorfismos genéticos ha permitido diferenciar distintas formas alternativas que pueden tener cada uno de ellos, lo que ha motivado que se puedan utilizar como marcadores genéticos. Los polimorfismos más variables y de mayor aplicación clínica son los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) y los polimorfismos de repetición (VNTR) ^{194, 195}.

a) Polimorfismos de un solo nucleótido o SNP (Single Nucleotide Polymorphism):

Un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) es una variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base de una secuencia del genoma. Los SNP constituyen hasta el 90% de todas las variaciones genómicas humanas y se pueden encontrar tanto en regiones codificantes del ADN como en regiones no codificantes (la gran mayoría) ¹⁹⁶.

Actualmente, los SNP tienen una gran importancia a nivel biológico y médico, ya que determinan la mayor parte de la variabilidad genética de los individuos. Por ejemplo, pueden influir en la diferente

propensión a desarrollar una enfermedad, una mayor agresividad clínica de la misma o diferencias en la respuesta clínica a tratamientos específicos ¹⁹⁷.

b) Polimorfismos de repetición o VNTRs (variable number of tandem repeats):

La base de estos polimorfismos genéticos reside en la variación del número de veces que se repite en tándem una secuencia determinada. Una repetición en tándem es una secuencia corta de ADN que se repite consecutivamente en un locus específico ¹⁹⁸.

Existen dos tipos de polimorfismos de repetición de uso en diagnóstico genético, los minisatélites y los microsatélites ¹⁹⁴. Los minisatélites son secuencias de ADN de unas pocas decenas de nucleótidos (alrededor de 30 pares de bases) repetidas en tandem. Actualmente, sólo tienen utilidad en el diagnóstico de un grupo limitado de enfermedades. Los microsatélites ó STRs (short tandem repeats) son secuencias de entre 2 y 5 nucleótidos repetidos en tandem y son los polimorfismos más utilizados en el diagnóstico genético. A diferencia de los anteriores, están distribuidos por todo el genoma y presentan una alta heterocigosidad ¹⁹⁴.

Las aplicaciones de los polimorfismos genéticos son numerosas tanto en la investigación básica como en la práctica clínica. Gracias al análisis de estos marcadores genéticos, el conocimiento de las enfermedades genéticas cada vez es mayor. Además, probablemente nos permitirá realizar una medicina preventiva y tomar medidas terapéuticas encaminadas a disminuir e incluso eliminar el riesgo de determinadas enfermedades en el futuro.

1.4.3.1 Polimorfismo Arg72Pro del gen P53

En el gen *P53* se han identificado numerosos polimorfismos, los cuales se ubican en diferentes codones ¹⁹⁵. De todos ellos, el más importante y mejor caracterizado es el localizado en el exón 4, codón

72 del gen (*rs1042522*)¹⁹⁹⁻²⁰⁵. Este polimorfismo, consiste en una transversión de C (citosina) por G (guanina) en el segundo nucleótido del codón 72, y da lugar a una modificación en la secuencia primaria de la proteína y a que se generen dos variantes de ésta, una con el aminoácido prolina en el residuo 72 y la otra con el aminoácido arginina en la misma posición (CCC = prolina; CGC = arginina)²⁰⁶.

Además, dicho cambio tiene efectos bioquímicos y biológicos importantes en cuanto a la acción de la proteína²⁰⁷. Concretamente, se han encontrado diferencias entre las variantes descritas y su habilidad para unir componentes de la maquinaria transcripcional, activar la transcripción, inducir apoptosis y reprimir la transformación celular²⁰⁸. Así, la variante *P53-Arg* tiene una capacidad de inducir apoptosis en células en cultivo y líneas tumorales superior a la variante *P53-Pro*^{207, 209-211}.

Por otro lado, aunque ambas formas producen cambios tumorigénicos, el genotipo *P53-Arg* es más oncogénico que *P53-Pro*²¹². En este sentido, varios trabajos han concluido que los tumores que poseen células cuyo genotipo es *P53-Pro*, tienen un crecimiento más lento y son de un tamaño más pequeño que aquellos constituidos por células portadoras del genotipo *P53-Arg*^{213, 214}. Bonafé et al.²¹¹ encontraron una diferente susceptibilidad a la apoptosis entre los distintos genotipos del codón 72 del gen *P53*. Concretamente, los linfocitos y fibroblastos de pacientes homocigotos Arg presentaron mayor susceptibilidad a la apoptosis que los portadores del alelo Pro al ser sometidos a un estrés oxidativo.

1.4.3.2 Polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53* y apoptosis miocárdica: estudios experimentales con cardiomiocitos

Un estudio experimental con cardiomiocitos de rata realizado en el Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG) de la Universidad de Salamanca, analizó la interacción del gen *P53* y el polimorfismo *Arg72Pro* en la apoptosis miocárdica, demostrando que la ablación genética de *P53* previene la apoptosis de los cardiomiocitos y el daño mitocondrial (Figura 18, A-B).

Además, se encontró una diferente susceptibilidad apoptótica entre las variantes polimórficas de este polimorfismo (*P53-Arg* y *P53-Pro*). Concretamente, los miocitos con la variante *P53-Arg* presentaron una mayor susceptibilidad a la muerte por apoptosis inducida por la isquemia y al daño mitocondrial (Figura 18,C-D) ²¹⁵.

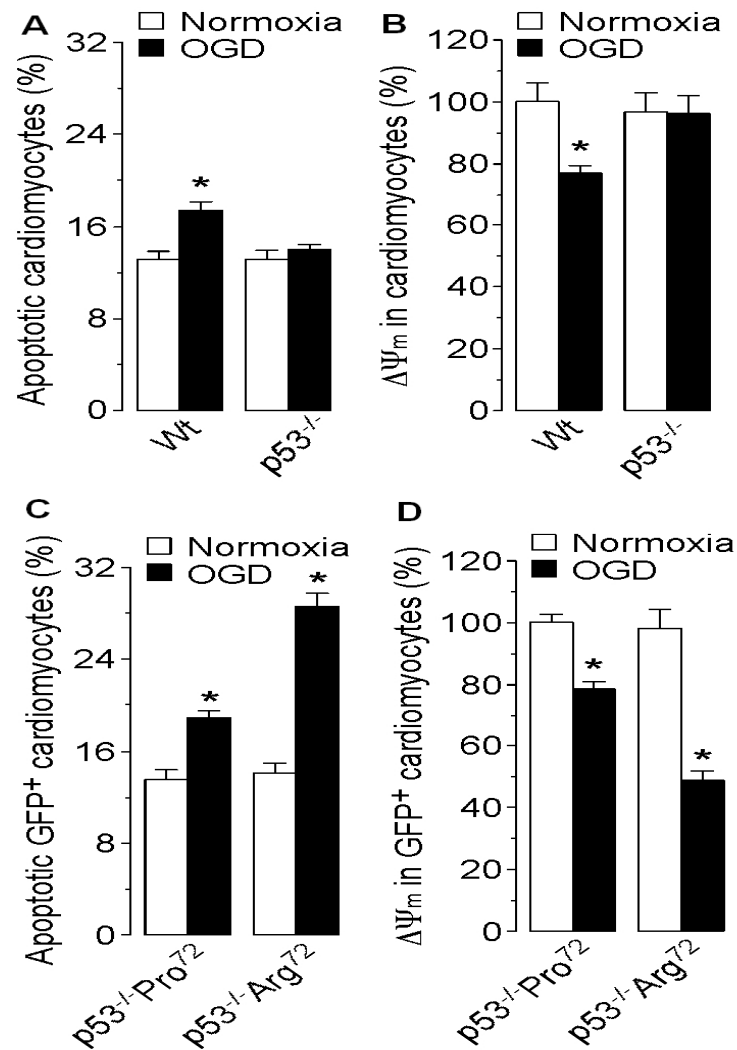


Figura 18. A-B: La ablación genética de P53 previno la apoptosis de los cardiomiocitos y el daño mitocondrial. C-D: la variante Arg72 de P53 aumentó la susceptibilidad de los cardiomiocitos a la muerte por apoptosis inducida por la isquemia y al daño mitocondrial. La apoptosis y el potencial de membrana mitocondrial fueron medidos por citometría de flujo. Los datos representan la media \pm DEM de cuatro diferentes cultivos celulares. Wt: "wild type" (*P53 + / +*). * $p < 0,05$ comparado con normoxia

1.5 GEN APOPTÓTICO MDM2

1.5.1 Introducción

El gen *MDM2* (*Murine doble minute 2*), se localiza en el brazo largo del cromosoma 12 y codifica la proteína *MDM2*, que es un importante regulador negativo del supresor tumoral *P53* ²¹⁶. La proteína *MDM2* presenta un peso molecular de 90 kDa y está constituida por 491 aminoácidos. En su extremo aminoterminal (NH+) se encuentra el dominio tumorigénico, que incluye sitios de unión de *MDM2* a los reguladores y promotores del ciclo celular, *P53* y E2F1 ²¹⁷ (Figura 19).

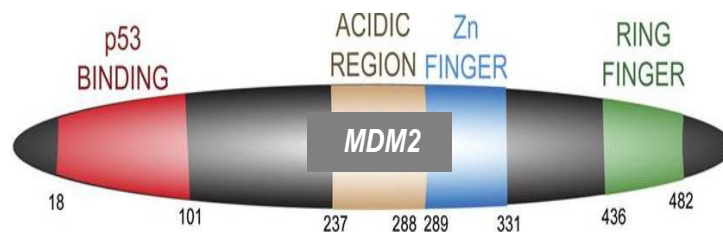


Figura 19. Gen *MDM2*: principales regiones de unión a proteínas

1.5.2 Implicación del gen MDM2 en la apoptosis celular: interacción MDM2-P53

La proteína *MDM2* es un importante regulador negativo del supresor tumoral *P53*. Se ha demostrado que *MDM2* reprime la actividad transcripcional de *P53* a través de la unión y bloqueo del dominio de trans-activación N-terminal ²¹⁸.

Además, la proteína *MDM2* funciona como una ubiquitina ligasa E3, reconociendo tanto a sí misma como a *P53* para ser degradadas por el proteosoma. Determinados residuos de lisina en el dominio C-terminal de *P53* han sido identificados como lugares de ubiquitinación y se ha observado que los niveles

de *P53* son disminuidos por *MDM2* de un modo dependiente de proteosoma ²¹⁹. *MDM2*, también tiene la propiedad de auto-poliubiquitinarsse y la capacidad de poliubiquitinar a *P53*. De este modo, *MDM2* y *P53* son los responsables de un bucle de control por “feedback negativo” que mantiene bajos los niveles de *P53* en ausencia de señales estabilizadoras ²²⁰ (Figura 20).

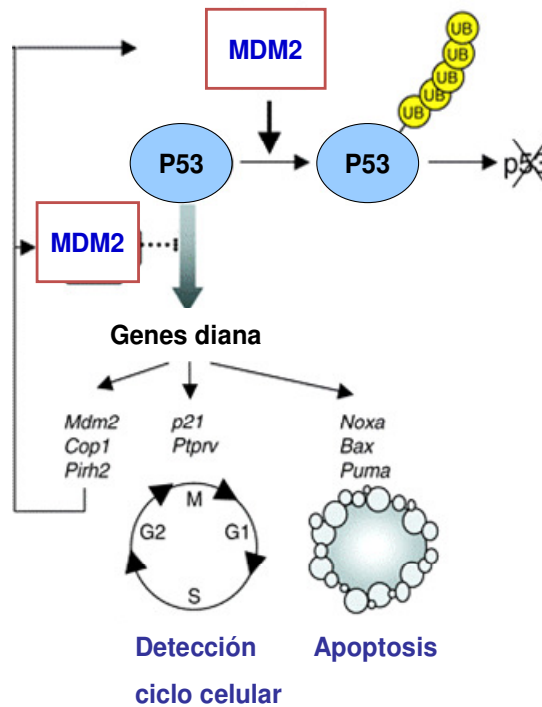


Figura 20. Interacción MDM2-P53

Por otro parte, el gen *MDM2* es un gen de respuesta a *P53*, es decir, su transcripción puede ser activada por *P53*. Si existe un daño en el ADN celular (radiación, hipoxia, isquemia) se produce un aumento de la síntesis de *P53* que, a su vez, inicia la transcripción de *MDM2*. Cuando se llega a niveles muy altos de *P53*, ya se ha producido suficiente *MDM2* como para detener el proceso. Sin embargo, si *MDM2* fuera producida anómalamente en grandes cantidades (por amplificación génica), la proteína *P53* estaría constantemente inactivada, con lo que el ciclo celular perdería uno de sus principales reguladores ²²¹.

1.5.3 Polimorfismo T309G del gen MDM2

Recientemente ha sido identificado el SNP 309 en la región promotora del gen *MDM2* (SNP309 T>G, rs2279744) ²²². Este polimorfismo se localiza en una región específica del ADN, que es el sitio de unión del factor de transcripción Sp1 ²²² (Figura 21).

Se ha postulado que en función de la composición amioacídica de esta región del ADN puede variar la afinidad de unión de Sp1 y, por tanto, su capacidad de activar la transcripción y expresión de *MDM2*. Así, varios trabajos han puesto de manifiesto que la presencia de un alelo G en dicho polimorfismo aumenta la afinidad de Sp1 al ADN, lo que se traduce en una mayor transcripción de *MDM2*, y consecuentemente mayor inhibición de *P53* ²²²⁻²²⁸. Trabajos en el ámbito de la oncología, han apuntado que los pacientes con alelo G tienen mayor riesgo de desarrollar neoplasias y mayor crecimiento tumoral que los portadores del alelo T ²²⁹⁻²³¹.

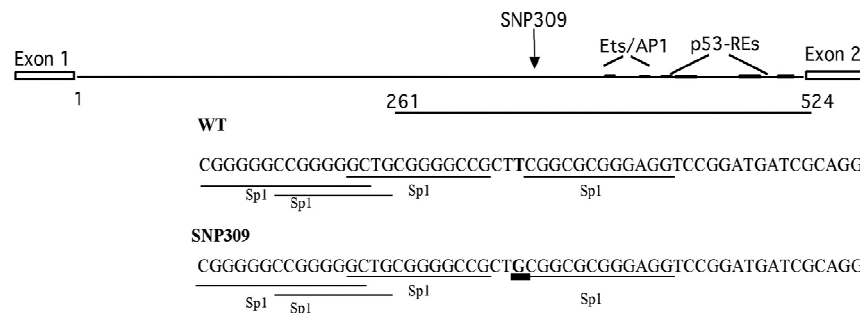


Figura 21. Polimorfismo SNP309 T>G (rs2279744) del gen *MDM2*. Se representa esquemáticamente la localización del polimorfismo y en negrita la zona donde tiene lugar el cambio del aminoácido.

HiPÓTESiS Y OBJETiVOS

2.1 Hipótesis

Nuevas técnicas de detección de muerte celular han puesto de manifiesto la presencia de importantes fenómenos apoptóticos en el área del IAM, y se ha sugerido que la extensión del IM y la función ventricular post-infarto podrían estar en relación con dichos procesos. Además, a raíz de los resultados de diversos estudios experimentales realizados en animales ²³²⁻²³⁴, se ha insinuado que la apoptosis podría tener un importante papel en la fisiopatología del RV post-infarto y el desarrollo de IC.

El gen *P53* tiene un papel clave en la activación de la apoptosis y un potente inductor de su transcripción es la hipoxia tisular isquémica. Además, el grado de inducción apoptótica de *P53* es diferente según los genotipos presentes en el codón 72 del gen *P53* (*Arg72Pro*).

La proteína *MDM2* (*Murine Doble Minute 2*) es un potente regulador negativo del gen *P53*. Recientemente ha sido identificado el polimorfismo *T309G* en la región promotora del gen *MDM2* y se ha propuesto que el nivel de expresión de *MDM2* varía en función de la composición amioacídica de esta región. De esta forma, podríamos deducir que, si *P53* tuviera una importante implicación en la apoptosis miocárdica, el gen *MDM2*, por su estrecha relación, también la tendría.

Por tanto las hipótesis del presente trabajo son:

1. La apoptosis interviene en la fisiopatología del IAM y condiciona la extensión del IM, la función ventricular izquierda post-infarto y el desarrollo de IC.
2. Una diferente capacidad apoptótica condicionada por el polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53*, tiene impacto en la extensión del IM, la función ventricular izquierda post-infarto y el desarrollo de IC.

3. Variaciones en la capacidad de inhibición de *P53*, condicionadas por el polimorfismo *T309G* del gen *MDM2*, tienen impacto en la extensión del IM, la función ventricular izquierda post-infarto y el desarrollo de IC.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivo general

1. Estudiar el papel de los genes implicados en la apoptosis en el IAM y sus complicaciones

2.2.2 Objetivos específicos

1. Analizar la asociación entre los polimorfismos *Arg72Pro* del gen *P53* y *T309G* del gen *MDM2* y la extensión del IM.
2. Analizar la asociación entre los polimorfismos *Arg72Pro* del gen *P53* y el *T309G* del gen *MDM2* y la función ventricular izquierda post-infarto.
3. Analizar la asociación entre los polimorfismos *Arg72Pro* del gen *P53* y el *T309G* del gen *MDM2* y el desarrollo de IC post-infarto.

MATERIA Y METODOS

3.1 Diseño y población del estudio

Estudio unicéntrico y prospectivo en el que se analizaron los polimorfismos *Arg72Pro* del gen *P53* y *T309G* del gen *MDM2* en todos los pacientes admitidos, de forma consecutiva, en la Unidad Coronaria del Hospital Clínico Universitario de Salamanca, entre Marzo de 2004 y Enero de 2006, con el diagnóstico definitivo de IAMCEST.

El diagnóstico de IAMCEST se definió por la presencia de los siguientes criterios ⁹⁹:

- a. Dolor torácico de características isquémicas o equivalente anginoso de más de 20 minutos de duración.
- b. ECG con ascenso persistente del segmento ST ≥ 1 mm en derivaciones de miembros y/o ≥ 2 mm en derivaciones precordiales, en al menos 2 derivaciones contiguas o presencia de bloqueo de rama izquierda del haz de his (BRIHH) de nueva aparición.
- c. Elevación y posterior descenso de los marcadores de necrosis miocárdica.

Se realizó ICP primara o se administró tratamiento trombolítico siguiendo las recomendaciones dictadas en las guías europeas y americanas del IAMCEST vigentes en el momento de la realización del estudio ^{235, 236}. Si se utilizó tratamiento trombolítico, en ausencia de criterios clínicos (persistencia del dolor a los 90 minutos de su administración) o electrocardiográficos de reperfusión (descenso del ST $\leq 50\%$ a los 90 minutos) se realizó angioplastia de rescate. El tratamiento farmacológico administrado durante el ingreso y al alta hospitalaria también se ajustó a las recomendaciones descritas en las guías de práctica clínica ²³⁶.

3.2 Variables analizadas

En todos los pacientes se recogieron y analizaron las siguientes variables:

1. **Datos demográficos y clínicos**: Edad, sexo, talla, peso, IMC, factores clásicos de riesgo cardiovascular (HTA, DM, dislipemia), hábitos tóxicos (tabaquismo), presencia de IRC, historia familiar de IM a edades precoces (< 60 años), FC y PA en el momento del ingreso y angina previa (en los 7 días previos al ingreso ^{237, 238}).
2. **Datos analíticos**: Se determinaron al ingreso los niveles plasmáticos de glucosa, hemoglobina, creatinina, PCR, LDL, y HDL. Los marcadores de daño miocárdico (CK, CK-MB y troponina I) se determinaron al ingreso y posteriormente cada 6 horas hasta alcanzar el pico máximo. El tamaño del IAM fue estimado con los valores pico de CK, CK-MB y troponina ^{68, 69}.
3. **Datos electrocardiográficos**: Ritmo basal y descenso del ST $\geq 50\%$ a los 90 minutos de iniciar el tratamiento fibrinolítico ²³⁹.
4. **Datos ecocardiográficos**: Se realizó un ecocardiograma transtorácico previo al alta hospitalaria y se cuantificó la FEVI por el método Simpson biplano ²⁴⁰. Los estudios fueron realizados con un ecógrafo modelo Philips HD 11 y guardados en formato digital (DICOM) para su posterior lectura e interpretación, que fue llevada a cabo por cardiólogos especializados en esta técnica.
5. **Datos del IAM y del procedimiento de reperfusión coronaria**: Tiempo total de isquemia (tiempo desde el inicio de los síntomas a la apertura de la arteria responsable del infarto), localización del IAM y TIMI inicial y final en la arteria responsable del infarto en los pacientes sometidos a AP primaria ²⁴¹.

6. **Tratamiento farmacológico al alta hospitalaria:** Se registró el porcentaje de pacientes en tratamiento con antiagregantes, betabloqueantes, estatinas e IECAs o ARA-II.
7. **Seguimiento clínico durante la hospitalización:** Se registró la presencia de IC al ingreso o durante la hospitalización. La IC se definió siguiendo los criterios clásicos de Framingham ²⁴².
8. **Seguimiento clínico tras el alta hospitalaria:** Se registraron todas las hospitalizaciones por IC (no asociadas a un nuevo evento coronario agudo) desde el alta hospitalaria.

3.3 **Extracción del DNA**

Se obtuvieron 10 mL de sangre periférica de cada paciente por venopunción. Las células nucleadas de la sangre se aislaron mediante centrifugación repetida y lisis eritrocitaria con solución hipotónica. Posteriormente, se lavaron las células mononucleadas en tampón Fornace (0.25M Sacarosa; 50mM Tris-HCl pH: 7.5; 25mM KCl; 5mM MgCl₂) y se precipitaron mediante centrifugación a 1500 g durante 20 min. El botón de células nucleadas de la sangre se resuspendió en tampón Fornace a una concentración estimada de 5×10^6 células/mL, tras lo cuál se añadió EDTA (ácido etilendiamino-tetraacético, concentración final 10 mM), SDS (Dodecil sulfato sódico, concentración final 1%) y Proteinasa K (Boehringer Mannheim, concentración final 50 µg/mL). La mezcla se incubó a 55 °C durante 8-16 horas. Tras la incubación, se procedió a purificar el ADN con fenol y cloroformo.

3.4 Genotipado del polimorfismo Arg72Pro del gen P53

El genotipado del polimorfismo se realizó mediante PCR (Polymerase Chain Reaction) ²⁴³ y la discriminación alélica se llevó a cabo mediante RFLP (*restriction fragment length polymorphisms*).

Las muestras de DNA fueron amplificadas mediante PCR en un termociclador automático. Las PCRs se realizaron en un volumen final de 25 µL que contenían 250 ng de DNA genómico, 1,5 mM de MgCl₂, 100 mM de desoxinucleótidos trifosfato (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), 15 pmol de cada oligonucleótido cebador (*forward* 5'-TCTACAGTCCCCCTTGCCGT-3' y *reverse* 5'-CTGACCGTGCAAGTCACAGA - 3') ²⁴³ y 0,5 U de la Taq polymerase (Promega®, Promega Biotech Ibérica, Alcobendas, Madrid, España). Las condiciones experimentales de las PCRs fueron: 1 ciclo (94°C, 5 min) para la desnaturalización, seguido de 35 ciclos (94°C, 30 seg; 58°C, 30 seg; 72°C, 30 seg) y 1 ciclo (72°C, 7 min) para la elongación final.

Los fragmentos amplificados fueron digeridos con la enzima de restricción *Bst*UI (Bsh1236I, Fermentas) y posteriormente se separaron por electroforesis en geles de agarosa al 3 % (Gibco BRL Life Technologies, California, USA). La electroforesis se llevó a cabo en tampón TBE 1X (Tris-HCl 0,044 M, H₃BO₃ 0,044 M, EDTA 1,0 mM, pH 8,3) a 120 voltios, durante 30-35 minutos. Para monitorizar la migración del DNA en el gel se incluyeron dos colorantes en el tampón de carga: xileno-cianol y azul de bromofenol.

Una vez finalizada la electroforesis, los fragmentos amplificados se visualizaron en el gel de agarosa utilizando bromuro de etidio (0.1µg/ml) y luz UV (254 nm). La discriminación alélica se llevó a cabo mediante RFLP, que consiste en el análisis del tamaño de los fragmentos generados tras la digestión del DNA con endonucleasas de restricción. Así, se identificaron tres genotipos diferentes (Figura 22):

- Homocigotos prolina (*Pro/Pro*): fragmentos de 291 pb.
- Homocigotos arginina (*Arg/Arg*): fragmentos de 165 y 126 pb.
- Heterocigotos (*Arg/Pro*): fragmentos de 291, 165 y 126 pb.

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante un sistema de fotografía digital (Kodak Digital Science).

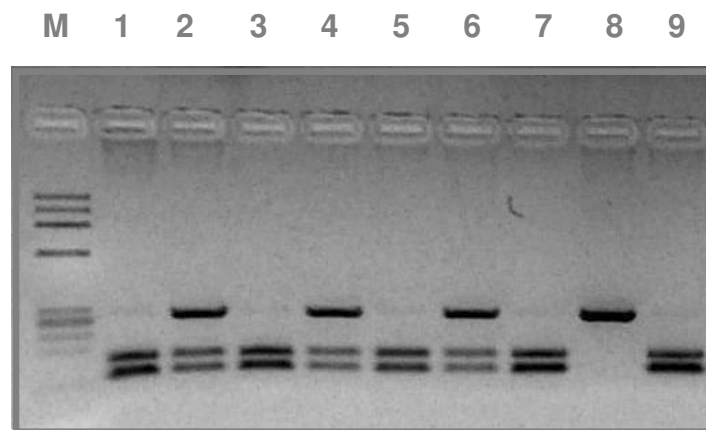


Figura 22. Electroforesis en gel de agarosa al 3% de los fragmentos amplificados por PCR del codón 72 de P53 y digeridos con *Bst*UI. Los carriles 1, 3, 5, 7 y 9 corresponden a pacientes homocigotos *Arg/Arg*; el carril 8 a un paciente homocigoto *Pro/Pro*; y el carril 2, 4 y 6 a pacientes heterocigotos (*Arg/Pro*). La letra M indica el marcador de tamaño molecular.

3.5 Genotipado del polimorfismo T309G del gen MDM2

Las muestras de ADN fueron amplificadas mediante PCR con los oligonucleótidos forward 5'-GAGGTCTCCGCGGGAGTTC-3' y reverse 5'-CTGCCCACTGAACCGGC-3'. Las PCRs se realizaron en un volumen final de 50 μ L que contenían 100-200 ng de DNA genómico, 2,5 mM de MgCl₂, 50 mM de desoxinucleótidos trifosfato (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), 20 pmol de cada oligonucleótido cebador y 1.25 U de la Taq polymerase (5 Prime GmbH, Hamburg, Germany). Las condiciones experimentales de las

PCRs fueron: 1 ciclo (95°C, 5 min) para la desnaturalización, seguido de 35 ciclos (95°C, 30 seg; 61°C, 30 seg; 72°C, 30 seg) y 1 ciclo (72°C, 10 min) para la elongación final.

Los fragmentos amplificados fueron digeridos con la enzima de restricción *MspA1I* (New England Biolabs, Inc.) y posteriormente se separaron por electroforesis en geles de agarosa al 3%. Una vez finalizada la electroforesis, los fragmentos amplificados se visualizaron utilizando bromuro de etidio (0.1µg/ml) y luz UV (254 nm). La discriminación alélica se llevó a cabo mediante RFLP (restricción fragment length polymorphisms) y se generaron tres genotipos diferentes (Figura 23):

- Homocigotos timina (T/T): fragmentos de 155 pb.
- Homocigotos guanina (G/G): fragmentos de 101 y 54 pb.
- Heterocigotos (G/T): fragmentos de 157, 101 y 54 pb.

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante un sistema de fotografía digital (Kodak Digital Science).

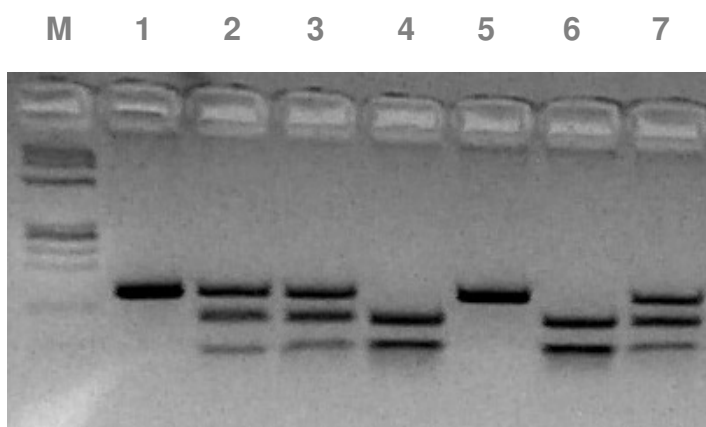


Figura 23. Electroforesis en gel de agarosa al 3% de los fragmentos amplificados por PCR del SNP-309 del gen *MDM2* y digeridos con *MspA1I*. Los carriles 4 y 6 corresponden a pacientes homocigotos G/G; el carril 1 y 5 a pacientes homocigotos T/T; y el carril 2, 3 y 7 a pacientes heterocigotos (T/G). La letra M indica el marcador de tamaño molecular.

3.6 Análisis estadístico

Para el cálculo del tamaño muestral empleamos una combinación de datos propios tomados de estudios pilotos realizados en nuestro centro y datos publicados en la literatura, asumiendo un riesgo $\alpha = 0,05$ y una potencia estadística del 80%.

Los resultados para variables continuas fueron expresados como media \pm desviación estándar o como mediana seguida del percentil 25 y 75. El análisis entre dos grupos se realizó con la t-student y para más de dos grupos se utilizó el test de ANOVA. Las variables cualitativas se expresaron como porcentaje (%) y se analizaron con el test de Chi cuadrado de Pearson, expresando la magnitud de la asociación mediante la odds ratio (OR) y la precisión mediante el intervalo de confianza de la OR. El análisis multivariable se realizó por el método de regresión logística y se incluyeron en el modelo aquellas variables con una $p < 0,1$ en el análisis bivariado. Para este análisis, los niveles de CK fueron divididos en terciles y se tomó como referencia para el cálculo de la OR el tercil superior^{244, 245}, que se consideró como IAM extenso.

En cuanto a la FEVI, se fijó como valor de corte el 40 %¹⁰⁵⁻¹⁰⁸ y se establecieron dos grupos: FEVI preservada (>40%) y FEVI deprimida (<40%). Finalmente, se estimaron las curvas de supervivencia con el método de Kaplan-Meier, y se aplicó el test de rangos logarítmicos para estudiar las diferencias entre los grupos. En todos los casos se consideró que existían diferencias estadísticamente significativas cuando se obtuvieron valores de $p < 0.05$. El análisis se realizó utilizando el programa SPSS Statistic 21.0 for Mac.

3.7 Aspectos éticos

El estudio fue aprobado por el comité ético del Hospital Universitario de Salamanca y todos los pacientes firmaron el consentimiento informado antes de su inclusión en el estudio.

RESULTADOS

4.1 Características basales de la población

Entre Marzo de 2004 y Enero de 2006, 260 pacientes ingresaron en nuestro centro con el diagnóstico definitivo de IAMCEST y fueron incluidos en el estudio.

La edad media de presentación del IAMCEST fue de 69 ± 12 años, el 76 % de los pacientes eran varones y el 24 % mujeres. En cuanto a la distribución de los factores clásicos de riesgo cardiovascular, el 53 % tenían HTA, el 24 % DM tipo 2, el 34 % dislipemia y el 38 % consumían tabaco. Además, el 11 % de los pacientes tenían antecedentes familiares de IAM a edades precoces (< 60 años), el 5 % historia de IRC y el 9 % de enfermedad vascular periférica (EVP). Un 7 % de ellos tenían antecedentes de IM o revascularización coronaria y un 5 % de ACV. La prevalencia de IM evolucionado fue del 40 % (104 pacientes). En cuanto a la localización del IAM, la más frecuente fue la inferior (49 %), seguida de la anterior (40 %) y la lateral (11 %).

4.2 Análisis del polimorfismo Arg72Pro del gen P53

La distribución de las frecuencias genotípicas del polimorfismo Arg72Pro del gen P53 en los individuos incluidos en el estudio fue: 60 % Arg/Arg, 34 % Arg/Pro y 6 % Pro/Pro (Tabla 4).

Tabla 4: Frecuencias genotípicas

GENOTIPOS	N (%)
<i>Arg/Arg</i>	155 (60)
<i>Arg/Pro</i>	89 (34)
<i>Pro/Pro</i>	16 (6)

Arg (Arginina), Pro (Prolina).

En la tabla 5, se muestran las características demográficas y los datos clínicos de los pacientes incluidos en el estudio y su distribución según el polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53*.

Tabla 5. Características clínicas y demográficas de la población del estudio

	Polimorfismo <i>Arg72Pro</i> del gen <i>P53</i>				p
	Total	<i>Arg/Arg</i>	<i>Arg/Pro</i>	<i>Pro/Pro</i>	
Edad, m ± DE	69 ± 12	69 ± 12	71 ± 13	70 ± 13	0,71
Género (masculino), n (%)	197 (76)	118 (60)	67 (75)	12 (75)	0,90
IMC, m ± DE	27 ± 4	27 ± 5	26 ± 4	25 ± 2	0,26
AF de IAM precoz, n (%)	30 (11)	22 (14)	8 (9)	0 (0)	0,15
IM o revascularización previa, n (%)	18 (7)	12 (8)	5 (6)	1 (6)	0,81
Angina previa, n (%)	85 (35)	49 (33)	32 (40)	4 (25)	0,38
IM evolucionado, n (%)	104 (40)	59 (38)	38 (43)	7 (44)	0,74
HTA, n (%)	138 (53)	79 (51)	49 (55)	10 (62)	0,61
PAS (mmHg), m ± DE	132 ± 29	133 ± 31	132 ± 27	120 ± 18	0,20
PAD (mmHg), m ± DE	78 ± 18	78 ± 19	78 ± 17	69 ± 13	0,17
FC (l/min), m ± DE	77 ± 21	78 ± 21	75 ± 22	75 ± 15	0,45
DM tipo 2, n (%)	63 (24)	38 (24)	22 (25)	3 (19)	0,61
Dislipemia, n (%)	87 (34)	50 (32)	31 (35)	6 (37)	0,86
Tabaquismo, n (%)	98 (38)	57 (37)	34 (38)	7 (43)	0,85
Antecedentes de ACV, n (%)	12 (5)	9 (6)	2 (2)	1 (6)	0,42
IRC, n (%)	14 (5)	7 (5)	6 (7)	1 (6)	0,75
EVP, n (%)	23 (9)	13 (8)	8 (9)	2 (9)	0,70
Antiagregante previo, n (%)	85 (35)	49 (33)	32 (40)	4 (35)	0,38
FA al ingreso, n (%)	22 (8)	16 (10)	5 (6)	1 (6)	0,17

IMC: Índice de masa corporal; PAS: Presión arterial sistólica; PAD: Presión arterial diastólica; ACV: Accidente cerebrovascular; IAM: Infarto agudo de miocardio; IRC: Insuficiencia renal crónica; EVP: Enfermedad vascular periférica; FA: Fibrilación auricular.

Los datos analíticos, del IAM, ecocardiográficos y del procedimiento de revascularización coronaria se muestran en la tabla 6.

Tabla 6: Datos analíticos, del IAM, ecocardiográficos y del procedimiento de revascularización coronaria

	Total	Polimorfismo Arg72Pro del gen P53			p
		Arg/Arg	Arg/Pro	Pro/Pro	
Niveles pico de CK (U/l)	1399 [689-2654]	1654 [830-2886]	1155 [605-2550]	479 [250 -800]	0,005
Niveles pico de CK-MB (ng/ml)	97 [41-186]	112 [51-211]	77 [27-178]	20 [12-91]	0,005
Niveles pico Tropon. I (ng/ml)	40 [17-94]	45 [21-100]	37 [16-84]	11 [5 -35]	0,003
Glucosa (mg/dl), m ± DE	168 ± 62	165 ± 67	173 ± 81	169 ± 69	0,71
Hb (g/dl), m ± DE	14 ± 1,5	14 ± 1,6	14 ± 1,4	14 ± 1,5	0,43
Creatinina (mg/dl), m ± DE	1,1 ± 0,6	1,1 ± 0,6	1,1 ± 0,5	1,1 ± 0,6	0,95
LDL (mg/dl), m ± DE	121 ± 37	121 ± 37	120 ± 32	117 ± 37	0,90
HDL (mg/dl), m ± DE	44 ± 16	49 ± 16	45 ± 14	46 ± 16	0,21
PCR (mg/dl), m ± DE	1,7 ± 3	1,9 ± 3	1,5 ± 2	1,3 ± 2	0,55
Localización del IAM					0,97
- IAM anterior, n (%)	104 (40)	62 (40)	36 (40)	6 (37)	
- IAM inferior, n (%)	128 (49)	76 (49)	43 (48)	9 (56)	
- IAM lateral, n (%)	28 (11)	17 (11)	10 (11)	1 (6)	
Reperusión coronaria, n (%)	156 (60)	96 (62)	51 (57)	9 (56)	0,73
- Tratamiento fibrinolítico, n (%)	69 (44)	44 (46)	21 (41)	4 (44)	0,86
- Angioplastia primaria, n (%)	87 (56)	52 (54)	30 (59)	5 (56)	0,86
TIMI flow 0 inicial, n (%)	73 (84)	45 (86)	24 (83)	4 (75)	0,39
Colaterales grado 0 ^a , n (%)	78 (90)	47 (90)	26 (88)	5 (100)	0,36
TIMI flow 3 final, n (%)	84 (97)	49 (95)	30 (100)	5 (100)	0,46
Tiempo total de isquemia, (min)	240 [175 - 300]	220 [152 - 300]	240 [195 - 377]	170 [130 - 270]	0,44
FEVI post-infarto, (%)	55 [45 - 60]	55 [44 - 60]	57 [47 - 60]	60 [55 - 65]	0,01

^a Clasificación de Rentrop et al²⁴⁶. IAM: Infarto Agudo de Miocardio. TIMI: Thrombolysis in Myocardial Infarction²⁴¹. FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo.

En la tabla 7 se resume el tratamiento farmacológico recibido al alta hospitalaria.

Tabla 7. Tratamiento farmacológico al alta hospitalaria

	Total	Polimorfismo <i>Arg72Pro</i> del gen <i>P53</i>			p
		<i>Arg/Arg</i>	<i>Arg/Pro</i>	<i>Pro/Pro</i>	
Antiagregación, n (%)	225 (96)	142 (96)	78 (97)	15 (96)	0,85
Beta-bloqueantes, n (%)	162 (69)	95 (69)	57 (71)	10 (68)	0,48
IECA o ARA-II, n (%)	169 (72)	99 (72)	59 (74)	11 (72)	0,33
Estatina, n (%)	183 (78)	109 (79)	62 (77)	12 (75)	0,52

IECA: Inhibidor de la enzima convertora de la angiotensina; ARA II: Antagonistas del receptor de la angiotensina II.

Entre todas estas variables, encontramos diferencias estadísticamente significativas, entre los 3 grupos, en el tamaño del IAM y la FEVI post-infarto.

4.2.1 Polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53* y tamaño del infarto de miocardio

Se observó una asociación estadísticamente significativa entre los genotipos del polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53* y el tamaño del IM. Los niveles pico de CK (*Arg/Arg* 1654 [830 - 2886] vs. *Arg/Pro* 1155 [605 - 2550] vs. *Pro/Pro* 479 [250 - 800] U/L; $p < 0,01$), CK-MB (*Arg/Arg* 112 [51 - 211] vs. *Arg/Pro* 77 [27 - 178] vs. *Pro/Pro* 20 [12 - 91] ng/ml; $p < 0,01$) y Troponina I (*Arg/Arg* 45 [21 - 100] vs. *Arg/Pro* 37 [16 - 84] vs. *Pro/Pro* 11 [5 - 35] ng/ml; $p < 0,01$) fueron significativamente mayores en los pacientes con el genotipo *Arg/Arg* (Figuras 24, 25 y 26).

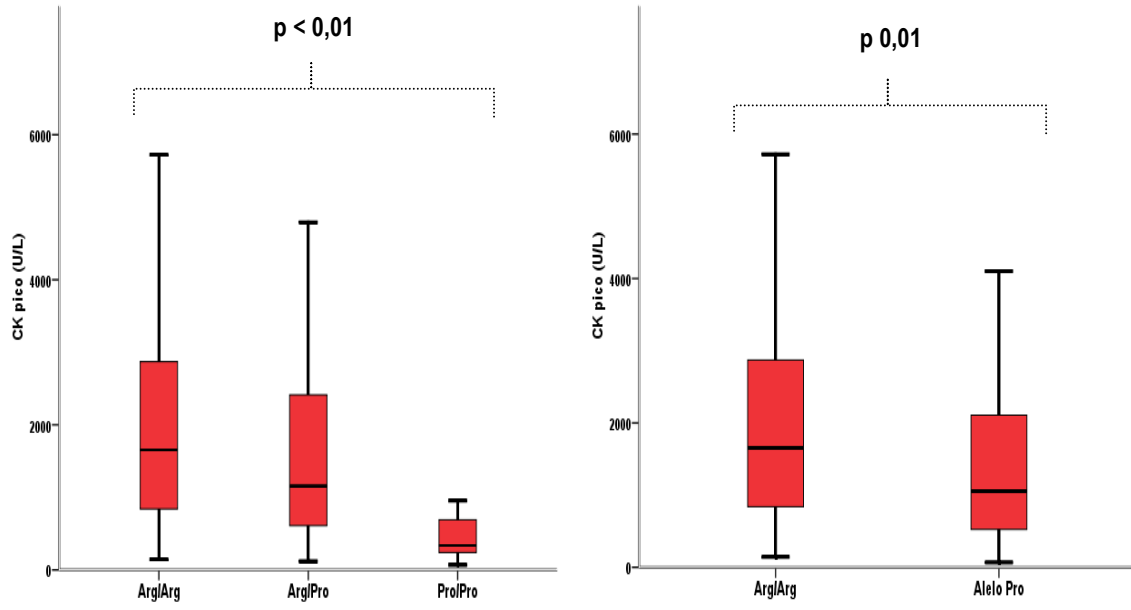


Figura 24. Niveles pico de CK (U/L) según los genotipos del polimorfismo Arg72Pro de P53. Arg: Arginina; Pro: Prolina. Alelo Pro (Arg/Pro + Pro/Pro)

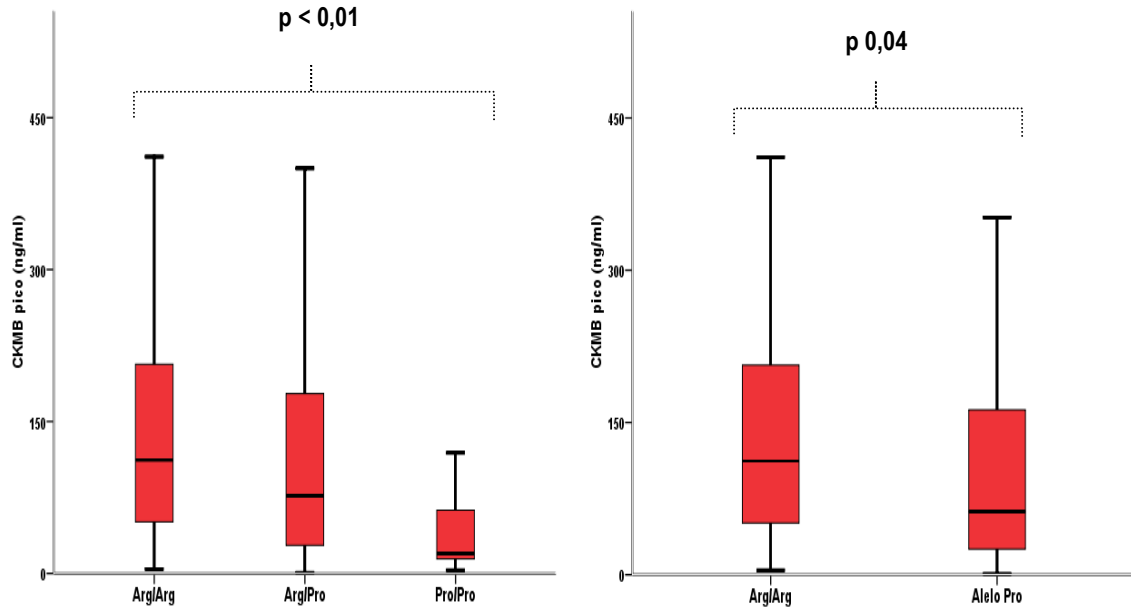


Figura 25. Niveles pico de CK-MB (ng/ml) según los genotipos del polimorfismo Arg72Pro de P53. Arg: Arginina; Pro: Prolina. Alelo Pro (Arg/Pro + Pro/Pro).

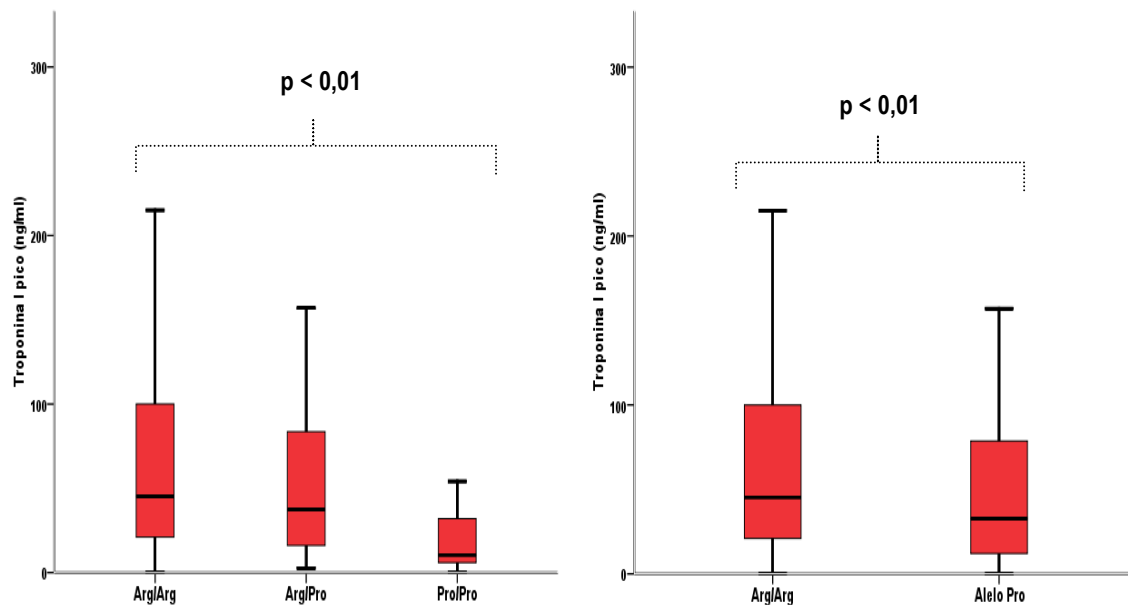


Figura 26. Niveles pico de Troponina I (ng/ml) según los genotipos del polimorfismo Arg72Pro de P53. Arg: Arginina; Pro: Prolina. Alelo Pro (Arg/Pro + Pro/Pro).

Se realizó un análisis univariante y posteriormente una regresión logística multivariante para determinar posibles predictores independientes del tamaño del IM. Tras incluir como covariables la edad, el género, la presencia de DM tipo 2, el genotipo *Arg/Arg*, la localización anterior del IAM y la FEVI post-infarto, las variables que resultaron ser predictoras independientes del tamaño del IM fueron el genotipo *Arg/Arg*, la localización anterior del infarto y la FEVI deprimida (Tablas 8 y 9).

Tabla 8. Características clínicas, del IAM, ecocardiográficas y genotípicas de la población del estudio según el tamaño del IM

	IAM no extenso	IAM extenso	p
Edad, m ± DE	69 ± 12	70 ± 13	0,42
Género (masculino), n (%)	146 (76)	51 (74)	0,67
HTA, n (%)	101 (53)	37 (54)	0,51
DM tipo 2, n (%)	51 (27)	12 (17)	0,08
Dislipemia, n (%)	69 (36)	18 (26)	0,13
Tabaquismo, n (%)	72 (38)	26 (37)	0,91
IRC, n (%)	11 (6)	3 (4)	0,65
Angina previa, n (%)	66 (34)	19 (27)	0,21
IM o revascularización previa, n (%)	15 (8)	3 (4)	0,32
IAM anterior, n (%)	34 (49)	70 (36)	0,02
FC al ingreso (lpm), m ± DE	76 ± 21	78 ± 21	0,41
Afectación de 3 vasos, n (%)	14 (31)	8 (27)	0,44
Angioplastia primaria, n (%)	54 (54)	33 (58)	0,68
Fibrinólisis, n (%)	45 (45)	24 (42)	0,68
FEVI deprimida, n (%)	28 (15)	28 (41)	< 0,01
Genotipo Arg/Arg, n (%)	104 (54)	51 (74)	< 0,01

DM: Diabetes Mellitus; IRC: Insuficiencia renal crónica; FC: Frecuencia cardiaca; IAM: Infarto agudo de miocardio; FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo.

Tabla 9. Análisis multivariante de los factores predictivos del tamaño del IM

	OR	IC 95 %	p
Edad	0,84	0,4 – 1,8	0,66
Género (masculino)	0,87	0,4 – 1,7	0,70
DM tipo 2	0,48	0,2 – 1,03	0,06
Genotipo Arg/Arg	2,1	1,3 – 3,9	0,02
IAM anterior	1,5	1,1 – 2,7	0,04
FEVI deprimida	3,4	1,7 – 6,7	< 0,01

4.2.2 Polimorfismo Arg72Pro del gen P53 y función ventricular izquierda post-infarto

La FEVI post-infarto (*Arg/Arg* 55 [44 - 60] vs. *Arg/Pro* 57 [47 - 60] vs. *Pro/Pro* 60 [55 - 65] %; $p < 0.01$) fue significativamente más baja en los pacientes con el genotipo *Arg/Arg* (Figura 27).

Se realizó un análisis univariante y posteriormente una regresión logística multivariante para determinar posibles predictores independientes de la FEVI post-infarto. Tras incluir como covariables la edad, el género, el genotipo *Arg/Arg*, el tamaño del IAM y la localización anterior del IAM, las variables que resultaron ser predictoras independientes de la FEVI post-infarto fueron el genotipo *Arg/Arg*, la localización anterior del IAM y el tamaño del IM (Tablas 10 y 11).

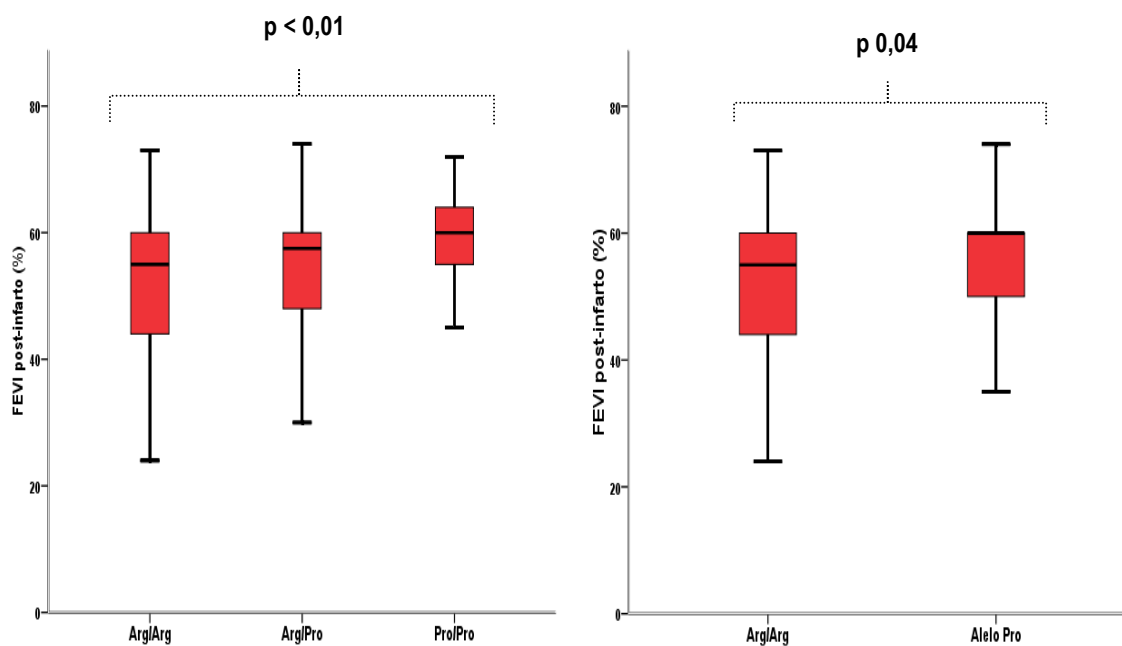


Figura 27. FEVI post-infarto (%) según los genotipos del polimorfismo Arg72Pro de P53. Arg: Arginina; Pro: Prolina. Alelo Pro (Arg/Pro + Pro/Pro).

Tabla 10. Características clínicas, del IAM, ecocardiográficas y genotípicas de la población del estudio según la FEVI post-infarto

	FEVI deprimida	FEVI preservada	p
Edad, m ± DE	71 ± 13	69 ± 13	0,33
Género (masculino), n (%)	40 (71)	157 (77)	0,21
HTA, n (%)	33 (59)	105 (51)	0,32
DM tipo 2, n (%)	17 (30)	46 (22)	0,22
Dislipemia, n (%)	17 (28)	70 (34)	0,31
IRC, n (%)	4 (7)	10 (5)	0,51
Angina previa, n (%)	18 (34)	67 (35)	0,91
IM o revascularización previa, n (%)	3 (5)	15 (7)	0,60
IAM anterior, n (%)	30 (54)	74 (36)	0,01
FC al ingreso (lpm), m ± DE	83 ± 23	76 ± 20	0,18
Afectación de 3 vasos, n (%)	5 (36)	17 (28)	0,39
Angioplastia primaria, n (%)	14 (54)	73 (56)	0,82
Fibrinólisis, n (%)	12 (46)	57 (44)	0,82
IAM extenso, n (%)	28 (50)	41 (20)	< 0,01
Genotipo Arg/Arg, n (%)	46 (82)	109 (53)	< 0,01

HTA: Hipertensión arterial; DM: Diabetes Mellitus; IRC: Insuficiencia renal crónica; FC: Frecuencia cardíaca; IAM: Infarto agudo de miocardio. FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo.

Tabla 11. Análisis multivariante de los factores predictivos de la FEVI post-infarto

	OR	IC 95 %	p
Edad	1,5	0,6 – 3,3	0,33
Género (masculino)	0,6	0,29 – 1,2	0,20
Genotipo Arg/Arg	3,8	1,7 - 8,3	< 0,01
IAM anterior	1,9	1,01 - 3,7	0,04
IAM extenso	3,5	1,7 – 7	< 0,01

4.2.3 Análisis del tamaño del infarto y la función ventricular izquierda post-infarto en el subgrupo de pacientes con reperusión coronaria precoz

En la Figura 28, se muestran los resultados del análisis del tamaño del IM y la FEVI post-infarto en los pacientes con IAMCEST sometidos a reperusión coronaria (fibrinólisis o AP).

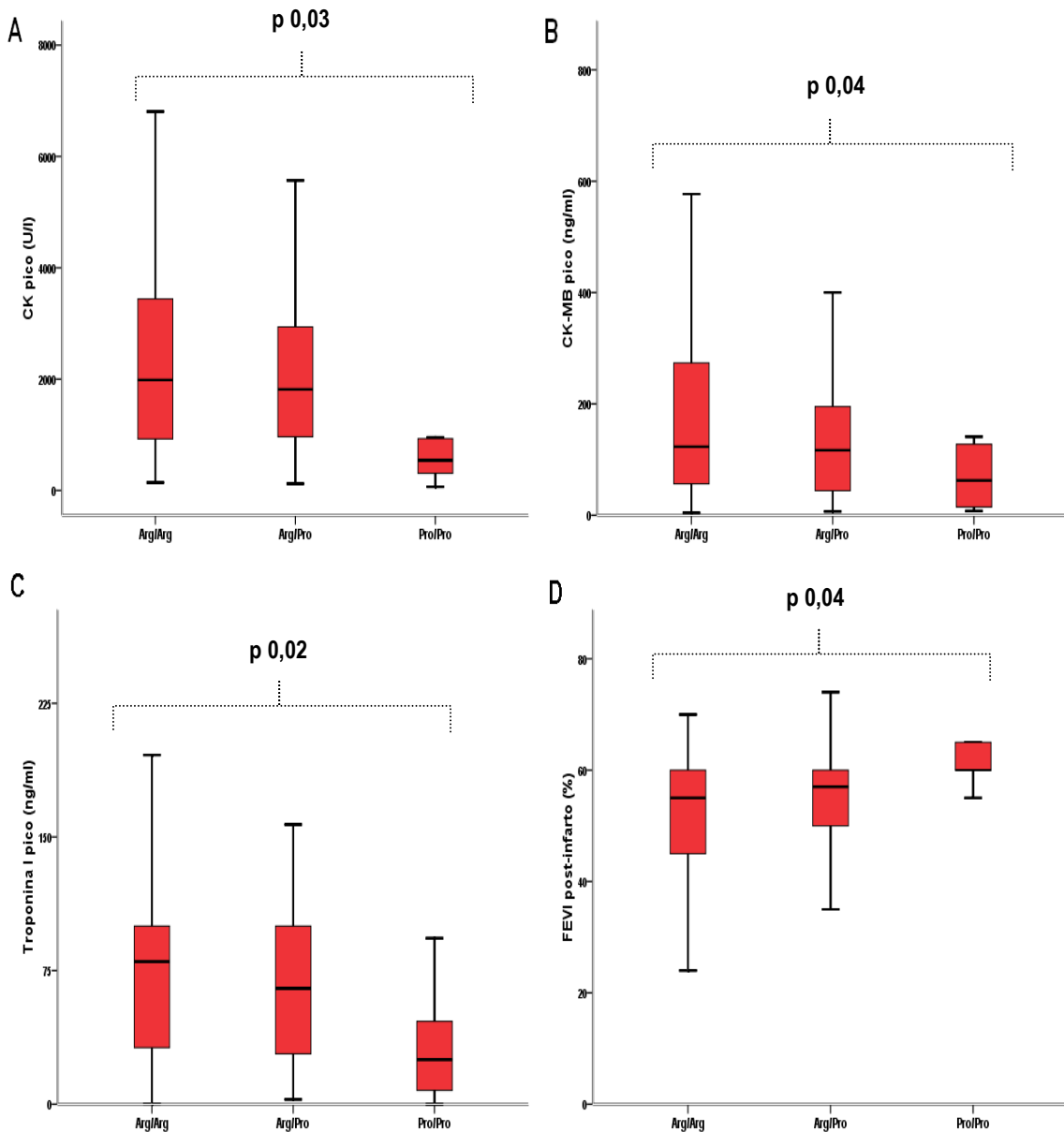


Figura 28. Subgrupo de pacientes con IAMCEST sometidos a reperusión coronaria (fibrinólisis o AP) según los genotipos del polimorfismo Arg72Pro del gen P53. Arg: Arginina; Pro: Prolina

4.2.4 Polimorfismo Arg72Pro del gen P53 y desarrollo de insuficiencia cardiaca post-infarto

Analizamos la relación entre los distintos genotipos del polimorfismo Arg72Pro del gen P53 y la aparición de IC intrahospitalaria (IC-IH) y a medio-largo plazo (IC tardía).

La prevalencia de IC-IH fue del 27 % (71 pacientes). De ellos, el 66 % presentaba IC en el momento del ingreso y el resto (34 %) la desarrolló durante la fase hospitalaria.

En la tabla 12 se representa la frecuencia de IC-IH según los distintos genotipos del polimorfismo Arg72Pro del gen P53. Se observó asociación estadísticamente significativa entre dichos genotipos y el desarrollo de IC-IH (p 0,02).

Tabla 12. Frecuencia de IC intrahospitalaria

GENOTIPOS	IC-IH
<i>Arg/Arg</i>	49 (31)
<i>Arg/Pro</i>	22 (24)
<i>Pro/Pro</i>	0 (0)

Los resultados se expresan como n (%).

Se realizó un análisis univariante y posteriormente una regresión logística multivariante para determinar posibles predictores independientes del desarrollo de IC-IH. Tras incluir como covariables la edad, el género, la HTA, el genotipo Arg/Arg, el tamaño del IAM, la localización anterior del IAM y la FEVI post-infarto, las variables que resultaron ser predictoras independientes de la IC-IH fueron la HTA y la FEVI post-infarto (Tablas 13 y 14).

Tabla 13. Características clínicas, del IAM, ecocardiográficas y genotípicas de la población del estudio según la presencia o no de IC-IH

	IC-IH	No IC-IH	p
Edad, m ± DE	72 ± 10	69 ± 13	0,30
Género (masculino), n (%)	53 (75)	144 (76)	0,79
HTA, n (%)	46 (65)	92 (49)	0,02
DM tipo 2, n (%)	21 (30)	42 (22)	0,21
Dislipemia, n (%)	20 (27)	67 (36)	0,12
IRC, n (%)	6 (8)	8 (4)	0,17
Angina previa, n (%)	25 (36)	66 (35)	0,46
IM o revascularización previa, n (%)	2 (3)	16 (8)	0,11
IAM anterior, n (%)	35 (51)	68 (36)	0,03
FC al ingreso (lpm), m ± DE	87 ± 26	77 ± 23	0,12
Afectación de 3 vasos, n (%)	9 (33)	13 (27)	0,37
Angioplastia primaria, n (%)	29 (66)	58 (52)	0,11
Fibrinólisis, n (%)	15 (34)	54 (48)	0,11
CK pico, (U/L)	1890 [906 - 3199]	1152 [616 - 2394]	< 0,01
CK-MB pico, (ng/ml)	141 [58 - 268]	89 [33 - 153]	< 0,01
Troponina I pico, (ng/ml)	82 [26 - 105]	33 [15 - 78]	< 0,01
IAM extenso, n (%)	28 (39)	41 (22)	< 0,01
FEVI post-infarto, (%)	44 [38 - 57]	58 [50 - 60]	< 0,01
FEVI deprimida, n (%)	30 (54)	26 (46)	< 0,01
Genotipo Arg/Arg, n (%)	49 (69)	106 (56)	0,04

HTA: Hipertensión arterial; DM: Diabetes Mellitus; IRC: Insuficiencia renal crónica; FC: Frecuencia cardíaca; IAM: Infarto agudo de miocardio. FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo.

Tabla 14. Análisis multivariante de los factores predictivos del desarrollo de IC-IH

	OR	IC 95 %	p
Edad	0,46	0,64 – 2,61	0,50
Género (masculino)	1,33	0,65 – 2,72	0,43
HTA	2,07	1,1 – 3,58	0,02
IAM anterior	1,59	0,87 – 2,91	0,13
IAM extenso	1,69	0,87 – 3,28	0,12
Genotipo <i>Arg/Arg</i>	1,35	0,71 – 2,59	0,26
FEVI deprimida	3,45	1,74 – 6,85	< 0,001

También, se llevó a cabo seguimiento de todos los pacientes que fueron dados de alta (n: 234). Durante el mismo (mediana 16 meses), el 10 % de los pacientes con el genotipo *Arg/Arg* ingresaron por IC, frente al 4 % que eran portadores del alelo Pro (*Arg/Pro* + *Pro/Pro*). No hubo diferencias estadísticamente significativas en el número de meses de seguimiento en los distintos grupos.

El análisis de supervivencia reveló una tasa de ingresos por IC mayor en el grupo de pacientes con el genotipo *Arg/Arg*, tanto al analizar los 3 grupos por separado como al compararlo con el grupo portador del alelo Pro (Figura 29).

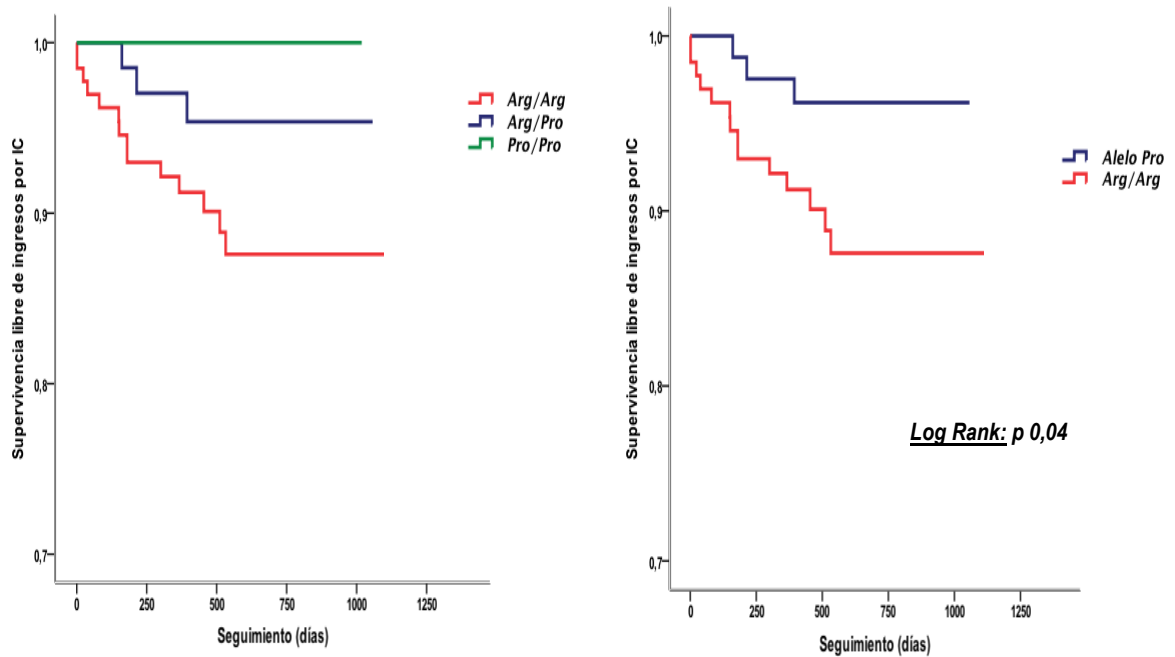


Figura 29. Supervivencia libre de ingresos hospitalarios por IC según los genotipos del polimorfismo Arg72Pro del gen P53.

Se realizó un análisis univariante y posteriormente una regresión logística multivariante para determinar posibles predictores independientes del desarrollo de IC tardía. Tras incluir como covariables la edad, el género, el genotipo *Arg/Arg* y la FEVI post-infarto, las variables que resultaron ser predictoras independientes de la IC tardía fueron el genotipo *Arg/Arg* y la FEVI deprimida (Tablas 15 y 16).

Tabla 15 .Características clínicas y demográficas de la población del estudio según la presencia o no de IC tardía.

	IC tardía	No IC tardía	p
Edad, m ± DE	73 ± 12	70 ± 13	0,13
Género (masculino), n (%)	12 (71)	166 (76)	0,60
HTA, n (%)	10 (59)	110 (50)	0,50
DM tipo 2, n (%)	3 (18)	50 (23)	0,46
Dislipemia, n (%)	5 (29)	78 (36)	0,59
Tabaquismo, n (%)	5 (29)	89 (41)	0,35
IRC, n (%)	1 (6)	6 (3)	0,46
Angina previa, n (%)	7 (50)	70 (34)	0,21
IM o revascularización previa, n (%)	2 (12)	15 (7)	0,45
IAM anterior, n (%)	8 (47)	84 (38)	0,48
Angioplastia primaria, n (%)	5 (83)	75 (55)	0,17
Fibrinólisis, n (%)	1 (17)	62 (45)	0,17
IAM extenso, n (%)	5 (29)	55 (25)	0,70
FEVI deprimida, n (%)	7 (41)	38 (17)	0,01
Genotipo Arg/Arg, n (%)	14 (82)	125 (57)	0,04

HTA: Hipertensión arterial; DM: Diabetes Mellitus; IRC: Insuficiencia renal crónica; FC: Frecuencia cardíaca; IAM: Infarto agudo de miocardio. FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo.

Tabla 16. Análisis multivariante de los factores predictivos del desarrollo de IC tardía

	OR	IC 95 %	p
Edad	2,83	0,8 – 7,2	0,07
Género (masculino)	0,76	0,22 – 2,62	0,67
Genotipo Arg/Arg	3,9	1,1 – 12,1	0,03
FEVI deprimida	2,8	1,01 - 8,8	0,04

4.3 Análisis del polimorfismo T309G del gen MDM2

La distribución de las frecuencias genotípicas del polimorfismo T309G del gen MDM2 en los individuos incluidos en el estudio fue: 44 % TT, 43 % TG y 13 % GG (Tabla 17).

Tabla 17: Frecuencias genotípicas

GENOTIPOS	n (%)
TT	115 (44)
TG	112 (43)
GG	33 (13)

T (Timina); G (Guanina)

En la tabla 18, se muestran las características demográficas y los datos clínicos de los pacientes incluidos en el estudio según el polimorfismo T309G del gen MDM2.

Tabla 18. Características clínicas y demográficas de la población del estudio según el polimorfismo T309G del gen MDM2

	Polimorfismo T309G del gen MDM2				p
	Total	TT	TG	GG	
Edad, m ± DE	69 ± 12	69 ± 13	70 ± 12	70 ± 13	0,77
Género (masculino), n (%)	197 (76)	90 (78)	83 (74)	24 (73)	0,69
IMC, m ± DE	27 ± 4	27 ± 4	27 ± 5	26 ± 4	0,26
AF de IAM precoz, n (%)	30 (11)	13 (11)	13 (12)	4 (12)	0,98
IM o revascularización previa, n (%)	18 (7)	8 (7)	8 (7)	2 (6)	0,97
Angina previa, n (%)	85 (35)	38 (35)	38 (37)	9 (28)	0,64
IM evolucionado, n (%)	104 (40)	44 (38)	47 (42)	13 (39)	0,84
HTA, n (%)	138 (53)	55 (48)	61 (54)	22 (67)	0,15
PAS (mmHg), m ± DE	132 ± 29	131 ± 29	134 ± 28	130 ± 29	0,60
PAD (mmHg), m ± DE	78 ± 18	77 ± 19	78 ± 17	78 ± 17	0,93
FC (l/min), m ± DE	77 ± 21	76 ± 22	78 ± 19	75 ± 23	0,80
DM tipo 2, n (%)	63 (24)	24 (21)	33 (29)	6 (18)	0,22
Dislipemia, n (%)	87 (34)	41 (36)	33 (29)	13 (39)	0,45
Tabaquismo, n (%)	98 (38)	48 (42)	43 (38)	7 (21)	0,15
Antecedentes de ACV, n (%)	12 (5)	6 (5)	6 (5)	0 (0)	0,40
IRC, n (%)	14 (5)	5 (4)	6 (5)	3 (9)	0,56
EVP, n (%)	23 (9)	10 (9)	9 (8)	4 (12)	0,49
Antiagregante previo, n (%)	85 (35)	41 (36)	37 (33)	7 (21)	0,34
FA al ingreso, n (%)	22 (8)	10 (9)	9 (8)	3 (9)	0,32

IMC: Índice de masa corporal; ACV: Accidente cerebrovascular; IAM: Infarto agudo de miocardio; IRC: Insuficiencia Renal crónica; EVP: Enfermedad vascular periférica; FA: Fibrilación auricular.

Los datos analíticos, del IAM, ecocardiográficos y del procedimiento de revascularización coronaria se muestran en la tabla 19.

Tabla 19: Datos analíticos, del IAM, ecocardiográficos y del procedimiento de revascularización coronaria

	Polimorfismos T309G del gen MDM2				p
	Total	TT	TG	GG	
Niveles pico de CK (U/L)	1399 [689-2654]	1590 [791-2823]	1167 [599-2144]	1479 [540 -2788]	0,73
Niveles pico de CK-MB (ng/ml)	97 [41-186]	101 [41-202]	91 [41-183]	75 [29-181]	0,60
Niveles pico Troponina I (ng/ml)	40 [17-94]	45 [19-100]	36 [15-91]	45 [15 -95]	0,96
Glucosa al ingreso (mg/dl)	168 ± 62	167 ± 65	173 ± 78	157 ± 78	0,52
Hb al ingreso (g/dl)	14 ± 1,5	14 ± 1,5	14 ± 1,6	14 ± 1,6	0,78
Creatinina al ingreso (mg/dl)	1,1 ± 0,6	1,1 ± 0,5	1,1 ± 0,6	1,1 ± 0,4	0,84
LDL (mg/dl)	121 ± 37	121 ± 36	122 ± 37	114 ± 38	0,54
HDL (mg/dl)	48 ± 15	48 ± 15	47 ± 15	48 ± 17	0,80
PCR (mg/dl)	1,7 ± 2,7	1,4 ± 2,1	1,9 ± 3,2	1,6 ± 3,3	0,36
Localización del IAM					0,54
- IAM anterior, n (%)	104 (40)	45 (39)	45 (40)	14 (42)	
- IAM inferior, n (%)	128 (49)	60 (52)	55 (49)	13 (39)	
- IAM lateral, n (%)	28 (11)	10 (9)	12 (11)	6 (18)	
Reperusión coronaria , n (%)	156 (60)	71 (62)	65 (58)	20 (61)	0,84
- Tratamiento fibrinolítico, n (%)	69 (44)	32 (45)	31 (48)	6 (30)	0,37
- Angioplastia primaria , n (%)	87 (56)	39 (55)	34 (52)	14 (70)	0,37
TIMI flow 0 inicial, n (%)	73 (84)	33 (84)	30 (89)	10 (73)	0,27
Colaterales grado 0 ^a , n (%)	78 (90)	35 (89)	31 (90)	12 (84)	0,31
TIMI flow 3 final n (%)	84 (97)	38 (97)	32 (96)	14 (100)	0,83
Tiempo total de isquemia (min)	240 [175-300]	240 [170-300]	240 [180-277]	220 [150 -300]	0,77
FEVI post-infarto (%)	55 [45-60]	55 [44-60]	55 [45-60]	60 [55-62]	0,07

^a Clasificación de Rentrop et al ²⁴⁶. IAM: Infarto Agudo de Miocardio. TIMI: Thrombolysis in Myocardial Infarction ²⁴¹. FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo.

En la tabla 20 se resume el tratamiento farmacológico recibido al alta hospitalaria.

Tabla 20. Tratamiento farmacológico al alta hospitalaria

	Total	Polimorfismo T309G del gen MDM2			p
		TT	TG	GG	
Antiagregación, n (%)	225 (96)	100 (97)	96 (96)	29 (96)	0,80
Beta-bloqueantes, n (%)	162 (69)	73 (70)	68 (68)	21 (69)	0,55
IECA o ARA-II, n (%)	169 (72)	75 (73)	71 (71)	23 (73)	0,42
Estatinas, n (%)	183 (78)	80 (78)	79 (79)	24 (76)	0,51

IECA: Inhibidor de la enzima convertora de la angiotensina; ARA II: Antagonistas del receptor de la angiotensina II.

4.4 Polimorfismo T309G del gen MDM2, tamaño del infarto de miocardio y función ventricular izquierda post-infarto

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tamaño del IAM entre los distintos genotipos del polimorfismo T309G del gen MDM2 (Tabla 19). En relación a la FEVI post-infarto, se observó una tendencia hacia la significación estadística (p 0,07, Figura 30 A). Al analizar los pacientes con el genotipo GG y compararlos con los portadores del alelo T ($TT+TG$), encontramos que la FEVI fue significativamente mayor en el primer grupo (p 0,04, Figura 30 B).

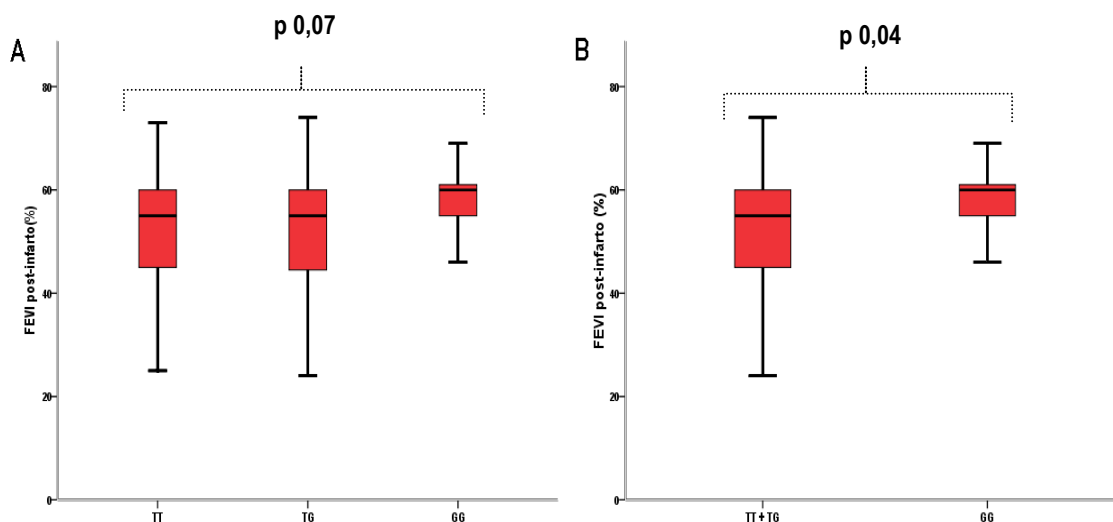


Figura 30. FEVI post-infarto (%) según los genotipos del polimorfismo T309G del gen MDM2.

4.5 Polimorfismo T309G del gen MDM2 y desarrollo de insuficiencia cardiaca post-infarto

Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el desarrollo de IC-IH (Tabla 21, p 0,7) ni en en la aparición de IC tardía (Figura 31, p 0,11) entre los distintos genotipos del polimorfismo *T309G* del gen *MDM2*.

Tabla 21. Frecuencia de IC intrahospitalaria

GENOTIPOS	IC-IH
TT	29 (25)
TG	33 (29)
GG	9 (27)

Los resultados se expresan como n (%).

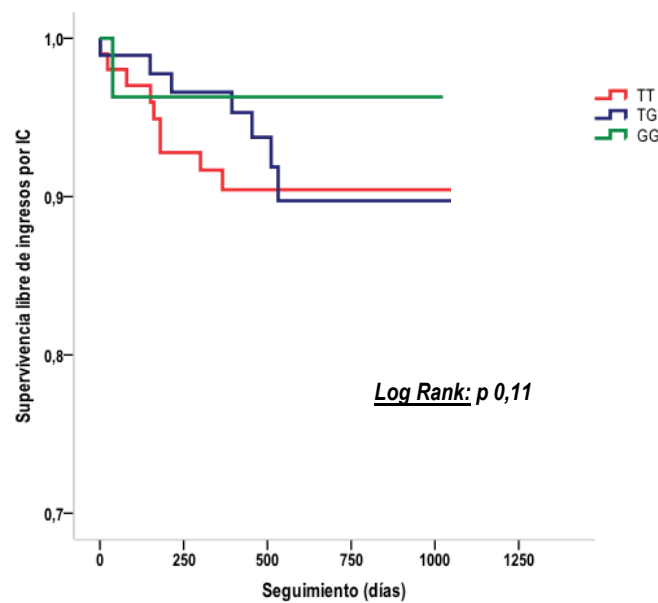


Figura 31. Supervivencia libre de ingresos hospitalarios por IC según los genotipos del polimorfismo *T309G* del gen *MDM2*

4.6 Efecto combinado de los polimorfismos Arg72Pro del gen P53 y T309G del gen MDM2 en el tamaño del infarto, la función ventricular izquierda post-infarto y el desarrollo de insuficiencia cardiaca

Se analizó el efecto combinado (interacción) de los polimorfismos Arg72Pro de P53 y T309G de MDM2 en el tamaño del IM, la FEVI post-infarto y el desarrollo de IC-IH e IC-tardía. Para ello, se asociaron los pacientes portadores de los genotipos Arg/Arg y TT (variantes con mayor susceptibilidad a la apoptosis) y se compararon con los demás grupos genotípicos. Los resultados se muestran en la tabla 22.

Tabla 22. Datos clínicos, del IAM y ecocardiográficos

	Polimorfismos Arg72Pro y T309G		
	Arg/Arg + TT	Resto de genotipos	p
CK pico, (U/L)	1723 [867-2954]	1167 [584-2550]	0,25
CK-MB pico, (ng/ml)	117 [50-244]	84 [32-179]	0,03
Troponina I pico, (ng/ml)	44 [19-100]	38 [15-85]	0,35
FEVI post-infarto, (%)	55 [44-60]	55 [45-60]	0,43
IC-IH, n (%)	23 (30)	48 (26)	0,29

CK: Creatin-Kinasa; CK-MB: Creatin-Kinasa isoforma MB; FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo; IC: Insuficiencia cardiaca.

Tan sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles pico de CK-MB, que fueron mayores en los pacientes portadores de los genotipos Arg/Arg + TT (Figura 32). No obstante, observamos una tendencia hacia la significación estadística en el desarrollo de IC tardía (Figura 33).

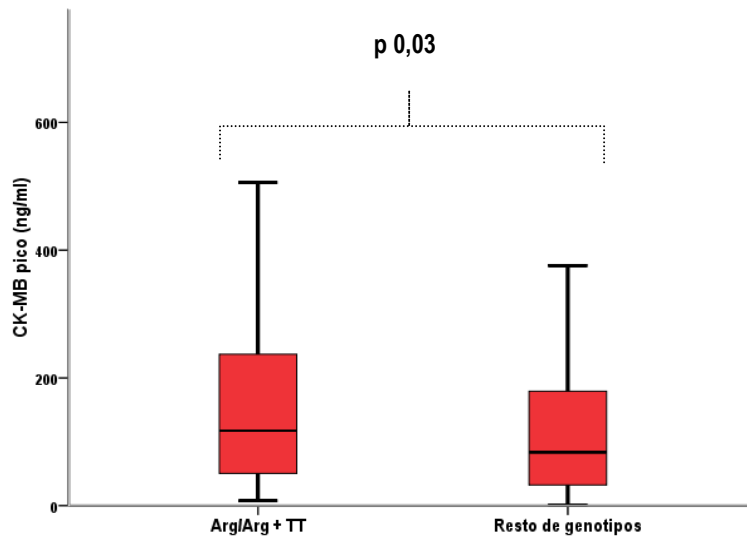


Figura 32. Niveles pico de CK-MB (ng/ml) según los genotipos de los polimorfismos Arg72Pro del gen P53 y T309G del gen MDM2.

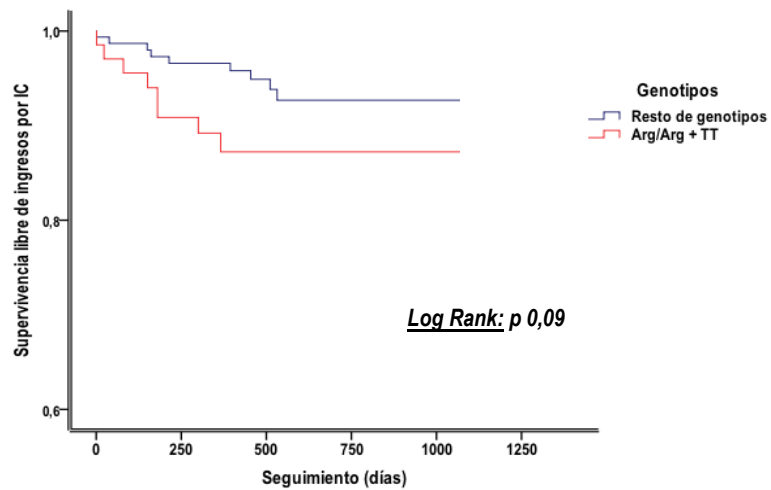


Figura 33. Supervivencia libre de ingresos hospitalarios por IC según los genotipos de los polimorfismos Arg72Pro del gen P53 y T309G del gen MDM2.

DISCUSIÓN

En el momento actual, a pesar de que se conocen numerosos factores pronósticos relacionados con el IAM, éstos no explican un elevado porcentaje de variaciones en la evolución de estos pacientes. Probablemente, entre otros factores, los genéticos tengan un destacado papel, debido a que pueden crear situaciones de susceptibilidad que hacen más probable el desarrollo de otras enfermedades y/o más complicaciones tras un IAM.

El presente trabajo demostró que el polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53*, y por ende el fenómeno de apoptosis, tiene un destacado papel en la fisiopatología del IAM. Concretamente, el genotipo *Arg/Arg* del codón 72 del gen *P53* se asoció, de forma independiente, con mayor extensión del IAM, menor FEVI post-infarto y mayor riesgo de desarrollar IC.

Por otra parte, no se encontró una asociación significativa entre el polimorfismo *T309G* del gen *MDM2* aislado ni combinado con el *Arg72Pro* de *P53* y el tamaño del IM, la función ventricular izquierda post-infarto y el desarrollo de IC.

5.1 PREDICTORES INDEPENDIENTES DEL TAMAÑO DEL INFARTO, LA FUNCIÓN VENTRICULAR IZQUIERDA POST-INFARTO Y EL DESARROLLO DE INSUFICIENCIA CARDIACA

5.1.1 Tamaño del infarto agudo de miocardio

Nuestro trabajo demostró que el tamaño del IM fue un factor predictor independiente de la FEVI post-infarto.

El pronóstico tras un IAMCEST viene determinado fundamentalmente por la presencia o no de disfunción ventricular izquierda post-infarto ²⁴⁷. La FEVI estimada al alta hospitalaria, ha sido uno de los predictores independientes más potentes de mortalidad a corto y largo plazo en diferentes estudios ²⁴⁸. Además, aunque en la era de la reperfusión coronaria la supervivencia tras un IAMCEST ha aumentado significativamente (al limitar la extensión del IM), la FEVI post-infarto sigue siendo un fuerte predictor pronóstico ⁹⁹.

Existe una estrecha relación entre la extensión del IAM y la FEVI post-infarto ⁷¹. Así, un IAM extenso se asocia, generalmente, con peor función ventricular izquierda post-infarto, mayor riesgo de complicaciones y peor pronóstico, de ahí la importancia de limitar al máximo el tamaño del infarto.

Por tanto, la determinación de la FEVI post-infarto está considerada como un método primario para estratificar el riesgo tras un IAMCEST. Actualmente, las guías de práctica clínica recomiendan cuantificar la FEVI, previo al alta hospitalaria, en todo paciente con un IAMCEST ²⁴⁹.

5.1.2 Infarto de miocardio de localización anterior

En nuestro estudio, la localización anterior del IAM se asoció de forma independiente con mayor tamaño del IAM y peor FEVI post-infarto.

Está demostrado que los pacientes con IAM (con o sin onda Q) de localización anterior tienen más complicaciones durante la hospitalización y mayor mortalidad que aquellos con IM en otras localizaciones ²⁵⁰⁻²⁵⁴. Un amplio estudio que incluyó más de 1000 pacientes con IAMCEST tratados con ACTP primaria ²⁵⁵, demostró que los pacientes con infartos en la arteria descendente anterior (IAM anteriores), tenían menor supervivencia y peor FEVI a los 3 años que aquellos con lesiones en otras arterias epicárdicas. Estas diferencias se han atribuido, en otras cosas, a la mayor prevalencia de FRCV (más HTA y DM tipo 2) entre los pacientes que tienen un IAM anterior ²⁵⁶. Además, dado que la arteria coronaria descendente anterior suele irrigar la mayor parte del miocardio, la causa de la peor evolución clínica puede deberse al mayor tamaño de los IAM anteriores ^{78, 106}.

También, por distintos motivos físicos o geométricos, los IAM anteriores tienden a desarrollar más fácilmente expansión de la cicatriz del infarto y, eventualmente, aneurismas ventriculares ²⁹. Esto haría que, por un lado, a igual territorio necrosado la función ventricular fuera menor y, por otro, aumentara la incidencia de rotura de la pared libre ventricular ²⁵⁷.

5.1.3 Fracción de eyección del ventrículo izquierdo

En nuestro trabajo, la FEVI post-infarto fue un factor predictor independiente del tamaño del IM y de la aparición de IC-IH e IC tardía.

Numerosos estudios clínicos y experimentales han demostrado que existe una estrecha relación entre el tamaño del IM y la FEVI post-infarto ²⁵⁸⁻²⁶⁰. Es conocido que la oclusión aguda de la luz coronaria conduce rápidamente a la interrupción de la actividad metabólica y funcional de los miocitos, lo que produce una alteración tanto de la relajación como de la contracción del territorio miocárdico afectado ²⁶¹. Así, el grado de disfunción ventricular vendrá fundamentalmente determinado por la extensión del territorio cardíaco afectado por el infarto ^{89, 90}.

Por otro lado, la IC sigue siendo una complicación frecuente tras un IAM y es un factor importante que influye en la morbimortalidad a corto y largo plazo ¹²³. A diferencia de la IC precoz, que aparece a los pocos días del IAM y está estrechamente relacionada con la extensión del IM, el desarrollo de IC tardía está más asociado con el fenómeno de remodelado ventricular post-infarto ^{161, 262-264}.

Al igual que nosotros, otros investigadores han demostrado que la FEVI post-infarto es un predictor importante del desarrollo de IC intrahospitalaria ²³⁷. También, existen en la literatura varios estudios multicéntricos y aleatorizados que han analizado los predictores de IC tardía post-infarto con resultados similares a los nuestros. Así, en el estudio CARE (Cholesterol and Recurrent Events) ¹¹⁵, que investigó la aparición tardía de IC en 3.860 pacientes dados de alta tras un IAM, la FEVI fue un importante predictor independiente de la aparición de IC. Mismos resultados fueron encontrados en un estudio del GISSI (Grupo Italiano para el Estudio de la Supervivencia en el Infarto de Miocardio) ²⁶⁵, que incluyó a más de 8.000 pacientes con IAM y en el VALIANT (Valsartan in Acute Myocardial Infarction trial) ²⁶⁶, con más de 5.500 pacientes analizados.

5.1.4 Hipertensión arterial

La HTA es un factor de riesgo cardiovascular clásico, responsable de una morbimortalidad cardiovascular elevada ²⁶⁷. En nuestro estudio, la presencia de IC-IH fue significativamente mayor en los pacientes con historia de HTA. Además, la HTA fue un factor predictor independiente de IC-IH.

Datos derivados de estudios epidemiológicos, registros y ensayos clínicos, han demostrado consistentemente que la IC precoz tras un IAM se presenta con mayor frecuencia en pacientes con HTA y que esta última es un factor predictor independiente de su aparición ^{110, 113, 268-270}.

La HTA es un factor de riesgo reconocido para el desarrollo de IC ²⁷¹. En el estudio Framingham, de los 392 pacientes que desarrollaron IC, el 91 % eran hipertensos, siendo el riesgo de desarrollar IC en los hipertensos doble entre los hombres y el triple entre las mujeres con respecto a los normotensos, y aumentando la incidencia de IC al aumentar la edad y el grado de severidad de la hipertensión ²⁷². En estudios realizados en España, la HTA está presente en un 71 % de los pacientes diagnosticados de IC ²⁷³.

La HTA desarrolla IC por una doble vía, la cardiopatía isquémica y la HVI. Así, la HTA es un factor clásico de riesgo coronario y puede conducir, sobre todo cuando se asocia a otros factores de riesgo cardiovascular, al desarrollo de un evento coronario agudo y el desarrollo de disfunción ventricular izquierda. Por otra parte, la HTA produce hipertrofia ventricular izquierda, que también puede contribuir al desarrollo de isquemia miocárdica, pero que además origina una alteración de la función miocárdica, primero diastólica y posteriormente sistólica.

5.2 LA APOPTOSIS EN EL INFARTO DE MIOCARDIO

La apoptosis se define como el conjunto de reacciones bioquímicas que tienen lugar en la célula y que concluyen con su muerte de una forma ordenada y “silenciosa”, evitando así la respuesta inflamatoria local que tiene lugar en la necrosis cuando la célula, al romperse, libera su contenido al medio.

En el momento actual, sabemos que la apoptosis interviene activamente en la fisiopatología de numerosas enfermedades, entre las que destacan las neoplásicas y las cardiovasculares ^{143, 144}. Dentro de estas últimas, se ha puesto de manifiesto la presencia de importantes fenómenos apoptóticos en distintos trastornos, como el IAM ^{156, 157}, la miocardiopatía dilatada ¹⁵⁰, la cardiopatía hipertensiva ¹⁵¹ y el rechazo asociado a los trasplantes cardiacos ¹⁵².

En el contexto del IAM, es conocido que un porcentaje importante de la muerte celular que tiene lugar tras la oclusión coronaria aguda es por necrosis. Este hecho, podría hacernos pensar que la apoptosis no tiene una participación significativa en este proceso; sin embargo, estudios realizados en humanos y en animales han demostrado que la muerte de los cardiomiocitos por apoptosis tiene un importante protagonismo ^{157, 167, 168}. Además, estos hallazgos han quedado respaldados por otros estudios experimentales que han confirmado que la inhibición o interrupción de la apoptosis, después de una oclusión coronaria, reduce el tamaño del infarto y las complicaciones post-infarto ^{186, 190, 274}.

En este trabajo queda demostrada la asociación entre el polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53* y el tamaño del IM, la función ventricular izquierda post-infarto y el desarrollo del IC, lo que apoya la importancia que tiene este tipo de muerte celular en la fisiopatología del IAM.

5.3 ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO *Arg72Pro* DEL GEN *P53* CON EL TAMAÑO DEL INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO

La extensión del IM es uno de los principales determinantes pronósticos tras un IAM. Durante la fase de hospitalización, la causa más frecuente de fallecimiento de un paciente con un IAMCEST es el *shock* cardiogénico (responsable del 40-60% del total de muertes) y su aparición está en relación directamente proporcional con el tamaño de la necrosis ⁸³.

Numerosos estudios (con y sin reperfusión coronaria) han demostrado una buena correlación entre los marcadores de necrosis miocárdica (CK, CK-MB y Troponina) y distintas técnicas de imagen como el SPECT miocárdico ⁶⁸⁻⁷² y la RM cardíaca ⁷⁵, en la estimación del tamaño del IAM. Por tanto, estos marcadores pueden ser utilizados (y así se continúa haciendo en la práctica clínica y en estudios clínicos) con bastante fiabilidad para este fin.

Es ampliamente conocido que el gen *P53* es clave en el control de la proliferación celular y en el proceso apoptótico. Ante un estrés celular importante y/o un daño en el ADN (por ejemplo tras una situación de hipoxia) se produce una elevación importante de los niveles protéicos de *P53*, la detección del ciclo celular, y el inicio de los procesos de reparación celular. Si estos no se producen o son defectuosos, se induce la apoptosis de la célula ^{175, 178}.

El polimorfismo *Arg72Pro* (*rs1042522*) ²⁰⁶, situado en el codón 72 del gen *P53*, consiste en la sustitución de un aminoácido (guanina) por otro (citosina) en un dominio específico del gen *P53*, rico en prolina, que es esencial para el funcionamiento de la proteína *P53* y para la actividad apoptótica ²⁷⁵⁻²⁷⁷. Este cambio de aminoácidos, da lugar a que se sintetice la variante polimórfica que contiene arginina (CGC → *p53-Arg*) o bien la variante que contiene prolina (CCC → *p53-Pro*). Distintos trabajos han puesto de manifiesto que la variante *p53-Arg* posee una capacidad de inducir la apoptosis en células en cultivo y líneas tumorales, muy superior a la variante *p53-Pro* ²⁰⁹⁻²¹¹.

En nuestro estudio, el tamaño del IM (estimado por los niveles pico de CK, CK-MB y Troponina) fue significativamente mayor en los pacientes con el genotipo *Arg/Arg*. Además, este genotipo fue un predictor independiente del tamaño del IM.

A pesar de que existen numerosos trabajos que han demostrado la presencia de muerte celular por apoptosis en el contexto del IAM, tan sólo un pequeño estudio italiano ha analizado la relación entre el polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53* y el tamaño del IAM. Estos autores, estudiaron dicho polimorfismo en 130 pacientes mayores de 65 años ingresados por un SCA (32 pacientes con AI, 41 con IAM no Q y 57 con IAM-Q) y encontraron que aquellos con el genotipo *Arg/Arg*, tenían mayores niveles de CK-MB y de troponina que los portadores del alelo Pro (*Arg/Pro + Pro/Pro*)²¹¹. Aunque los resultados de este estudio son concordantes con nuestros hallazgos, creemos que existen varias limitaciones en su diseño. En primer lugar, incluyeron pacientes con perfil clínico diferente (SCASEST y SCACEST)²⁷⁸⁻²⁸² por lo que la estimación del tamaño del IAM de forma conjunta puede no ser del todo precisa. Además, 32 pacientes tenían AI (marcadores cardiacos normales por definición). En segundo lugar, no especificaron características clínicas importantes a la hora de analizar la extensión del IM, como por ejemplo, el tratamiento administrado (reperusión coronaria y/o fármacos adyuvantes)²⁸³⁻²⁸⁵, la localización del IM o el tiempo de isquemia²⁸⁶.

Por otro lado, nuestros resultados son concordantes con los descritos por otros investigadores utilizando como modelo experimental cultivos primarios de cardiomiocitos de ratas. Estos autores, demostraron que los cardiomiocitos con la variante *Arg/Arg* presentaban mayor vulnerabilidad a la apoptosis que los *Pro/Pro* tras un estímulo hipóxico²¹⁵.

Estos hallazgos sugieren, por tanto, que el polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53* contribuye a determinar genéticamente la diferente susceptibilidad de los cardiomiocitos a la apoptosis y debería de ser considerado como una importante “diana” en el desarrollo de nuevos tratamientos encaminados a limitar la extensión del IAM.

5.4 ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO *Arg72Pro* DEL GEN *P53* CON LA FUNCIÓN VENTRICULAR IZQUIERDA POST-INFARTO

Es ampliamente conocido que el pronóstico tras un IAM depende en gran medida del estado de la función contráctil del ventrículo izquierdo. El impacto negativo de la depresión de la función sistólica en la evolución clínica y pronóstico de los pacientes con IAM ha sido demostrada de manera concluyente ⁹⁷⁻⁹⁹. La FEVI, es el parámetro no invasivo más estandarizado, reproducible y utilizado como medida de la función ventricular izquierda ¹⁰⁰, y tiene una relación inversamente proporcional con la mortalidad ¹⁰¹⁻¹⁰⁶.

En nuestro estudio, la FEVI post-infarto fue significativamente menor en los pacientes con el genotipo *Arg/Arg*. Además, este genotipo fue el predictor independiente más potente de la FEVI post-infarto.

Tan sólo existe en la literatura un estudio que ha analizado la relación entre el polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53* y la FEVI ²⁸⁷. En este estudio, se analizó dicho polimorfismo en 198 pacientes ingresados en un hospital italiano por enfermedad coronaria y en 129 pacientes ingresados por patología cardíaca de etiología no coronaria y encontraron que el polimorfismo del codón 72 del gen *P53* se comportaba como un factor predictor independiente de la FEVI al ingreso. Concretamente, los pacientes con el alelo Pro (*Arg/Pro* + *Pro/Pro*) tenían una FEVI significativamente menor que los portadores de la variante *Arg/Arg* (hallazgos que sólo se confirmaron en el grupo de pacientes ingresados por enfermedad coronaria).

Estos investigadores italianos, al igual que nosotros, demostraron la existencia de una estrecha asociación entre el polimorfismo *Arg72Pro* del gen *P53* y la FEVI en pacientes con cardiopatía isquémica. Sin embargo, en nuestro trabajo, la variante polimórfica que se asoció con una peor FEVI post-infarto fue la *Arg/Arg*. En primer lugar, sería lógico pensar que si la variante *Arg/Arg* es más vulnerable a la apoptosis (como demuestran los estudios experimentales ^{211, 215}) y se asocia a una mayor extensión del

IAM²¹¹, la FEVI post-infarto (que se relaciona inversamente con el tamaño del IM^{71, 288}) debería de ser menor. Además, pensamos que existen ciertas limitaciones en el diseño de dicho estudio. Así, la población estudiada era muy heterogénea (pacientes con enfermedad coronaria) y no quedó especificado en el trabajo si los pacientes presentaban en el momento de la inclusión cardiopatía isquémica estable o inestable y qué tipo, con lo que ello conlleva desde el punto de vista clínico y pronóstico. Tampoco reflejaron si los pacientes ingresados por enfermedad coronaria eran portadores o no de otras cardiopatías (valvulopatías, miocardiopatías) que pudieran influir en la FEVI.

5.5 ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO *Arg72Pro* DEL GEN *P53* CON EL DESARROLLO DE INSUFICIENCIA CARDIACA POST-INFARTO

La IC-IH sigue siendo una complicación frecuente en el curso del IAM. La combinación de estas dos entidades, sigue implicando muy mal pronóstico y cuadruplica la mortalidad de los pacientes que la presentan ^{25, 123}. Además, la mayor supervivencia actual en el IAM ha contribuido a un aumento de los pacientes con IC tardía ²⁴⁹.

En nuestro estudio, el 27 % de los pacientes desarrollaron IC-IH, resultado concordante con trabajos previos. Así, si analizamos los diferentes estudios publicados, la IC se observa al ingreso o durante la hospitalización en aproximadamente una tercera parte de los pacientes con IAM (25-35 % de los casos) ¹⁰⁹⁻¹¹². En un registro americano, en el que se estudiaron más de 600.000 pacientes con IAM, el 29 % de los pacientes presentaron IC-IH ¹¹³. También, al igual que en otros estudios¹¹⁰, entre los pacientes que desarrollaron IC-IH, dos tercios la tenían en el momento del ingreso (66 %) y en un tercio apareció durante éste (34 %).

Hasta el momento, ningún estudio había analizado la asociación entre los polimorfismos del codón 72 del gen *P53* y el desarrollo de IC post-infarto. En nuestro trabajo, la aparición de IC al ingreso o durante la fase hospitalaria fue mayor en el grupo de pacientes con el genotipo *Arg/Arg*, sin embargo, la única variable que resultó ser predictora independiente de su aparición fue la FEVI post-infarto.

Es conocido que tras la oclusión coronaria aguda, un porcentaje importante de miocitos en la zona central del infarto mueren por necrosis ^{162, 289}. Además, la aparición de IC en la fase aguda del IAM (a diferencia de IC tardía, más asociada con el RV post-infarto), se ha relacionado estrechamente con la extensión y severidad del infarto (disfunción de tipo mecánica) ^{92, 117, 290-292}. Estos hechos, podrían explicar por qué la variante *Arg/Arg* (y en parte la apoptosis) no fue un factor predictor independiente del desarrollo de IC-IH.

Por otro lado, durante el seguimiento (mediana de 16 meses), los pacientes con la variante *Arg/Arg* presentaron mayor tasa de ingresos por IC que los portadores del alelo Pro (*Arg/Pro* + *Pro/Pro*). En el análisis multivariante, el genotipo *Arg/Arg* y la FEVI deprimida fueron los únicos predictores independientes de la aparición de IC tardía.

Aunque, como hemos descrito anteriormente, la apoptosis de los cardiomiocitos puede iniciarse inmediatamente después del comienzo de la isquemia miocárdica, parece que este tipo de muerte celular tiene un papel más importante en la pérdida tardía de los cardiomiocitos y en el RV post-infarto ^{165, 166, 293, 294}. Es conocido que el RV adverso tras un IAMCEST conlleva cambios en la forma y el tamaño ventriculares (esfericidad y dilatación) que desembocan en disfunción sistólica e IC ^{295, 296}. Uno de los fenómenos previos a la dilatación ventricular es el reordenamiento-deslizamiento de las fibras miocárdicas, y se ha postulado que la apoptosis podría ser clave en su inicio ²⁹⁷.

Un estudio histopatológico ¹⁶² realizado en pacientes fallecidos por IAM, mostró que los miocitos apoptóticos están ubicados fundamentalmente en la zona periférica (borde) del infarto y en zonas alejadas del área necrótica central (áreas remotas). Posteriormente, varios trabajos han puesto de manifiesto el rol de la apoptosis en estas áreas alejadas del foco necrótico central y su implicación en el RV adverso post-infarto ²⁹⁸. Sam et al. ²⁹⁹, utilizando corazones de ratón sometidos a isquemia, demostraron que el RV izquierdo post-infarto se asociaba a la aparición de células apoptóticas en el miocardio alejado del área isquémica. Además, el nivel de apoptosis estaba relacionado con el grado de disfunción ventricular.

De este modo, parece claro que la pérdida progresiva de miocitos por apoptosis juega un destacado papel en la fisiopatología del RV post-infarto, el deterioro progresivo de la función sistólica y la aparición de IC post-infarto ^{163-166, 300}. Todos estos hechos podrían explicar por qué la variante *Arg/Arg* fue un factor predictor de la aparición de IC tardía (más estrechamente relacionada con la apoptosis) y no de la IC-IH.

La apoptosis es un proceso genéticamente controlado y del cual se conocen numerosos estímulos desencadenantes, vías de señalización y factores pro y anti-apoptóticos ³⁰¹. La caracterización de la apoptosis miocárdica nos permitiría el desarrollo de estrategias terapéuticas que, actuando sobre distintos pasos de la cascada apoptótica, podrían limitar las complicaciones asociadas al infarto, como la IC.

5.6 ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO T309G DEL GEN MDM2 AISLADO Y COMBINADO CON EL POLIMORFISMO Arg72Pro DEL GEN P53 CON EL TAMAÑO DEL INFARTO, LA FUNCIÓN VENTRICULAR IZQUIERDA POST-INFARTO Y EL DESARROLLO DE INSUFICIENCIA CARDIACA

MDM2 (doble minuto murino) es un gen que codifica la proteína *MDM2*, que es un importante regulador negativo del supresor tumoral *P53*. Concretamente, se une a él e inhibe su capacidad transcripcional³⁰².

Bond et al²²², describieron que un SNP en el promotor *MDM2* (sustitución de nucleótidos T por G en posición 309) incrementa la afinidad del activador transcripcional Sp1, lo que da lugar a niveles más altos de la proteína *MDM2* y, por consiguiente, mayor atenuación de la vía de supresión tumoral *P53*.

Dentro de la investigación oncológica, son numerosos los estudios que han investigado la relación entre el polimorfismo *T309G* del gen *MDM2* y el riesgo de desarrollar determinadas neoplasias, con resultados muy contradictorios. Así, existen estudios y metaanálisis que han encontrado dicha asociación^{303, 304}, y otros que no la han demostrado^{305, 306}. Además, en algunos trabajos, la asociación sólo ha sido demostrada en determinadas étnias^{304, 307, 308}.

No existe en la literatura ningún trabajo que haya estudiado este polimorfismo en pacientes con IAM ni existen resultados experimentales acerca de su implicación en la apoptosis miocárdica. En nuestro estudio, no encontramos asociación del polimorfismo *T309G* del gen *MDM2* con el tamaño del IM y la aparición de IC. No obstante, se observó una tendencia hacia la significación estadística en la FEVI post-infarto entre los tres grupos ($p 0,07$). Al analizar los pacientes con el genotipo GG y compararlos con los portadores del alelo T ($TT+ TG$), sí encontramos diferencias significativas en la FEVI post-infarto, que fue mayor en el primer grupo.

Tampoco había sido estudiado el efecto combinado de ambos polimorfismos genéticos (*Arg72Pro* y *T309G*) en la apoptosis miocárdica. En el ámbito de la oncología, existen varios trabajos que han analizado dicha asociación con el riesgo neoplásico, también con resultados contradictorios. Así, un metaanálisis que estudió el polimorfismo *T309G* del gen *MDM2* en un total de 9,563 casos y 9,468 controles y el polimorfismo *Arg72Pro* de *P53* en 19,748 casos y 19,962 controles, no encontró asociación entre el efecto combinado de ambos polimorfismos y el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón ³⁰⁹.

En nuestro trabajo, no encontramos asociación estadísticamente significativa de estos polimorfismos (*Arg72Pro* y *T309G*) combinados con la FEVI post-infarto y el desarrollo de IC. En relación al tamaño del IM, a pesar de que los niveles pico de CK y Troponina fueron mayores en el grupo de pacientes portadores de los genotipos *Arg/Arg* y *TT* (variantes con mayor susceptibilidad a la apoptosis), no llegaron a ser estadísticamente significativos. En cambio, los niveles pico de CK-MB sí fueron significativamente mayores en dicho grupo.

Aunque existe poca información al respecto, varias hipótesis podrían explicar por qué el polimorfismo *T309G* del gen *MDM2* no tuvo una implicación clara en nuestro trabajo.

- a. En modelos animales, la expresión ectópica de *MDM2* conduce a la proliferación celular y el desarrollo de tumores incluso en ausencia de *P53*. Parece que existen vías génicas que conducen a la regulación de los niveles de *MDM2* de forma dependiente e independiente de *P53* ³¹⁰. Además, *MDM2* podría regular la expresión de ciertas proteínas que contribuyen a aspectos clave de la proliferación celular, la apoptosis, la invasión tumoral y las metástasis, independientemente de su interacción con *P53* ^{311, 312}. Por tanto, la participación del gen *MDM2* en la apoptosis podría ser independiente de sus efectos sobre *P53* ^{313, 314}.

- b. Recientemente, se han identificado nuevas dianas del gen *MDM2*. Por ejemplo, se ha demostrado que *MDM2* regula la expresión de ciertas proteínas anti-apoptóticas (como la XIAP) que puede conducir a una menor muerte apoptótica por una vía dependiente de caspasa ³¹⁵ .

Por tanto, el hecho de que *MDM2* pueda interactuar en la cascada apoptótica por vías diferentes a la de *P53*, podría explicar los resultados encontrados en nuestro trabajo. Serán necesarias nuevas investigaciones que determinen las cascadas moleculares y los circuitos genéticos relacionados con el gen *MDM2* e implicados en la apoptosis miocárdica.

LiMiTACiONES

Entre las limitaciones de este estudio están su carácter unicéntrico, que dificulta la extrapolación de los resultados. Además, el número de pacientes ($n = 260$) y el seguimiento clínico (mediana de 16 meses) no fue muy amplio; aun así, creemos que pudo ser suficiente para responder al objetivo del trabajo.

Por otro lado, dadas las características intrínsecas a cualquier estudio que analice polimorfismos genéticos, resulta difícil generalizar a la población global los resultados obtenidos. Entre los principales inconvenientes de estos estudios se incluyen el limitado poder estadístico de la mayoría de ellos, la variación entre poblaciones diferentes, la necesidad de un correcto análisis del fenotipo y la imposibilidad de realizar recomendaciones terapéuticas en base a los datos obtenidos hasta el momento. Además este tipo de estudios ignoran la epístasis, las interacciones con el medio ambiente y las variantes raras.

Finalmente, la estimación del tamaño del IAM se realizó analizando el pico máximo de los marcadores de daño miocárdico (CK, CK-MB y Troponina). Aunque el método ideal para este fin hubiese sido la realización de pruebas de imagen (SPECT o RM cardíaca), son numerosos los trabajos que han demostrado una muy buena correlación en la estimación del tamaño del infarto entre los marcadores de daño miocárdio y dichas técnicas de imagen, tanto en los pacientes reperfundidos como en los no reperfundidos.

CONCLUSIONES

En el presente trabajo estudiamos la posible asociación de los polimorfismos *Arg72Pro* del gen *P53* y *T309G* del gen *MDM2* con el tamaño del infarto, la función ventricular izquierda post-infarto y el desarrollo de IC, en 260 pacientes ingresados consecutivamente en la Unidad Coronaria del Hospital Universitario de Salamanca con el diagnóstico definitivo de IAMCEST. Nuestras conclusiones son:

1. La localización anterior del IAM y la FEVI deprimida post-infarto son factores predictores independientes del tamaño del IAM.
2. El tamaño del IAM y la localización anterior del mismo son factores predictores independientes de la FEVI post-infarto.
3. La FEVI deprimida post-infarto es un factor predictor independiente de la aparición de IC-IH e IC tardía. También la HTA es un factor predictor independiente del desarrollo de IC-IH.
4. El polimorfismo *T309G* del gen *MDM2* no se asocia con cambios en la evolución de los pacientes con IAMCEST. Estos resultados apoyan la teoría de que el gen *MDM2* puede interaccionar en la cascada apoptótica por vías diferentes a la de *P53*.
5. El ser portador del genotipo *Arg/Arg* en el codón 72 del gen *P53* incrementa el riesgo de una peor evolución tras un IAMCEST, ya que se asocia con mayor tamaño del IAM, peor función ventricular izquierda post-infarto y mayor desarrollo de IC.

BIBLIOGRAFÍA

1. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Geneva: World Health Organization; 2011.
2. Beaglehole R, Bonita R. Global public health: a scorecard. *Lancet* 2008;372(9654):1988-96.
3. Heras M, Marrugat J, Aros F, et al. [Reduction in acute myocardial infarction mortality over a five-year period]. *Rev Esp Cardiol* 2006;59:200-8.
4. Lahoz C, Mostaza JM. [Atherosclerosis as a systemic disease]. *Rev Esp Cardiol* 2007;60:184-95.
5. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1995;92:1355-74.
6. Viles-Gonzalez JF, Fuster V, Badimon JJ. Atherothrombosis: a widespread disease with unpredictable and life-threatening consequences. *Eur Heart J* 2004;25:1197-207.
7. Fuster V, Moreno PR, Fayad ZA, Corti R, Badimon JJ. Atherothrombosis and high-risk plaque: part I: evolving concepts. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:937-54.
8. Sans S, Kesteloot H, Kromhout D. The burden of cardiovascular diseases mortality in Europe. Task Force of the European Society of Cardiology on Cardiovascular Mortality and Morbidity Statistics in Europe. *Eur Heart J* 1997;18(12):1231-48.
9. Badimon L, Martinez-Gonzalez J. Endothelium and vascular protection: an update. *Rev Esp Cardiol* 2002;55 Suppl 1:17-26.
10. Hays AG, Kelle S, Hirsch GA, et al. Regional Coronary Endothelial Function is Closely Related to Local Early Coronary Atherosclerosis in Patients with Mild Coronary Artery Disease: A Pilot Study. *Circ Cardiovasc Imaging* 2012;5.
11. Grundy SM, Pasternak R, Greenland P, Smith S, Jr., Fuster V. Assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assessment equations: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology. *Circulation* 1999;100:1481-92.
12. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.
13. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (1). *N Engl J Med* 1992;326:242-50.
14. Cybulsky MI, Gimbrone MA, Jr. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science* 1991;251:788-91.

15. Badimon L, Martinez-Gonzalez J, Llorente-Cortes V, Rodriguez C, Padro T. Cell biology and lipoproteins in atherosclerosis. *Curr Mol Med* 2006;6:439-56.
16. Ragino YI, Chernjavski AM, Polonskaya YV, et al. Oxidation and endothelial dysfunction biomarkers of atherosclerotic plaque instability. *Studies of the vascular wall and blood. Bull Exp Biol Med* 2012;153:331-5.
17. Rodriguez JA, Orbe J, Paramo JA. [Metalloproteases, vascular remodeling and atherothrombotic syndromes]. *Rev Esp Cardiol* 2007;60:959-67.
18. Sanz J, Fuster V. The year in atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:779-91.
19. Ehara S. Relationship between atherosclerotic plaque progression, vulnerability and vascular remodeling. *Nihon Rinsho* 2011;69:113-6.
20. Naghavi M, Libby P, Falk E, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation* 2003;108:1664-72.
21. Kannel WB, Dawber TR, Kagan A, Revotskie N, Stokes J, 3rd. Factors of risk in the development of coronary heart disease--six year follow-up experience. The Framingham Study. *Ann Intern Med* 1961;55:33-50.
22. Wong ND, Nelson JC, Granston T, et al. Metabolic syndrome, diabetes, and incidence and progression of coronary calcium: the multiethnic study of atherosclerosis study. *JACC Cardiovasc Imaging* 2012;5:358-66.
23. Group BHFHPR. European Cardiovascular Disease Statistics 2008.
24. Fuster V, Steele PM, Chesebro JH. Role of platelets and thrombosis in coronary atherosclerotic disease and sudden death. *J Am Coll Cardiol* 1985;5:175B-84B.
25. Antman EM, Anbe DT, Armstrong PW, et al. ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction; A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Revise the 1999 Guidelines for the Management of patients with acute myocardial infarction). *J Am Coll Cardiol* 2004;44:E1-E211.
26. Corti R, Hutter R, Badimon JJ, Fuster V. Evolving concepts in the triad of atherosclerosis, inflammation and thrombosis. *J Thromb Thrombolysis* 2004;17:35-44.
27. Fuster V. 50th anniversary historical article. Acute coronary syndromes: the degree and morphology of coronary stenoses. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:52B-4B.
28. Pope JH, Aufderheide TP, Ruthazer R, et al. Missed diagnoses of acute cardiac ischemia in the emergency department. *N Engl J Med* 2000;342:1163-70.

29. Steg PG, James SK, Atar D, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force on the management of ST-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2012;24.
30. Muller C. New ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Swiss Med Wkly* 2012;142.
31. Levine GN, Bates ER, Blankenship JC, et al. 2011 ACCF/AHA/SCAI Guideline for Percutaneous Coronary Intervention: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions. *Catheter Cardiovasc Interv* 1002;79(3):453-95.
32. Malek AM, Alper SL, Izumo S. Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. *Jama* 1999;282:2035-42.
33. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Mahonen M, Tolonen H, Ruokokoski E, Amouyel P. Contribution of trends in survival and coronary-event rates to changes in coronary heart disease mortality: 10-year results from 37 WHO MONICA project populations. Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease. *Lancet* 1999;353(9164):1547-57.
34. Goldberg RJ, Glatfelter K, Burbank-Schmidt E, Lessard D, Gore JM. Trends in community mortality due to coronary heart disease. *Am Heart J* 2006;151(2):501-7.
35. Armstrong PW, Granger CB, Adams PX, et al. Pexelizumab for acute ST-elevation myocardial infarction in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. *Jama* 2007;297:43-51.
36. Adams JE, 3rd, Bodor GS, Davila-Roman VG, et al. Cardiac troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 1993;88:101-6.
37. Tsung JS, Tsung SS. Creatine kinase isoenzymes in extracts of various human skeletal muscles. *Clin Chem* 1986;32:1568-70.
38. Ellis AK. Serum protein measurements and the diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation* 1991;83:1107-9.
39. Frey N M-BM, Katus HA. Myocardial damage: the role of troponin T. Dordrecht Hardbound: Kluwer Academic Publishers 1998:27-40.
40. Zimmerman J, Fromm R, Meyer D, et al. Diagnostic marker cooperative study for the diagnosis of myocardial infarction. *Circulation* 1999;99:1671-7.

41. Apple FS, Henry TD, Berger CR, Landt YA. Early monitoring of serum cardiac troponin I for assessment of coronary reperfusion following thrombolytic therapy. *Am J Clin Pathol* 1996;105:6-10.
42. Tanasijevic MJ, Cannon CP, Antman EM, et al. Myoglobin, creatine-kinase-MB and cardiac troponin-I 60-minute ratios predict infarct-related artery patency after thrombolysis for acute myocardial infarction: results from the Thrombolysis in Myocardial Infarction study (TIMI) 10B. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:739-47.
43. Abe S, Arima S, Yamashita T, et al. Early assessment of reperfusion therapy using cardiac troponin T. *J Am Coll Cardiol* 1994;23:1382-9.
44. Nomenclature and criteria for diagnosis of ischemic heart disease. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization task force on standardization of clinical nomenclature. *Circulation* 1979;59:607-9.
45. Bais R, Edwards JB. Creatine kinase. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1982;16:291-335.
46. Adams JE, 3rd, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury. Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? *Circulation* 1993;88:750-63.
47. Ingwall JS, Kramer MF, Fifer MA, et al. The creatine kinase system in normal and diseased human myocardium. *N Engl J Med* 1985;313:1050-4.
48. Mair J, Artner-Dworzak E, Dienstl A, et al. Early detection of acute myocardial infarction by measurement of mass concentration of creatine kinase-MB. *Am J Cardiol* 1991;68:1545-50.
49. Giannitsis E KH. Biomarkers of necrosis for risk assessment and management of ST elevation myocardial infarction. Humana Press 2006:119-28.
50. Katus HA, Remppis A, Scheffold T, Diederich KW, Kuebler W. Intracellular compartmentation of cardiac troponin T and its release kinetics in patients with reperfused and nonreperfused myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1991;67:1360-7.
51. Katus HA, Looser S, Hallermayer K, et al. Development and in vitro characterization of a new immunoassay of cardiac troponin T. *Clin Chem* 1992;38:386-93.
52. Katus HA, Remppis A, Neumann FJ, et al. Diagnostic efficiency of troponin T measurements in acute myocardial infarction. *Circulation* 1991;83:902-12.
53. Poliner LR, Buja LM, Parkey RW, et al. Comparison of different noninvasive methods of infarct sizing during experimental myocardial infarction. *J Nucl Med* 1977;18:517-23.
54. Grande P, Hansen BF, Christiansen C, Naestoft J. Estimation of acute myocardial infarct size in man by serum CK-MB measurements. *Circulation* 1982;65:756-64.

55. Veldkamp RF, Green CL, Wilkins ML, et al. Comparison of continuous ST-segment recovery analysis with methods using static electrocardiograms for noninvasive patency assessment during acute myocardial infarction. Thrombolysis and Angioplasty in Myocardial Infarction (TAMI) 7 Study Group. *Am J Cardiol* 1994;73:1069-74.
56. Fung AY, Lorch G, Cambier PA, et al. Efgatran sulfate as an adjunct to streptokinase versus heparin as an adjunct to tissue plasminogen activator in patients with acute myocardial infarction. ESCALAT Investigators. *Am Heart J* 1999;138:696-704.
57. Voss EM, Sharkey SW, Gernert AE, et al. Human and canine cardiac troponin T and creatine kinase-MB distribution in normal and diseased myocardium. Infarct sizing using serum profiles. *Arch Pathol Lab Med* 1995;119:799-806.
58. Shell WE, Kjekshus JK, Sobel BE. Quantitative assessment of the extent of myocardial infarction in the conscious dog by means of analysis of serial changes in serum creatine phosphokinase activity. *J Clin Invest* 1971;50:2614-25.
59. Jarmakani JM, Limbird L, Graham TC, Marks RA. Effect of reperfusion on myocardial infarct, and the accuracy of estimating infarct size from serum creatine phosphokinase in the dog. *Cardiovasc Res* 1976;10:245-53.
60. Roe CR, Cobb FR, Starmer CF. The relationship between enzymatic and histologic estimates of the extent of myocardial infarction in conscious dogs with permanent coronary occlusion. *Circulation* 1977;55:438-49.
61. Grande P, Christiansen C, Alstrup K. Comparison of ASAT, CK, CK-MB, and LD for the estimation of acute myocardial infarct size in man. *Clin Chim Acta* 1983;128:329-35.
62. Grande P, Kiilerich S. Relationship between serum CK-MB-estimated acute myocardial infarct size and clinical complications. *Acta Med Scand* 1984;215:355-62.
63. Isobe M, Nagai R, Ueda S, et al. Quantitative relationship between left ventricular function and serum cardiac myosin light chain I levels after coronary reperfusion in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 1987;76:1251-61.
64. Christenson RH, Vollmer RT, Ohman EM, et al. Relation of temporal creatine kinase-MB release and outcome after thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. TAMI Study Group. *Am J Cardiol* 2000;85:543-7.
65. Grande P, Christiansen C, Pedersen A. Influence of acute myocardial infarct size on acute and one-year mortality. *Eur Heart J* 1983;4:20-5.
66. Hindman N, Grande P, Harrell FE, Jr., et al. Relation between electrocardiographic and enzymatic methods of estimating acute myocardial infarct size. *Am J Cardiol* 1986;58:31-5.

67. Multicenter, dose-ranging study of efegatran sulfate versus heparin with thrombolysis for acute myocardial infarction: The Promotion of Reperfusion in Myocardial Infarction Evolution (PRIME) trial. *Am Heart J* 2002;143:95-105.
68. Tzivoni D, Koukoui D, Guetta V, Novack L, Cowing G. Comparison of Troponin T to creatine kinase and to radionuclide cardiac imaging infarct size in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary angioplasty. *Am J Cardiol* 2008;101:753-7.
69. Licka M, Zimmermann R, Zehelein J, Dengler TJ, Katus HA, Kubler W. Troponin T concentrations 72 hours after myocardial infarction as a serological estimate of infarct size. *Heart* 2002;87:520-4.
70. Byrne RA, Ndrepepa G, Braun S, et al. Peak cardiac troponin-T level, scintigraphic myocardial infarct size and one-year prognosis in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2010;106:1212-7.
71. Chia S, Senatore F, Raffel OC, Lee H, Wackers FJ, Jang IK. Utility of cardiac biomarkers in predicting infarct size, left ventricular function, and clinical outcome after primary percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction. *JACC Cardiovasc Interv* 2008;1:415-23.
72. Mair J, Wagner I, Morass B, et al. Cardiac troponin I release correlates with myocardial infarction size. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995;33:869-72.
73. Panteghini M, Cuccia C, Bonetti G, Giubbini R, Pagani F, Bonini E. Single-point cardiac troponin T at coronary care unit discharge after myocardial infarction correlates with infarct size and ejection fraction. *Clin Chem* 2002;48:1432-6.
74. Okmen E, Kasikcioglu H, Sanli A, Uyarel H, Cam N. Correlations between cardiac troponin I, cardiac troponin T, and creatine phosphokinase MB elevation following successful percutaneous coronary intervention and prognostic value of each marker. *J Invasive Cardiol* 2005;17:63-7.
75. Reiter R, Swingen C, Moore L, Henry TD, Traverse JH. Circadian dependence of infarct size and left ventricular function after ST elevation myocardial infarction. *Circ Res* 2012;110(1):105-10.
76. Califf RM, Topol EJ, Gersh BJ. From myocardial salvage to patient salvage in acute myocardial infarction: the role of reperfusion therapy. *J Am Coll Cardiol* 1989;14(5):1382-8.
77. An international randomized trial comparing four thrombolytic strategies for acute myocardial infarction. The GUSTO investigators. *N Engl J Med* 1993;329(10):673-82.
78. Pfeffer MA, Braunwald E, Moya LA, et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators. *N Engl J Med* 1992;327(10):669-77.

79. Van de Werf F, Bax J, Betriu A, et al. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with persistent ST-segment elevation. *G Ital Cardiol* 2009;10(7):450-89.
80. Ferreira-Gonzalez I, Permanyer-Miralda G, Marrugat J, et al. MASCARA (Manejo del Síndrome Coronario Agudo. Registro Actualizado) study. General findings. *Rev Esp Cardiol* 2008;61(8):803-16.
81. Burton BE. Tratamiento del infarto miocárdico agudo en: disminución del tamaño del infarto. *Tratado de cardiología*. 4 ed; 1985.
82. Miller TD, Christian TF, Hopfenspirger MR, Hodge DO, Gersh BJ, Gibbons RJ. Infarct size after acute myocardial infarction measured by quantitative tomographic ^{99m}Tc sestamibi imaging predicts subsequent mortality. *Circulation* 1995;92:334-41.
83. Braunwald E. Myocardial reperfusion, limitation of infarct size, reduction of left ventricular dysfunction, and improved survival. Should the paradigm be expanded? *Circulation* 1989;79:441-4.
84. Bruce CJ, Christian TF, Schaer GL, et al. Determinants of infarct size after thrombolytic treatment in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1999;83:1600-5.
85. Allen DG, Orchard CH. Myocardial contractile function during ischemia and hypoxia. *Circ Res* 1987;60:153-68.
86. Kanaide H, Taira Y, Nakamura M. Transmural anoxic wave front and regional dysfunction during early ischemia. *Am J Physiol* 1987;253:240-7.
87. Herman MV, Heinle RA, Klein MD, Gorlin R. Localized disorders in myocardial contraction. Asynergy and its role in congestive heart failure. *N Engl J Med* 1967;277:222-32.
88. Forrester JS, Wyatt HL, Da Luz PL, Tyberg JV, Diamond GA, Swan HJ. Functional significance of regional ischemic contraction abnormalities. *Circulation* 1976;54:64-70.
89. Feiring AJ, Johnson MR, Kioschos JM, Kirchner PT, Marcus ML, White CW. The importance of the determination of the myocardial area at risk in the evaluation of the outcome of acute myocardial infarction in patients. *Circulation* 1987;75:980-7.
90. Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, et al. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res* 1979;44:503-12.
91. Goldberg RJ, Gore JM, Alpert JS, et al. Cardiogenic shock after acute myocardial infarction. Incidence and mortality from a community-wide perspective, 1975 to 1988. *N Engl J Med* 1991;325:1117-22.
92. Rackley CE, Russell RO, Jr., Mantle JA, Rogers WJ. Modern approach to the patient with acute myocardial infarction. *Curr Probl Cardiol* 1977;1:1-47.

93. Saffitz JE, Fredrickson RC, Roberts WC. Relation of size of transmural acute myocardial infarct to mode of death, interval between infarction and death and frequency of coronary arterial thrombus. *Am J Cardiol* 1986;57:1249-54.
94. Maynard C, Weaver WD, Litwin PE, et al. Hospital mortality in acute myocardial infarction in the era of reperfusion therapy (the Myocardial Infarction Triage and Intervention Project). *Am J Cardiol* 1993;72:877-82.
95. Muller DW, Topol EJ, Ellis SG, Sigmon KN, Lee K, Califf RM. Multivessel coronary artery disease: a key predictor of short-term prognosis after reperfusion therapy for acute myocardial infarction. Thrombolysis and Angioplasty in Myocardial Infarction (TAMI) Study Group. *Am Heart J* 1991;121:1042-9.
96. Kleiman NS, Terrin M, Mueller H, et al. Mechanisms of early death despite thrombolytic therapy: experience from the Thrombolysis in Myocardial Infarction Phase II (TIMI II) study. *J Am Coll Cardiol* 1992;19:1129-35.
97. Antman EM, Hand M, Armstrong PW, et al. 2007 focused update of the ACC/AHA 2004 guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:210-47.
98. Bodi V, Sanchis J, Nunez J, et al. Prognostic value of a comprehensive cardiac magnetic resonance assessment soon after a first ST-segment elevation myocardial infarction. *JACC Cardiovasc Imaging* 2009;2:835-42.
99. Van de Werf F, Bax J, Betriu A, et al. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with persistent ST-segment elevation: the Task Force on the Management of ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2008;29:2909-45.
100. San Roman JA, Candell-Riera J, Arnold R, et al. Quantitative analysis of left ventricular function as a tool in clinical research. Theoretical basis and methodology. *Rev Esp Cardiol* 2009;62:535-51.
101. Marino P, Nidasio G, Golia G, et al. Frequency of pre-discharge ventricular arrhythmias in postmyocardial infarction patients depends on residual left ventricular pump performance and is independent of the occurrence of acute reperfusion. The GISSI-2 Investigators. *J Am Coll Cardiol* 1994;23:290-5.
102. Bigger JT, Jr., Fleiss JL, Rolnitzky LM. Prevalence, characteristics and significance of ventricular tachycardia detected by 24-hour continuous electrocardiographic recordings in the late hospital phase of acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1986;58:1151-60.

103. Moss AJ, Davis HT, DeCamilla J, Bayer LW. Ventricular ectopic beats and their relation to sudden and nonsudden cardiac death after myocardial infarction. *Circulation* 1979;60:998-1003.
104. McClements BM, Adgey AA. Value of signal-averaged electrocardiography, radionuclide ventriculography, Holter monitoring and clinical variables for prediction of arrhythmic events in survivors of acute myocardial infarction in the thrombolytic era. *J Am Coll Cardiol* 1993;21:1419-27.
105. Gosselink AT, Liem AL, Reiffers S, Zijlstra F. Prognostic value of predischARGE radionuclide ventriculography at rest and exercise after acute myocardial infarction treated with thrombolytic therapy or primary coronary angioplasty. The Zwolle Myocardial Infarction Study Group. *Clin Cardiol* 1998;21:254-60.
106. Nicod P, Gilpin E, Dittrich H, et al. Influence on prognosis and morbidity of left ventricular ejection fraction with and without signs of left ventricular failure after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1988;61:1165-71.
107. Richards DA, Byth K, Ross DL, Uther JB. What is the best predictor of spontaneous ventricular tachycardia and sudden death after myocardial infarction? *Circulation* 1991;83:756-63.
108. Pedretti R, Etro MD, Laporta A, Sarzi Braga S, Caru B. Prediction of late arrhythmic events after acute myocardial infarction from combined use of noninvasive prognostic variables and inducibility of sustained monomorphic ventricular tachycardia. *Am J Cardiol* 1993;71:1131-41.
109. Macin SM, Perna ER, Augier N, et al. [Clinical characteristics and long-term outcome in patients with heart failure complicating acute myocardial infarction]. *Rev Esp Cardiol* 2005;58(7):789-96.
110. Steg PG, Dabbous OH, Feldman LJ, et al. Determinants and prognostic impact of heart failure complicating acute coronary syndromes: observations from the Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). *Circulation* 2004;109(4):494-9.
111. Weir RA, McMurray JJ. Epidemiology of heart failure and left ventricular dysfunction after acute myocardial infarction. *Curr Heart Fail Rep* 2006;3(4):175-80.
112. Weir RA, McMurray JJ, Velazquez EJ. Epidemiology of heart failure and left ventricular systolic dysfunction after acute myocardial infarction: prevalence, clinical characteristics, and prognostic importance. *Am J Cardiol* 2006;97(10A):13F-25F.
113. Spencer FA, Meyer TE, Gore JM, Goldberg RJ. Heterogeneity in the management and outcomes of patients with acute myocardial infarction complicated by heart failure: the National Registry of Myocardial Infarction. *Circulation* 2002;105(22):2605-10.
114. Guidry UC, Evans JC, Larson MG, Wilson PW, Murabito JM, Levy D. Temporal trends in event rates after Q-wave myocardial infarction: the Framingham Heart Study. *Circulation* 1999;100(20):2054-9.

115. Lewis EF, Moye LA, Rouleau JL, et al. Predictors of late development of heart failure in stable survivors of myocardial infarction: the CARE study. *J Am Coll Cardiol* 2003;42(8):1446-53.
116. Hellermann JP, Jacobsen SJ, Redfield MM, Reeder GS, Weston SA, Roger VL. Heart failure after myocardial infarction: clinical presentation and survival. *Eur J Heart Fail* 2005;7(1):119-25.
117. Gheorghiade M, Bonow RO. Chronic heart failure in the United States: a manifestation of coronary artery disease. *Circulation* 1998;97(3):282-9.
118. Rohde LE, Ducharme A, Arroyo LH, et al. Matrix metalloproteinase inhibition attenuates early left ventricular enlargement after experimental myocardial infarction in mice. *Circulation* 1999;99(23):3063-70.
119. Kunapuli S, Rosanio S, Schwarz ER. "How do cardiomyocytes die?" apoptosis and autophagic cell death in cardiac myocytes. *J Card Fail* 2006;12(5):381-91.
120. Barros Rde A, Okoshi MP, Cicogna AC. Beta-adrenergic pathway in healthy and hypertrophied hearts. *Arq Bras Cardiol* 1999;72(5):641-56.
121. Gheorghiade M, Fonarow GC. Management of post-myocardial infarction patients with left ventricular systolic dysfunction. *Am J Med* 2007;120(2):109-20.
122. Antman EM, Anbe DT, Armstrong PW, et al. ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Revise the 1999 Guidelines for the Management of Patients with Acute Myocardial Infarction). *Circulation* 2004;110(9):e82-292.
123. Wu AH, Parsons L, Every NR, Bates ER. Hospital outcomes in patients presenting with congestive heart failure complicating acute myocardial infarction: a report from the Second National Registry of Myocardial Infarction (NRMI-2). *J Am Coll Cardiol* 2002;40(8):1389-94.
124. Stevenson R, Ranjadayalan K, Wilkinson P, Roberts R, Timmis AD. Short and long term prognosis of acute myocardial infarction since introduction of thrombolysis. *Bmj* 1993;307(6900):349-53.
125. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26:239-57.
126. Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol* 1995;146:3-15.
127. Vaux DL, Strasser A. The molecular biology of apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:2239-44.
128. Granville DJ, Carthy CM, Hunt DW, McManus BM. Apoptosis: molecular aspects of cell death and disease. *Lab Invest* 1998;78:893-913.

129. Taylor RC, Cullen SP, Martin SJ. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9(3):231-41.
130. Logue SE, Martin SJ. Caspase activation cascades in apoptosis. *Biochem Soc Trans* 2008;36(Pt 1):1-9.
131. Fernandes-Alnemri T, Armstrong RC, Krebs J, et al. In vitro activation of CPP32 and Mch3 by Mch4, a novel human apoptotic cysteine protease containing two FADD-like domains. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93(15):7464-9.
132. Wang J, Chun HJ, Wong W, Spencer DM, Lenardo MJ. Caspase-10 is an initiator caspase in death receptor signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:13884-8.
133. Arnoult D, Gaume B, Karbowski M, Sharpe JC, Cecconi F, Youle RJ. Mitochondrial release of AIF and EndoG requires caspase activation downstream of Bax/Bak-mediated permeabilization. *Embo J* 2003;22:4385-99.
134. Launay S, Hermine O, Fontenay M, Kroemer G, Solary E, Garrido C. Vital functions for lethal caspases. *Oncogene* 2005;24:5137-48.
135. Hughes MA, Harper N, Butterworth M, Cain K, Cohen GM, MacFarlane M. Reconstitution of the death-inducing signaling complex reveals a substrate switch that determines CD95-mediated death or survival. *Mol Cell* 2009;35:265-79.
136. Kumar S, Vaux DL. Apoptosis. A cinderella caspase takes center stage. *Science* 2002;297:1290-1.
137. Nagata S. Apoptosis regulated by a death factor and its receptor: Fas ligand and Fas. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1994;345:281-7.
138. Esparza L, De Haro J, Bleda S, Acin F. Non-Fas(CD95/APO1)-mediated apoptosis of activated T cells inhibits the development of atherosclerosis. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2012;22.
139. Clement MV, Stamenkovic I. Fas and tumor necrosis factor receptor-mediated cell death: similarities and distinctions. *J Exp Med* 1994;180:557-67.
140. Crispe IN. Fatal interactions: Fas-induced apoptosis of mature T cells. *Immunity* 1994;1:347-9.
141. Atanasov BP, Kosekova GP, Mitovska MI, Khristova PK, Dancheva KI. Pyridoxalphosphate-modified derivatives of cytochrome c. Mono- and disubstituted derivatives: characteristics and effect on electron transport in cytochrome c-depleted mitochondria. *Mol Biol (Mosk)* 1980;14:307-15.
142. Labeledzka K, Grzanka A, Izdebska M. Mitochondria and cell death. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2006;60:439-46.
143. James TN. Apoptosis in cardiac disease. *Am J Med* 1999;107:606-20.

144. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995;267:1456-62.
145. Soriano P. The PDGF alpha receptor is required for neural crest cell development and for normal patterning of the somites. *Development* 1997;124:2691-700.
146. Sanford LP, Ormsby I, Gittenberger-de Groot AC, et al. TGFbeta2 knockout mice have multiple developmental defects that are non-overlapping with other TGFbeta knockout phenotypes. *Development* 1997;124:2659-70.
147. Jervell A, Lange-Nielsen F. Congenital deaf-mutism, functional heart disease with prolongation of the Q-T interval and sudden death. *Am Heart J* 1957;54:59-68.
148. Brugada J, Brugada R, Brugada P. Right bundle-branch block and ST-segment elevation in leads V1 through V3: a marker for sudden death in patients without demonstrable structural heart disease. *Circulation* 1998;97:457-60.
149. Brink AJ, Torrington M. Progressive familial heart block--two types. *S Afr Med J* 1977;52:53-9.
150. Bartunek J, Vanderheyden M, Knaapen MW, Tack W, Kockx MM, Goethals M. Deoxyribonucleic acid damage/repair proteins are elevated in the failing human myocardium due to idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:1097-103; discussion 104-5.
151. Diez J, Fortuno MA, Ravassa S. Apoptosis in hypertensive cardiopathy. *Rev Esp Cardiol* 1999;52 Suppl 3:18-24.
152. Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, et al. Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med* 2002;346:5-15.
153. Olivetti G, Abbi R, Quaini F, et al. Apoptosis in the failing human heart. *N Engl J Med* 1997;336:1131-41.
154. Narula J, Haider N, Virmani R, et al. Apoptosis in myocytes in end-stage heart failure. *N Engl J Med* 1996;335:1182-9.
155. Biondi-Zoccai GG, Abbate A, Vasaturo F, et al. Increased apoptosis in remote non-infarcted myocardium in multivessel coronary disease. *Int J Cardiol* 2004;94(1):105-10.
156. Best PJ, Hasdai D, Sangiorgi G, et al. Apoptosis. Basic concepts and implications in coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:14-22.
157. Saraste A, Pulkki K, Kallajoki M, Henriksen K, Parvinen M, Voipio-Pulkki LM. Apoptosis in human acute myocardial infarction. *Circulation* 1997;95:320-3.
158. Kockx MM. Apoptosis in the atherosclerotic plaque: quantitative and qualitative aspects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1519-22.

159. Isner JM, Kearney M, Bortman S, Passeri J. Apoptosis in human atherosclerosis and restenosis. *Circulation* 1995;91:2703-11.
160. Kajstura J, Cheng W, Reiss K, et al. Apoptotic and necrotic myocyte cell deaths are independent contributing variables of infarct size in rats. *Lab Invest* 1996;74:86-107.
161. Mani K, Kitsis RN. Myocyte apoptosis: programming ventricular remodeling. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:761-4.
162. Olivetti G, Quaini F, Sala R, et al. Acute myocardial infarction in humans is associated with activation of programmed myocyte cell death in the surviving portion of the heart. *J Mol Cell Cardiol* 1996;28:2005-16.
163. Abbate A, Biondi-Zoccai GG, Bussani R, et al. Increased myocardial apoptosis in patients with unfavorable left ventricular remodeling and early symptomatic post-infarction heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:753-60.
164. Abbate A, Bussani R, Amin MS, Vetrovec GW, Baldi A. Acute myocardial infarction and heart failure: role of apoptosis. *Int J Biochem Cell Biol* 2006;38(11):1834-40.
165. Kitsis RN, Mann DL. Apoptosis and the heart: a decade of progress. *J Mol Cell Cardiol* 2005;38(1):1-2.
166. Garg S, Narula J, Chandrashekhar Y. Apoptosis and heart failure: clinical relevance and therapeutic target. *J Mol Cell Cardiol* 2005;38(1):73-9.
167. Itoh G, Tamura J, Suzuki M, et al. DNA fragmentation of human infarcted myocardial cells demonstrated by the nick end labeling method and DNA agarose gel electrophoresis. *Am J Pathol* 1995;146:1325-31.
168. Bardales RH, Hailey LS, Xie SS, Schaefer RF, Hsu SM. In situ apoptosis assay for the detection of early acute myocardial infarction. *Am J Pathol* 1996;149:821-9.
169. Abete P, Ferrara N, Cacciatore F, et al. Angina-induced protection against myocardial infarction in adult and elderly patients: a loss of preconditioning mechanism in the aging heart? *J Am Coll Cardiol* 1997;30(4):947-54.
170. Bialostozky D, Rodriguez-Diez G, Zazueta C. [Apoptosis detection in cardiovascular diseases through nuclear cardiology SPECT images]. *Arch Cardiol Mex* 2008;78:217-28.
171. Thimister PW, Hofstra L, Liem IH, et al. In vivo detection of cell death in the area at risk in acute myocardial infarction. *J Nucl Med* 2003;44:391-6.
172. Murakami Y, Takamatsu H, Taki J, et al. ¹⁸F-labelled annexin V: a PET tracer for apoptosis imaging. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2004;31:469-74.

173. Holly TA, Drincic A, Byun Y, et al. Caspase inhibition reduces myocyte cell death induced by myocardial ischemia and reperfusion in vivo. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31:1709-15.
174. Humphreys RA, Haist JV, Chakrabarti S, Feng Q, Arnold JM, Karmazyn M. Orally administered NHE1 inhibitor cariporide reduces acute responses to coronary occlusion and reperfusion. *Am J Physiol* 1999;276:749-57.
175. Weiland U, Haendeler J, Ihling C, et al. Inhibition of endogenous nitric oxide synthase potentiates ischemia-reperfusion-induced myocardial apoptosis via a caspase-3 dependent pathway. *Cardiovasc Res* 2000;45:671-8.
176. Wang Y, Reed M, Wang P, et al. p53 domains: identification and characterization of two autonomous DNA-binding regions. *Genes Dev* 1993;7:2575-86.
177. Fields S, Jang SK. Presence of a potent transcription activating sequence in the p53 protein. *Science* 1990;249:1046-9.
178. Soussi T, May P. Structural aspects of the p53 protein in relation to gene evolution: a second look. *J Mol Biol* 1996;260:623-37.
179. Stenger JE, Mayr GA, Mann K, Tegtmeyer P. Formation of stable p53 homotetramers and multiples of tetramers. *Mol Carcinog* 1992;5(2):102-6.
180. Wang P, Reed M, Wang Y, et al. p53 domains: structure, oligomerization, and transformation. *Mol Cell Biol* 1994;14(8):5182-91.
181. Chowdary DR, Dermody JJ, Jha KK, Ozer HL. Accumulation of p53 in a mutant cell line defective in the ubiquitin pathway. *Mol Cell Biol* 1994;14:1997-2003.
182. Hainaut P, Wiman KG. 30 years and a long way into p53 research. *Lancet Oncol* 2009;10(9):913-9.
183. Chumakov PM. Versatile functions of p53 protein in multicellular organisms. *Biochemistry (Mosc)* 2007;72(13):1399-421.
184. Soussi T, Beroud C. Assessing TP53 status in human tumours to evaluate clinical outcome. *Nat Rev Cancer* 2001;1(3):233-40.
185. Huang JQ, Radinovic S, Rezaiefar P, Black SC. In vivo myocardial infarct size reduction by a caspase inhibitor administered after the onset of ischemia. *Eur J Pharmacol* 2000;402(1-2):139-42.
186. Yaoita H, Ogawa K, Maehara K, Maruyama Y. Attenuation of ischemia/reperfusion injury in rats by a caspase inhibitor. *Circulation* 1998;97(3):276-81.
187. Mersmann J, Zacharowski PA, Schmitz I, Zacharowski K. Caspase inhibitor zVAD.fmk reduces infarct size after myocardial ischaemia and reperfusion in rats but not in mice. *Resuscitation* 2008;79(3):468-74.

188. Li Q, Li B, Wang X, et al. Overexpression of insulin-like growth factor-1 in mice protects from myocyte death after infarction, attenuating ventricular dilation, wall stress, and cardiac hypertrophy. *J Clin Invest* 1997;100(8):1991-9.
189. Buerke M, Murohara T, Skurk C, Nuss C, Tomaselli K, Lefer AM. Cardioprotective effect of insulin-like growth factor I in myocardial ischemia followed by reperfusion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92(17):8031-5.
190. Zhang Y, Kohler K, Xu J, et al. Inhibition of p53 after acute myocardial infarction: reduction of apoptosis is counteracted by disturbed scar formation and cardiac rupture. *J Mol Cell Cardiol* 2011;50(3):471-8.
191. Guttmacher AE, Collins FS. Genomic medicine--a primer. *N Engl J Med* 2002;347:1512-20.
192. Forensic DNA tests and Hardy-Weinberg equilibrium. *Science* 1991;253:1037-41.
193. Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001;291:1304-51.
194. Yamada N, Yamaya M, Okinaga S, et al. Microsatellite polymorphism in the heme oxygenase-1 gene promoter is associated with susceptibility to emphysema. *Am J Hum Genet* 2000;66:187-95.
195. Pinto GR, Yoshioka FK, Silva RL, et al. Prognostic value of TP53 Pro47Ser and Arg72Pro single nucleotide polymorphisms and the susceptibility to gliomas in individuals from Southeast Brazil. *Genet Mol Res* 2008;7:207-16.
196. Sherry ST, Ward M, Sirotkin K. dbSNP-database for single nucleotide polymorphisms and other classes of minor genetic variation. *Genome Res* 1999;9:677-9.
197. Ahmadian A, Gharizadeh B, Gustafsson AC, et al. Single-nucleotide polymorphism analysis by pyrosequencing. *Anal Biochem* 2000;280:103-10.
198. Ramazanzadeh R, McNerney R. Variable Number Of Tandem Repeats (VNTR) and its application in bacterial epidemiology. *Pak J Biol Sci* 2007;10(16):2612-21.
199. Lee JM, Shun CT, Wu MT, et al. The associations of p53 overexpression with p53 codon 72 genetic polymorphism in esophageal cancer. *Mutat Res* 2006;594:181-8.
200. Shen H, Solari A, Wang X, et al. P53 codon 72 polymorphism and risk of gastric cancer in a Chinese population. *Oncol Rep* 2004;11:1115-20.
201. Klug SJ, Rensing M, Koenig J, et al. TP53 codon 72 polymorphism and cervical cancer: a pooled analysis of individual data from 49 studies. *Lancet Oncol* 2009;10:772-84.
202. Koushik A, Tranah GJ, Ma J, et al. p53 Arg72Pro polymorphism and risk of colorectal adenoma and cancer. *Int J Cancer* 2006;119:1863-8.

203. Tommiska J, Eerola H, Heinonen M, et al. Breast cancer patients with p53 Pro72 homozygous genotype have a poorer survival. *Clin Cancer Res* 2005;11:5098-103.
204. Soultz N, Sourvinos G, Dokianakis DN, Spandidos DA. p53 codon 72 polymorphism and its association with bladder cancer. *Cancer Lett* 2002;179:175-83.
205. Fan R, Wu MT, Miller D, et al. The p53 codon 72 polymorphism and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9:1037-42.
206. Pietsch EC, Humbey O, Murphy ME. Polymorphisms in the p53 pathway. *Oncogene* 2006;25:1602-11.
207. Thomas M, Kalita A, Labrecque S, Pim D, Banks L, Matlashewski G. Two polymorphic variants of wild-type p53 differ biochemically and biologically. *Mol Cell Biol* 1999;19:1092-100.
208. Bukhman VL, Ninkina NN, Chumakov PM. Two allelic genes of human p53 code for proteins differing with respect to amino acid sequence. *Genetika* 1988;24:2101-9.
209. Bonafe M, Salvioli S, Barbi C, et al. p53 codon 72 genotype affects apoptosis by cytosine arabinoside in blood leukocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;299(4):539-41.
210. Dumont P, Leu JI, Della Pietra AC, 3rd, George DL, Murphy M. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. *Nat Genet* 2003;33:357-65.
211. Bonafe M, Salvioli S, Barbi C, et al. The different apoptotic potential of the p53 codon 72 alleles increases with age and modulates in vivo ischaemia-induced cell death. *Cell Death Differ* 2004;11(9):962-73.
212. Papadakis EN, Dokianakis DN, Spandidos DA. p53 codon 72 polymorphism as a risk factor in the development of breast cancer. *Mol Cell Biol Res Commun* 2000;3:389-92.
213. Matlashewski GJ, Tuck S, Pim D, Lamb P, Schneider J, Crawford LV. Primary structure polymorphism at amino acid residue 72 of human p53. *Mol Cell Biol* 1987;7:961-3.
214. Matlashewski G, Pim D, Banks L, Crawford L. Alternative splicing of human p53 transcripts. *Oncogene Res* 1987;1:77-85.
215. Almeida A. Pendiente de publicación. 2012.
216. Vassilev LT, Vu BT, Graves B, et al. In vivo activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2. *Science* 2004;303:844-8.
217. Chen J, Wu X, Lin J, Levine AJ. mdm-2 inhibits the G1 arrest and apoptosis functions of the p53 tumor suppressor protein. *Mol Cell Biol* 1996;16:2445-52.

218. Ito A, Kawaguchi Y, Lai CH, et al. MDM2-HDAC1-mediated deacetylation of p53 is required for its degradation. *Embo J* 2002;21:6236-45.
219. Brenkman AB, de Keizer PL, van den Broek NJ, Jochemsen AG, Burgering BM. Mdm2 induces mono-ubiquitination of FOXO4. *PLoS One* 2008;3:2819.
220. Honda R, Tanaka H, Yasuda H. Oncoprotein MDM2 is a ubiquitin ligase E3 for tumor suppressor p53. *FEBS Lett* 1997;420:25-7.
221. Ravi R, Mookerjee B, Bhujwala ZM, et al. Regulation of tumor angiogenesis by p53-induced degradation of hypoxia-inducible factor 1alpha. *Genes Dev* 2000;14:34-44.
222. Bond GL, Hu W, Bond EE, et al. A single nucleotide polymorphism in the MDM2 promoter attenuates the p53 tumor suppressor pathway and accelerates tumor formation in humans. *Cell* 2004;119:591-602.
223. Arva NC, Gopen TR, Talbott KE, et al. A chromatin-associated and transcriptionally inactive p53-Mdm2 complex occurs in mdm2 SNP309 homozygous cells. *J Biol Chem* 2005;280(29):26776-87.
224. Menin C, Scaini MC, De Salvo GL, et al. Association between MDM2-SNP309 and age at colorectal cancer diagnosis according to p53 mutation status. *J Natl Cancer Inst* 2006;98(4):285-8.
225. Hong Y, Miao X, Zhang X, et al. The role of P53 and MDM2 polymorphisms in the risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2005;65(20):9582-7.
226. Alhopuro P, Ylisaukko-Oja SK, Koskinen WJ, et al. The MDM2 promoter polymorphism SNP309T-->G and the risk of uterine leiomyosarcoma, colorectal cancer, and squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Med Genet* 2005;42(9):694-8.
227. Bond GL, Hu W, Levine AJ. MDM2 is a central node in the p53 pathway: 12 years and counting. *Curr Cancer Drug Targets* 2005;5(1):3-8.
228. Bond GL, Hirshfield KM, Kirchhoff T, et al. MDM2 SNP309 accelerates tumor formation in a gender-specific and hormone-dependent manner. *Cancer Res* 2006;66(10):5104-10.
229. Bougeard G, Baert-Desurmont S, Tournier I, et al. Impact of the MDM2 SNP309 and p53 Arg72Pro polymorphism on age of tumour onset in Li-Fraumeni syndrome. *J Med Genet* 2006;43(6):531-3.
230. Alt JR, Bouska A, Fernandez MR, Cerny RL, Xiao H, Eischen CM. Mdm2 binds to Nbs1 at sites of DNA damage and regulates double strand break repair. *J Biol Chem* 2005;280:18771-81.
231. Lundgren K, Montes de Oca Luna R, McNeill YB, et al. Targeted expression of MDM2 uncouples S phase from mitosis and inhibits mammary gland development independent of p53. *Genes Dev* 1997;11:714-25.

232. Kajstura J, Liu Y, Baldini A, et al. Coronary artery constriction in rats: necrotic and apoptotic myocyte death. *Am J Cardiol* 1998;82(5A):30K-41K.
233. Cheng W, Kajstura J, Nitahara JA, et al. Programmed myocyte cell death affects the viable myocardium after infarction in rats. *Exp Cell Res* 1996;226(2):316-27.
234. Prescimone T, Lionetti V, Cabiati M, et al. Apoptotic transcriptional profile remains activated in late remodeled left ventricle after myocardial infarction in swine infarcted hearts with preserved ejection fraction. *Pharmacol Res* 2013;70(1):41-9.
235. Erhardt L, Herlitz J, Bossaert L, et al. Task force on the management of chest pain. *Eur Heart J* 2002;23(15):1153-76.
236. Antman EM, Anbe DT, Armstrong PW, et al. ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction--executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 1999 Guidelines for the Management of Patients With Acute Myocardial Infarction). *Circulation* 2004;110(5):588-636.
237. Jimenez-Navarro M, Jose Gomez-Doblas J, Gomez G, et al. [The influence of angina the week before a first myocardial infarction on short and medium-term prognosis]. *Rev Esp Cardiol* 2001;54(10):1161-6.
238. Andreotti F, Pasceri V, Hackett DR, Davies GJ, Haider AW, Maseri A. Preinfarction angina as a predictor of more rapid coronary thrombolysis in patients with acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1996;334(1):7-12.
239. Schroder R, Wegscheider K, Schroder K, Dissmann R, Meyer-Sabellek W. Extent of early ST segment elevation resolution: a strong predictor of outcome in patients with acute myocardial infarction and a sensitive measure to compare thrombolytic regimens. A substudy of the International Joint Efficacy Comparison of Thrombolytics (INJECT) trial. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1657-64.
240. Schiller NB, Shah PM, Crawford M, et al. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. *J Am Soc Echocardiogr* 1989;2(5):358-67.
241. The Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) trial. Phase I findings. TIMI Study Group. *N Engl J Med* 1985;312(14):932-6.
242. McKee PA, Castelli WP, McNamara PM, Kannel WB. The natural history of congestive heart failure: the Framingham study. *N Engl J Med* 1971;285(26):1441-6.

243. Lazar V, Hazard F, Bertin F, Janin N, Bellet D, Bressac B. Simple sequence repeat polymorphism within the p53 gene. *Oncogene* 1993;8(6):1703-5.
244. Nienhuis MB, Ottervanger JP, de Boer MJ, et al. Prognostic importance of creatine kinase and creatine kinase-MB after primary percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction. *Am Heart J* 2008;155(4):673-9.
245. Nienhuis MB, Ottervanger JP, Dambrink JH, et al. Comparative predictive value of infarct location, peak CK, and ejection fraction after primary PCI for ST elevation myocardial infarction. *Coron Artery Dis* 2009;20(1):9-14.
246. Rentrop KP, Cohen M, Blanke H, Phillips RA. Changes in collateral channel filling immediately after controlled coronary artery occlusion by an angioplasty balloon in human subjects. *J Am Coll Cardiol* 1985;5(3):587-92.
247. Hammermeister KE, DeRouen TA, Dodge HT. Variables predictive of survival in patients with coronary disease. Selection by univariate and multivariate analyses from the clinical, electrocardiographic, exercise, arteriographic, and quantitative angiographic evaluations. *Circulation* 1979;59(3):421-30.
248. Group MPR. Risk stratification and survival after myocardial infarction. *N Engl J Med* 1983;309(6):331-6.
249. Steg PG, James SK, Atar D, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2012;33(20):2569-619.
250. Nishi N, Nakanishi N, Kuroda K, Koizumi K, Yoshikawa J, Tatara K. Relationships of site of infarction and history of previous infarction with short- and long-term prognosis after acute myocardial infarction in Japan. *J Clin Epidemiol* 1992;45(1):39-45.
251. Behar S, Rabinowitz B, Zion M, et al. Immediate and long-term prognostic significance of a first anterior versus first inferior wall Q-wave acute myocardial infarction. Secondary Prevention Reinfarction Israeli Nifedipine Trial (SPRINT) Study Group. *Am J Cardiol* 1993;72(18):1366-70.
252. Stone PH, Raabe DS, Jaffe AS, et al. Prognostic significance of location and type of myocardial infarction: independent adverse outcome associated with anterior location. *J Am Coll Cardiol* 1988;11(3):453-63.
253. Maisel AS, Gilpin E, Hoit B, et al. Survival after hospital discharge in matched populations with inferior or anterior myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1985;6(4):731-6.
254. Murphy JF, Kahn MG, Krone RJ. Prethrombolytic versus thrombolytic era risk stratification of patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1995;76(11):827-9.

255. Amigoni M, Meris A, Thune JJ, et al. Mitral regurgitation in myocardial infarction complicated by heart failure, left ventricular dysfunction, or both: prognostic significance and relation to ventricular size and function. *Eur Heart J* 2007;28(3):326-33.
256. Bourke S, Conroy RM, Mulcahy R, Robinson K. Aetiological and prognostic correlates of site of myocardial infarction. *Eur Heart J* 1988;9(7):734-9.
257. Hochman JS, Bulkley BH. Expansion of acute myocardial infarction: an experimental study. *Circulation* 1982;65:1446-50.
258. Schneider RM, Chu A, Akaishi M, Weintraub WS, Morris KG, Cobb FR. Left ventricular ejection fraction after acute coronary occlusion in conscious dogs: relation to the extent and site of myocardial infarction. *Circulation* 1985;72(3):632-8.
259. Burns RJ, Gibbons RJ, Yi Q, et al. The relationships of left ventricular ejection fraction, end-systolic volume index and infarct size to six-month mortality after hospital discharge following myocardial infarction treated by thrombolysis. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(1):30-6.
260. Ndrepepa G, Mehilli J, Martinoff S, Schwaiger M, Schomig A, Kastrati A. Evolution of left ventricular ejection fraction and its relationship to infarct size after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2007;50(2):149-56.
261. Allen DG, Orchard CH. Myocardial contractile function during ischemia and hypoxia. *Circ Res* 1987;60(2):153-68.
262. Chareonthaitawee P, Christian TF, Hirose K, Gibbons RJ, Rumberger JA. Relation of initial infarct size to extent of left ventricular remodeling in the year after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1995;25(3):567-73.
263. Lamas GA, Pfeffer MA. Left ventricular remodeling after acute myocardial infarction: clinical course and beneficial effects of angiotensin-converting enzyme inhibition. *Am Heart J* 1991;121(4 Pt 1):1194-202.
264. Opie LH, Commerford PJ, Gersh BJ, Pfeffer MA. Controversies in ventricular remodelling. *Lancet* 2006;367:356-67.
265. Macchia A, Levantesi G, Marfisi RM, et al. [Determinants of late-onset heart failure in myocardial infarction survivors: GISSI Prevenzione trial results]. *Rev Esp Cardiol* 2005;58(11):1266-72.
266. Velazquez EJ, Francis GS, Armstrong PW, et al. An international perspective on heart failure and left ventricular systolic dysfunction complicating myocardial infarction: the VALIANT registry. *Eur Heart J* 2004;25(21):1911-9.
267. Kannel WB, Wilson PW. An update on coronary risk factors. *Med Clin North Am* 1995;79(5):951-71.

268. Kashani A, Giugliano RP, Antman EM, et al. Severity of heart failure, treatments, and outcomes after fibrinolysis in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Eur Heart J* 2004;25(19):1702-10.
269. Moller JE, Brendorp B, Ottesen M, et al. Congestive heart failure with preserved left ventricular systolic function after acute myocardial infarction: clinical and prognostic implications. *Eur J Heart Fail* 2003;5(6):811-9.
270. Ali AS, Rybicki BA, Alam M, et al. Clinical predictors of heart failure in patients with first acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1999;138(6 Pt 1):1133-9.
271. Himmelmann A. Hypertension: an important precursor of heart failure. *Blood Press* 1999;8(5-6):253-60.
272. Levy D, Larson MG, Vasan RS, Kannel WB, Ho KK. The progression from hypertension to congestive heart failure. *Jama* 1996;275(20):1557-62.
273. Juanatey JR, Ezquerro EA, Vidal JV, Caro JL, Acuna JG, Maqueda IG. [Impact of hypertension in cardiac diseases in Spain. The CARDIOTENS Study 1999]. *Rev Esp Cardiol* 2001;54(2):139-49.
274. Mocanu MM, Baxter GF, Yellon DM. Caspase inhibition and limitation of myocardial infarct size: protection against lethal reperfusion injury. *Br J Pharmacol* 2000;130(2):197-200.
275. Walker KK, Levine AJ. Identification of a novel p53 functional domain that is necessary for efficient growth suppression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93(26):15335-40.
276. Sakamuro D, Sabbatini P, White E, Prendergast GC. The polyproline region of p53 is required to activate apoptosis but not growth arrest. *Oncogene* 1997;15(8):887-98.
277. Murphy ME. Polymorphic variants in the p53 pathway. *Cell Death Differ* 2006;13(6):916-20.
278. Huey BL, Gheorghiade M, Crampton RS, et al. Acute non-Q wave myocardial infarction associated with early ST segment elevation: evidence for spontaneous coronary reperfusion and implications for thrombolytic trials. *J Am Coll Cardiol* 1987;9(1):18-25.
279. Hashimoto T, Kambara H, Fudo T, et al. Non-Q wave versus Q wave myocardial infarction: regional myocardial metabolism and blood flow assessed by positron emission tomography. *J Am Coll Cardiol* 1988;12(1):88-93.
280. Nicod P, Gilpin E, Dittrich H, et al. Short- and long-term clinical outcome after Q wave and non-Q wave myocardial infarction in a large patient population. *Circulation* 1989;79(3):528-36.
281. Benhorin J, Moss AJ, Oakes D, et al. The prognostic significance of first myocardial infarction type (Q wave versus non-Q wave) and Q wave location. The Multicenter Diltiazem Post-Infarction Research Group. *J Am Coll Cardiol* 1990;15(6):1201-7.

282. Park SE, Tani A, Minamino T, Azuma J, Kishimoto S. Coronary angiographic features within 48 hours from onset of non-Q wave myocardial infarction with R wave regression and no ST segment depression. *Cardiology* 1990;77(2):121-9.
283. Harper RW, Kennedy G, DeSanctis RW, Hutter AM, Jr. The incidence and pattern of angina prior to acute myocardial infarction: a study of 577 cases. *Am Heart J* 1979;97(2):178-83.
284. Iglesias Garriz I, Sastre Ibarretxe M, Delgado Fernandez S, et al. Influence of pre-infarction angina on mid-term mortality after acute myocardial infarction. *Rev Esp Cardiol* 2000;53(10):1329-34.
285. Iglesias-Garriz I, Coloma CG, Fernandez FC, Gomez CO. In-hospital mortality and early preinfarction angina: a meta-analysis of published studies. *Rev Esp Cardiol* 2005;58(5):484-90.
286. Christian TF, Schwartz RS, Gibbons RJ. Determinants of infarct size in reperfusion therapy for acute myocardial infarction. *Circulation* 1992;86(1):81-90.
287. Gloria-Bottini F, Banci M, Saccucci P, et al. p53 codon 72 polymorphism and coronary artery disease: evidence of association with left ventricular ejection fraction. *Am J Med Sci* 2012;343:127-30.
288. Hori M, Inoue M, Fukui S, et al. Correlation of ejection fraction and infarct size estimated from the total CK released in patients with acute myocardial infarction. *Br Heart J* 1979;41(4):433-40.
289. Rodriguez-Calvo MS, Turret MN, Concheiro L, Munoz JI, Suarez-Penaranda JM. Detection of apoptosis in ischemic heart. Usefulness in the diagnosis of early myocardial injury. *Am J Forensic Med Pathol* 2001;22(3):278-84.
290. Goldberg RJ, Glatfelter K, Burbank-Schmidt E, Lessard D, Gore JM. Trends in community mortality due to coronary heart disease. *Am Heart J* 2006;151:501-7.
291. Page DL, Caulfield JB, Kastor JA, DeSanctis RW, Sanders CA. Myocardial changes associated with cardiogenic shock. *N Engl J Med* 1971;285:133-7.
292. Hellermann JP, Jacobsen SJ, Gersh BJ, Rodeheffer RJ, Reeder GS, Roger VL. Heart failure after myocardial infarction: a review. *Am J Med* 2002;113(4):324-30.
293. Abbate A, Biondi-Zoccai GG, Baldi A. Pathophysiologic role of myocardial apoptosis in post-infarction left ventricular remodeling. *J Cell Physiol* 2002;193(2):145-53.
294. Abbate A, Narula J. Role of apoptosis in adverse ventricular remodeling. *Heart Fail Clin* 2012;8:79-86.
295. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications. *Circulation* 1990;81:1161-72.

296. Bolognese L, Neskovic AN, Parodi G, et al. Left ventricular remodeling after primary coronary angioplasty: patterns of left ventricular dilation and long-term prognostic implications. *Circulation* 2002;106:2351-7.
297. Capasso JM, Jeanty MW, Palackal T, Olivetti G, Anversa P. Ventricular remodeling induced by acute nonocclusive constriction of coronary artery in rats. *Am J Physiol* 1989;257(6 Pt 2):H1983-93.
298. Anversa P, Meggs LG. Cardiac anatomy and ventricular loading after myocardial infarction. *Circulation* 1993;87:22-7.
299. Sam F, Sawyer DB, Chang DL, et al. Progressive left ventricular remodeling and apoptosis late after myocardial infarction in mouse heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;279(1):H422-8.
300. Takemura G, Fujiwara H. Role of apoptosis in remodeling after myocardial infarction. *Pharmacol Ther* 2004;104(1):1-16.
301. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26(4):239-57.
302. Haupt Y, Maya R, Kazaz A, Oren M. Mdm2 promotes the rapid degradation of p53. *Nature* 1997;387(6630):296-9.
303. Li Y, Zhao H, Sun L, Huang L, Yang Q, Kong B. MDM2 SNP309 is associated with endometrial cancer susceptibility: a meta-analysis. *Hum Cell* 2011;24(2):57-64.
304. Zou JH, An L, Chen S, Ren LQ. XPA A23G polymorphism and lung cancer risk: a meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2012;39(2):1435-40.
305. Cho YG, Choi BJ, Song JH, et al. No association of MDM2 T309G polymorphism with susceptibility to Korean gastric cancer patients. *Neoplasma* 2008;55(3):256-60.
306. Ma H, Hu Z, Zhai X, et al. Polymorphisms in the MDM2 promoter and risk of breast cancer: a case-control analysis in a Chinese population. *Cancer Lett* 2006;240(2):261-7.
307. Chen B, Cao L, Hu KW, Zhang JW, Meng XL, Xiong MM. MDM2 SNP309 is an ethnicity-dependent risk factor for digestive tract cancers. *Tumour Biol* 2013;2013:13.
308. Wang LH, Wang X, Xu WT, Hu YL. MDM2 rs2279744 polymorphism and endometrial cancer: a meta-analysis. *Tumour Biol* 2013:30.
309. Cheng H, Ma B, Jiang R, et al. Individual and combined effects of MDM2 SNP309 and TP53 Arg72Pro on breast cancer risk: an updated meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2012;39(9):9265-74.
310. Manfredi JJ. The Mdm2-p53 relationship evolves: Mdm2 swings both ways as an oncogene and a tumor suppressor. *Genes Dev* 2010;24(15):1580-9.

311. Zhang Y, Wolf GW, Bhat K, et al. Ribosomal protein L11 negatively regulates oncoprotein MDM2 and mediates a p53-dependent ribosomal-stress checkpoint pathway. *Mol Cell Biol* 2003;23(23):8902-12.
312. Ganguli G, Wasylyk B. p53-independent functions of MDM2. *Mol Cancer Res* 2003;1(14):1027-35.
313. McDonnell TJ, Montes de Oca Luna R, Cho S, Amelse LL, Chavez-Reyes A, Lozano G. Loss of one but not two mdm2 null alleles alters the tumour spectrum in p53 null mice. *J Pathol* 1999;188(3):322-8.
314. Cordon-Cardo C, Latres E, Drobnjak M, et al. Molecular abnormalities of mdm2 and p53 genes in adult soft tissue sarcomas. *Cancer Res* 1994;54(3):794-9.
315. Gu L, Zhu N, Zhang H, Durden DL, Feng Y, Zhou M. Regulation of XIAP translation and induction by MDM2 following irradiation. *Cancer Cell* 2009;15(5):363-75.