

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN MÉDICA

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS

SEDE CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA, IMSS

**“REMODELACIÓN ARTERIAL CORONARIA Y SU ASOCIACIÓN
CON LA RESPUESTA INFLAMATORIA, ANTES Y DESPUES DE
ANGIOPLASTÍA CORONARIA TRANSLUMINAL PERCUTÁNEA,
EN PACIENTES CON ANGINA INESTABLE”**

TESIS DE POSGRADO

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS

P R E S E N T A:

DRA. MARIA ALEJANDRA G. MADRID MILLER*

TUTOR: DR. GUILLERMO CAREAGA REYNA**

ASESOR: DR. FRANCISCO BLANCO FAVELA ***



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

COLABORADORES:

LUIS CHAVEZ SANCHES QFB****

DRA. GABRIELA BORRAYO SANCHEZ*

DR. ALONZO L. AUTREY CABALLERO*****

Dr. ARTURO ABUNDES*****

DR. MARIANO LEDEZMA VELASCO*****

**Médico cardiólogo adscrito a la Unidad de Cuidados Intensivos Cardiovasculares, Hospital de Cardiología, Centro Médico Nacional Siglo XXI.*

*** Cirujano cardiorácico, Jefe de la División de Cirugía del Hospital de Cardiología, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas.*

****Médico inmunólogo. Unidad de investigación Médica en Inmunología del Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI. Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas.*

*****Químico farmacobiólogo. de investigación Médica en Inmunología del Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI.*

******Médico cardiólogo. Jefe de Servicio de la Unidad de Cuidados Intensivos Cardiovasculares, Hospital de Cardiología de Centro Médico Nacional Siglo XXI*

******Médico cardiólogo intervencionista. Servicio de Hemodinamia del Hospital de Cardiología, Centro Médico Nacional Siglo XXI.*

Este trabajo se llevó al cabo en el Hospital de Cardiología de Centro Médico Nacional Siglo XXI, además se contó con el apoyo del Laboratorio de Investigación Médica en Inmunología del Hospital de Pediatría también del CMN SXXI. Este proyecto recibió apoyo económico por parte del FOFOI y la autora contó con la beca del CONACYT y del IMSS, como apoyo para dedicar tiempo completo al curso de Maestría y la elaboración del presente proyecto.

“Estoy satisfecho con el misterio de la vida y con el conocimiento, el sentido, de la maravillosa estructura de la existencia. Con el humilde intento de comprender aunque más no sea una porción diminuta de la Razón que se manifiesta en la naturaleza.”

Albert Einstein

AGRADECIMIENTOS

A mis padres:

Por haberme brindado lo más preciado en el mundo "La vida", gracias a su ejemplo, su apoyo incondicional, su inmenso amor y comprensión, me han impulsado a superarme día con día.

A mis hermanos:

Por que siempre he contado con su gran apoyo, por su tolerancia en mis malos momentos y su compañía en los buenos.

Al Dr. Francisco Blanco:

Por su orientación y apoyo tanto académico, técnico, como económico, para la realización de este trabajo, por compartir mis objetivos y ayudarme a conseguirlos, pero sobre todo por sus consejos y por brindarme su valiosa amistad.

A mis compañeros, amigos y colaboradores:

Por su invaluable ayuda, comprensión y enseñarme a valorar lo que es la amistad.

INDICE

RESUMEN Y ABSTRACT	6
1. ANTECEDENTES.....	8
2. JUSTIFICACION.....	13
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
4. HIPOTESIS.....	14
5. OBJETIVO GENERAL	14
6. DISEÑO DEL ESTUDIO.....	15
7. MUESTRA DEL ESTUDIO.....	15
A) POBLACION EN ESTUDIO.....	15
B) GRUPOS DE ESTUDIO.....	15
C) CRITERIOS DE SELECCION.....	15
C.1. CRITERIOS DE INCLUSION.....	15
C.2. CRITERIOS DE NO INCLUSION.....	16
C.3. CRITERIOS DE ELIMINACION.....	17
D) TAMAÑO DE MUESTRA.....	17
E) VARIABLES.....	17
F) DEFINICION DE VARIABLES.....	18
G) PROCEDIMIENTOS.....	20
8. ANALISIS ESTADISTICO.....	25
9. CONSIDERACIONES ETICAS.....	26
10.RESULTADOS.....	27
11.DISCUSION.....	33
12.CONCLUSIONES.....	36
13.TABLAS Y FIGURAS.....	37
14.REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	51
15.ANEXOS.....	57

I. INTRODUCCIÓN

Los síndromes coronarios agudos son de las primeras causas de morbilidad y mortalidad en los países industrializados o en vías de desarrollo. En Estados Unidos de Norteamérica, la incidencia es de 226 casos de angina inestable por cada 100 000 habitantes, anualmente¹. De acuerdo al reporte de Theroux en el período comprendido de 1985-1991, esta enfermedad fue la causa de ingreso a una unidad de cuidados intensivos coronarios hasta en el 55%, con una incidencia de infarto del miocardio del 15% al 20% y una mortalidad de 4% al 15%². En la actualidad con las nuevas estrategias terapéuticas, se reporta una mortalidad del 6.3 al 11% a los 6 meses^{3 - 5}. Si bien es cierto que se han logrado importantes avances científicos y tecnológicos en las últimas décadas, que han mejorado la calidad de vida de los individuos, el costo tan alto de estos procedimientos obliga a buscar métodos para su prevención primaria y secundaria, mediante el control de factores de riesgo y el empleo de diferentes alternativas terapéuticas específicas.

II. RESUMEN

“Remodelación arterial coronaria y su asociación con la respuesta inflamatoria, antes y después de angioplastia coronaria transluminal percutánea, en pacientes con angina inestable”

Objetivo: Establecer la asociación entre el patrón de secreción de citocinas, tanto sérica como de las células T activadas *in vitro*, de pacientes con angina inestable y remodelación positiva de la arteria culpable, antes y después de angioplastia guiada por ultrasonido (USIV) y el tipo de respuesta clínica y angiográfica 6 meses después del procedimiento.

Pacientes y Métodos: Pacientes con angina inestable sometidos a angioplastia. Se analizó el USIV, el fenotipo de respuesta inmune a LDL oxidada de células T activadas *in Vitro*, concentraciones séricas de interleucinas (IL-8, IL-10 y TGF- β 1) y proteína C reactiva (PC-R), antes y 6 meses después de la angioplastia.

Resultados: Se incluyeron 14 pacientes, en su seguimiento 7 presentaron angor recurrente y 6 de ellos reestenosis, éstos pacientes presentaron mayor porcentaje del área de la placa ($p = 0.015$), concentraciones séricas mayores de PC-R (1.27 vs 0.43mg/dl, $p = 0.029$), IL-8, TGF β 1 y anticuerpos anti-LDLoxidada IgM, pero niveles menores de IL-10 (52.09 vs 141.5pg/ml, $p = 0.035$), en comparación con pacientes que no lo presentaron. *In Vitro*, las concentraciones de IL-10 fueron mayores en sobrenadante de cultivos de pacientes que no presentaron eventos recurrentes.

Conclusiones: Los pacientes con angina inestable y remodelación arterial positiva con respuesta TH1 se asocia con recurrencia de eventos isquémicos, reestenosis e incremento en el porcentaje del área de la placa. Un predominio de la respuesta TH2 se asocia con una mejor evolución. Al parecer la LDLoxidada puede desencadenar esta respuesta.

ABSTRACT

“Coronary artery remodeling and its association with the inflammatory response before and after percutaneous coronary angioplasty in patients with unstable angina”

Objective: To associate the type of cytokine secretion from *in vitro* activated T cells, and serum concentration, from patients with unstable angina and coronary outward remodeling, before and after percutaneous coronary angioplasty and the clinical and coronary response 6 months after the procedure.

Patients and method: Patients with unstable angina who require coronary intervention. We evaluated the coronary intravascular ultrasound, the *in vitro* activated T cells immune response to oxidized LDL, and the serum levels of interleukins (IL-8, IL-10 and TGF- β 1) and C reactive protein (CR-P), before and 6 months after angioplasty.

Results: We include 14 patients, in their follow up 7 patients had recurrent angina (just 6 of those presents reestenosis), and had an increase in plaque area percentage, higher serum levels of CR-P (1.27 Vs 0.43 mg/dl, $p=0.029$), of IL-8, TGF- β 1 and IgM anti-oxidized-LDL, but lower levels of IL-10 (52.09 vs. 141.5pg/ml, $p=0.035$), compared with patients without coronary events. In vitro, the IL-10 concentrations were higher in supernatants of cultures from patients that had no coronary events in the follow up.

Conclusion: The patients with unstable angina and coronary outward remodeling with a TH1 immune response are associated with recurrent coronary events and an increase in plaque area percentage. A better outcome was seen with the TH2 immune response. This response can be secondary to oxidized LDL.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

El patrón en la respuesta inmune Th1 y/o Th2 de las células T podría ser decisivo para la progresión de la aterosclerosis y probablemente también en la evolución de la remodelación vascular. Por lo que consideramos importante conocer:

1. En pacientes con angina inestable y remodelación arterial positiva en la lesión aterosclerosa de la arteria culpable ¿Existe asociación entre las concentraciones plasmáticas de citocinas, antes y después de la ACTP guiada por USIV y el tipo de la evolución clínica y angiográfica 6 meses después del procedimiento?
2. ¿Existe asociación entre el patrón de secreción de citocinas de las células T, provenientes de estos pacientes, en respuesta a antígeno específico (LDL-ox), antes y después de la ACTP guiada por USIV y el tipo de la evolución clínica y angiográfica 6 meses después del procedimiento?

III. 1. ANTECEDENTES

Los síndromes coronarios agudos incluyen diferentes tipos de presentaciones clínicas como la angina inestable, el infarto agudo de miocardio sin onda Q y el infarto con onda Q. La fisiopatología de la angina inestable y del infarto del miocardio, en esencia es la misma, su inicio es bajo un sustrato de enfermedad arterial coronaria aterosclerosa, el cual es un proceso complejo relacionado con la activación de diferentes tipos celulares, la producción y liberación de citocinas, así como factores de crecimiento.

Se sugiere la posibilidad de que, el proceso inflamatorio que caracteriza a la enfermedad coronaria inestable, activa a la proteína C reactiva (P-CR) y ésta puede ser un factor causal de la inestabilidad⁶⁻⁸. La P-CR modula las funciones de polimorfonucleares y estimula la producción del factor tisular de células mononucleares, uno de los iniciadores de la coagulación. Uno de los primeros estudios que analizaron la relación de la P-CR con la enfermedad arterial coronaria, reclutó un total de 12,866 individuos aparentemente sanos y aunque

no se demostró diferencia significativa en la concentración de P-CR entre los sujetos que presentaron infarto del miocardio y los que no presentaron el evento, si se observó una asociación significativa entre la P-CR y la mortalidad por cardiopatía isquémica (OR 2.8, IC 95% 1.4 - 5.4)⁹. A partir de entonces diversos estudios han mostrado incremento de los niveles de la P-CR en pacientes con síndromes coronarios isquémicos agudos, lo que se ha relacionado a un peor pronóstico intrahospitalario. En diferentes estudios en los que se analizó la combinación de los niveles de la P-CR con otras variables como la troponina T, fibrinógeno, proteína amiloide A, interleucinas y lipoproteínas, no se confirma en todos ellos su valor pronóstico como factor independiente, pero si parece tener un valor pronóstico aditivo en los síndromes isquémicos agudos^{6-8,10-15}.

Hasta el momento se desconoce el origen del estímulo que desencadena este proceso inflamatorio. Existen diversas teorías reportadas en la literatura, que pretenden encontrar este origen. No hay evidencia clara que demuestre que el fenómeno de isquemia-reperfusión, por sí solo sea la causa, ya que en pacientes que cursan con angina vasoespástica se han registrado niveles normales de sustancias proinflamatorias como la P-CR. Tampoco se ha logrado demostrar que la ruptura de la placa que se produce en la angioplastia coronaria con balón en pacientes con angina estable, sea suficiente estímulo para desencadenar una respuesta inflamatoria. Las teorías que han despertado más interés en los últimos años, sugieren como factor estimulante de la inflamación a la reactivación de un proceso infeccioso coronario latente, ya que se han encontrado algunos microorganismos en la placa aterosclerosa, como *Chlamidia pneumoniae* y *Citomegalovirus*. Por otro lado, también se ha considerado la posibilidad de una respuesta autoinmune contra algunos componentes de la placa aterosclerosa, como lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDL-ox)^{4,10}. Al parecer las LDL-ox actúan como autoantígenos y como consecuencia hay secreción de citocinas que a su vez activan a los macrófagos y modulan la función del endotelio vascular y las células de músculo liso. Caligiuri y col.¹⁶, encontraron en estudios *in vitro*, activación del repertorio de receptores para antígeno de las células T en el 65% de los pacientes con angina inestable contra el 23% de los pacientes con angina estable, lo que apoya la hipótesis de que la respuesta inmune dirigida por antígeno podría jugar un papel importante en la inestabilidad clínica de la angina. En este estudio

también se encontró una respuesta proliferativa de las células T a LDL-ox significativamente mayor en pacientes con angina inestable.

La evidencia que se tiene hasta el momento orienta a considerar que los síndromes coronarios isquémicos agudos se asocian a la activación del sistema inmune, principalmente la respuesta de tipo celular, dirigida contra un antígeno específico, ya que se ha encontrado cantidad importante de linfocitos T activados en la circulación sanguínea, así como infiltrando las lesiones aterosclerosas inestables, mediante inmunohistoquímica^{17,18}. Más aun, en estudios clínicos se ha demostrado que tanto la respuesta inmune humoral, como la celular, se encuentran activas en pacientes con angina inestable y los niveles séricos de marcadores inmunológicos elevados con una menor respuesta inflamatoria (PC-R) se asocian a mejor evolución clínica en este grupo de pacientes. Lo que permite considerar, de acuerdo al patrón de secreción de citocinas, que un fenotipo de respuesta inmune Th2 es protectora, mientras que la de tipo Th1 acelerara o inestabiliza la enfermedad aterosclerosa¹⁹.

En el proceso de aterosclerosis, el cúmulo de la placa de ateroma, la respuesta inflamatoria y la proliferación, ocurren en forma simultánea con cambios propios de la pared vascular, al parecer en forma conjunta pueden determinar la inestabilidad de la placa, la severidad de la obstrucción de la luz del vaso, su repercusión hemodinámica y por ende la severidad de la isquemia miocárdica, estos cambios que se presentan en la pared arterial se refieren a la remodelación vascular.

Los probables mecanismos involucrados en la remodelación arterial, tanto en las lesiones aterosclerosas primarias como las lesiones reestenóticas, parecen estar asociados a factores locales, regionales e individuales. Estos asociados a la vulnerabilidad de la placa aterosclerosa, el estrés constante de la pared arterial o "shear stress", el estrés oxidativo, la disfunción endotelial, factores de crecimiento y depósito de colágeno²⁰⁻²².

Los estudios histológicos reportados por Glagov²³ demuestran que, inicialmente la arteria se dilata mientras la placa progresa, por lo tanto en estos momentos no se presenta una disminución en la luz del vaso. Consideró que estas etapas tempranas del desarrollo de la lesión se asocian a dilatación en un intento de

adaptación del vaso. En el momento en que la obstrucción del vaso por la placa es mayor a 40%, la arteria no puede dilatarse a la velocidad suficiente para compensar la expansión de la placa aterosclerosa y es entonces cuando se evidencia una disminución importante del área de la luz del vaso, con incremento del área de estenosis^{23,24}. Estudios clínicos, en pacientes con enfermedad aterosclerosa coronaria, evaluados mediante ultrasonido intravascular (USIV) reportan que la remodelación positiva se encontró del 30% al 39% de los casos y la remodelación negativa del 7% al 15%²³⁻²⁸. Recientemente se ha demostrado que el porcentaje de la obstrucción por la placa aterosclerosa es relativo y que finalmente la remodelación positiva y/o una inadecuada respuesta de esta remodelación son los que determinarán la severidad de la obstrucción y al parecer también el pronóstico de estos pacientes. Se sugiere además que la remodelación positiva puede preceder a una remodelación negativa debido a: 1) inadecuada respuesta de remodelación de la pared vascular por disfunción endotelial; 2) las características de la placa aterosclerosa (mayor depósito de tejido fibroso, matriz extracelular o calcio) que limiten la extensión de la remodelación positiva o se produzca la retracción del vaso. Dangas y cols.²⁹ reportan que de 715 pacientes estudiados que presentaron remodelación positiva, después de ser sometidos a angioplastia coronaria transluminal percutánea (ACTP), requirieron con mayor frecuencia un nuevo procedimiento de revascularización miocárdica durante su seguimiento (31.2%), contra 20% con remodelación negativa. Esto también confirma que, no solo en lesiones aterosclerosas primarias la remodelación vascular juega un papel importante, sino también en la reestenosis después de algún procedimiento de revascularización percutáneo. Las lesiones que se asocian con inflamación intensa, parecen permitir una mayor remodelación vascular que las que resultan de menos inflamación y más fibrosis, como las lesiones térmicas (láser). La composición de las lesiones restenóticas y primarias es similar, solo que en las lesiones restenóticas existe menor cantidad de placa aterosclerosa y mayor componente de neoformación que probablemente pueda modificar la remodelación después del procedimiento³⁰⁻³². Estudios clínicos que emplearon el USIV para la evaluación de las lesiones reestenóticas demostraron que la remodelación negativa se asoció en el 67% al 83% de los casos³³⁻⁴².

Por otro lado, se ha encontrado con mayor frecuencia, que la remodelación positiva se asocia con placas vulnerables, por lo tanto son más susceptibles de ruptura. Parece ser que la remodelación negativa acelera la reducción de la luz

del vaso, pero se asocia a placas más estables según observaciones realizadas en estudios posmortem²⁰. Estudios clínicos demuestran que pacientes con síndromes coronarios isquémicos agudos se asocian con mayor frecuencia de remodelación positiva en el sitio de la lesión culpable^{4, 43-45}.

El papel que juegan los factores de crecimiento en la remodelación arterial ha sido poco estudiado. En estudios experimentales *in vitro*, en muestras obtenidas por aterectomía direccional, se demostró que la expresión del ácido ribonucleico mensajero (RNAm) del TGF β 1 fue significativamente mayor en tejido restenótico ateroscleroso que en las lesiones primarias⁴⁶⁻⁴⁹. Los estudios clínicos no muestran esta consistencia en los resultados^{50,51}.

Se sugiere que el TGF β 1, también influye en la remodelación vascular positiva. Estudios experimentales demostraron que al bloquear los receptores $\alpha_v \beta_3$ disminuyen la concentración de TGF β 1 y se produce una remodelación negativa después de la lesión arterial^{20, 52}. En contraste, el estudio experimental de Smith y col.⁵³ en ratones demostró una reducción de la remodelación negativa al bloquear el TGF β 1. Es posible que la controversia en los resultados de los diferentes estudios se deba a la compleja actividad del TGF β 1, si bien puede ser protectora, también puede ser deletérea con relación a la aterogénesis.

IV.1. OBJETIVOS GENERAL:

1. Establecer la asociación entre el patrón de secreción de citocinas de pacientes con angina inestable y remodelación positiva de la lesión aterosclerosa de la arteria culpable, antes y después de ACTP guiada por USIV y el tipo de respuesta clínica y angiográfica 6 meses después del procedimiento.
2. Establecer la asociación entre el patrón de secreción de citocinas de las células T activadas *in vitro*, de estos pacientes, antes y después de ACTP guiada por USIV y el tipo de respuesta clínica y angiográfica 6 meses después del procedimiento.

IV. 2. HIPOTESIS:

1. La respuesta inmune de fenotipo Th1 en pacientes con angina inestable y remodelación positiva en la lesión aterosclerosa de la arteria culpable antes y después de ACTP guiada por USIV, se asocia con mayor frecuencia de reestenosis o evento isquémico recurrente 6 meses después del procedimiento.
2. La respuesta inmune de fenotipo TH1 en respuesta a LDL-ox de las células provenientes de estos pacientes se asocia a una evolución clínica desfavorable.

IV. 3. JUSTIFICACION:

En México los síndromes isquémicos agudos son la primera causa de muerte en individuos mayores a los 50 años. En nuestro Hospital, a la Unidad de Cuidados Intensivos Coronarios, ingresan aproximadamente 338 individuos por año con diagnóstico de angina inestable (más del 20% del total de ingresos), de los cuales el 45% son sometidos a ACTP. Sin embargo, el 30% al 40% de estos pacientes requieren de un nuevo procedimiento de revascularización en los siguientes 6 meses. Esta situación ha despertado especial interés en métodos modernos de biología molecular y bioquímica enfocados a tratar de explicar la patogenia de la aterosclerosis.

Hasta el momento no se han identificado plenamente el mecanismo por el cual se puede presentar una remodelación positiva o negativa, en fases tempranas o tardías, de la evolución de lesiones aterosclerosas. Es probable que los pacientes con angina

inestable que se caracterizan por la presencia de placa aterosclerosa vulnerable, lesión que con mayor frecuencia se asocia a una remodelación positiva, nos permita valorar la dirección que esta remodelación sigue después de ACTP, en cuanto a la respuesta inmunológica y al proceso inflamatorio. Existe evidencia de que la activación de las células T y su fenotipo de respuesta inmune Th1 o Th2, podrían jugar un papel importante en la inestabilidad de la placa aterosclerosa y en la evolución clínica de los pacientes con enfermedad arterial coronaria. Existen pocos estudios que evalúen la remodelación arterial en pacientes con angina inestable^{4,27,32,43} y más aún, no existen estudios reportados prospectivos (USIV previo y después de ACTP), que completen un seguimiento a mediano o largo plazo mediante USIV, que asocien esta remodelación con el patrón de secreción de citocinas de células T activadas y las características de la placa aterosclerosa en las lesiones primarias, como factores determinantes de la respuesta a procedimientos intervencionistas y la evolución clínica de estos pacientes, objetivo del presente estudio.

V. MATERIAL Y METODOS:

V. 1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio tipo antes y después: prospectivo, longitudinal, no aleatorizado.

V. 2. MUESTRA DEL ESTUDIO:

A) POBLACION EN ESTUDIO:

Se incluyeron pacientes que ingresaron a la Unidad de Cuidados Intensivos Cardiovasculares del Hospital de Cardiología, Centro Médico Nacional siglo XXI con diagnóstico de angina inestable con indicación para estudio de angiografía coronaria y susceptibles de revascularización percutánea.

B) GRUPO DE ESTUDIO:

Un solo grupo de pacientes con angina inestable en quienes se demostró por USIV la presencia de remodelación arterial positiva.

C) CRITERIOS DE SELECCIÓN:

C.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

1. Pacientes de cualquier sexo, de edad menor a 75 años.
2. Pacientes con dolor precordial opresivo de menos de 30 minutos de duración, acompañado o no de disnea, diaforesis, náusea y/o vomito.
3. Inicio de síntomas menor a 6 semanas, o cambio en el patrón de presentación de la angina en los últimos 2 meses.
4. Dolor precordial asociado a cambios electrocardiográficos en el segmento ST con desnivel negativo igual o mayor a 1 mm, o cambios en la onda T (inversión de onda T de ramas simétricas), que se presentó en 2 o más derivaciones que vean la misma cara.
5. Inicio de último evento de angina menor o igual a 48 horas ó haberse logrado su estabilización clínica dentro de este lapso.
6. Aceptación para la realización de estudios diagnósticos y terapéuticos invasivos.

7. Pacientes con remodelación positiva en el sitio de lesión de la arteria culpable y cuya anatomía coronaria se consideró susceptible de angioplastía coronaria percutánea.
8. Firma de consentimiento informado por escrito de su aceptación al presente estudio.

C.2 CRITERIOS DE NO INCLUSION:

1. Procedimiento previo de revascularización miocárdica percutánea de la arterial culpable.
2. Conducción con imagen de bloqueo de rama izquierda del haz de His en el electrocardiograma o ritmo de marcapaso.
3. Enfermedad degenerativa sistémica cuya esperanza de vida fuera menor a 2 años.
4. Enfermedad neoplásica, inflamatoria o proceso infeccioso activo.
5. Pacientes que recibieran fármacos antiinflamatorios o inmunosupresores.
6. Determinación sérica de creatinina igual o mayor a 1.5 mg/dl.
7. Plaquetopenia o discrasia sanguínea conocida.
8. Alergia conocida a medios de contraste yodados.
9. Pacientes con antecedente de cirugía mayor dentro de los 2 meses previos a su ingreso.

C.3 CRITERIOS DE ELIMINACION:

1. Pacientes sometidos a terapia trombolítica.
2. Pacientes que cuya anatomía coronaria los hicieran candidatos a cirugía de revascularización miocárdica.
3. Imposibilidad de obtener imágenes de ultrasonido intravascular óptimas para su análisis, previo a angioplastía y/o en su seguimiento a 6 meses.
4. Pacientes en quienes no se logró completar su seguimiento.

D) TAMAÑO DE LA MUESTRA:

Se calculó para una incidencia de reestenosis de 67% en pacientes con angina inestable con PC-R elevada, contra el 23% de pacientes con PC-R normal¹⁵, un valor de delta de .44, poder de la prueba de 0.80 (1- β) IC 95%. Se requieren 11 pacientes, más 10% de posibles pérdidas, nos da un total de 13 pacientes. Sin embargo, dado que no existen hasta el momento estudios clínicos en la literatura que valoren el comportamiento de la remodelación vascular con relación al fenotipo de respuesta inmune Th1 o Th2 de células T activadas *in vitro*, que nos permitan calcular el tamaño de la muestra con relación a lo que pretendemos encontrar en el presente estudio, se realizará cálculo del poder de la prueba con base en los resultados que se obtengan.

V.3. VARIABLES:

INDEPENDIENTE:

Respuesta inflamatoria.

DEPENDIENTE:

Recurrencia de evento isquémico y/o reestenosis 6 meses después del procedimiento.

Remodelación arterial coronaria 6 meses después de la angioplastia.

CONFUSORAS:

Tratamiento hormonal sustitutivo

Dislipidemia

Diabetes mellitus tipo II

Características de la placa aterosclerosa (ANEXO 1)

Resultado de la ACTP

V.4. DEFINICION DE VARIABLES:

VARIABLE INDEPENDIENTE:

RESPUESTA INFLAMATORIA:

Definición conceptual: es la respuesta del organismo a un estímulo nocivo que involucra activación de diferentes líneas celulares, factores quimiotácticos y de crecimiento.

Definición operativa: Se considerará como respuesta inmune: al fenotipo de respuesta inmune, a LDL-ox, de células T activadas *in vitro* y concentraciones de interleucinas en plasma o suero. Respuesta Th1: secreción de citocinas proinflamatorias IL-8 y P-CR. Respuesta Th2: secreción de citocinas antiinflamatorias: IL-10 y TGF- β 1.

Escala de medición: Cuantitativa continua.

Tipo de medición: IL picogramos/ mililitro y P-CR en miligramos/decilitro

VARIABLE DEPENDIENTE

RECURRENCIA DE EVENTO ISQUEMICO Y/O REESTENOSIS 6 MESES

DESPUES DE LA ACTP

Definición conceptual: Se considera la recurrencia de evento isquémico la presentación clínica, electrocardiográfica o por estudios paraclínicos sugestiva de isquemia miocárdica en los 6 meses siguientes al procedimiento de intervencionismo coronario. Y reestenosis a la pérdida de área luminal mayor del 50% en el estudio angiográfico en el sitio de lesión de la arteria sometida a procedimiento de revascularización percutánea.

Definición operativa: Se consideró la presentación clínica de isquemia a la presencia de angina, infarto del miocardio o muerte cardiovascular; la electrocardiográfica cambios dinámicos en el segmento ST y/o en la onda T; y de reestenosis a la reducción del área luminal en el sitio de de lesión arterial tratada mayor del 50% y/o necesidad de nuevo procedimiento de revascularización coronaria.

Escala de medición: cualitativa

Tipo de medición: nominal (presente o ausente)

REMODELACION ARTERIAL 6 MESES DESPUES DE LA ACTP

Definición conceptual: Son los cambios en el área total del vaso, como mecanismo de adaptación de la pared en el segmento enfermo de la arteria, que fue sometido a ACTP.

Definición operativa: La remodelación se puede presentar como: positiva cuando el área del vaso en el sitio de la lesión es mayor al área del vaso en el segmento sano de referencia y negativa o contracción de la pared en el segmento con la lesión aterosclerosa, cuando el área del vaso del segmento enfermo es igual o menor al área del vaso del segmento sano de referencia.

Cálculo de áreas mediante USIV.

Escala de medición: Cualitativa nominal dicótoma.

Categoría: Positiva o negativa.

VARIABLES DE CONFUSION:

RESULTADO DE ACTP

Definición conceptual: La ACTP es la técnica percutánea de revascularización coronaria que emplea un sistema coaxial de catéteres balón en forma retrógrada vía arterial, que al insuflarse el balón en el segmento enfermo, se produce compresión de la placa aterosclerosa, pero el principal mecanismo por el que se obtiene incremento en la luz del vaso es mediante la ruptura de la placa y dilatación de la pared arterial.

Definición operativa: Se considera ACTP exitosa cuando la lesión residual en el sitio de la estenosis sea menor o igual al 30%, en ausencia de complicaciones mayores. Se considerará fallida cuando la ganancia en el área de la luz del vaso sea menor al 70% o en presencia de complicaciones.

Escala de medición: Cualitativa nominal dicótoma.

Categoría: Exitosa, fallida.

DISLIPIDEMIA:

Definición conceptual: Es la presencia de niveles séricos anormalmente elevados de uno o más de los siguientes: colesterol total, lipoproteínas de baja densidad o triglicérido.

Definición operativa: Se consideraran niveles séricos de colesterol total >200 mg/dl, lipoproteínas de baja densidad > 130 mg/dl y triglicéridos >160 mg/dl.

Escala de medición: Cuantitativa continua.

Categorías: presente o ausente.

V.5. PROCEDIMIENTOS:

Todos los pacientes recibieron terapia farmacológica convencional (antitrombóticos, anticoagulantes, vasodilatadores, betabloqueadores, calcio antagonistas, etc.) de acuerdo a las necesidades médicas de cada caso. Se les realizó ECG de 12 derivaciones diariamente y en caso de evento isquémico recurrente, exámenes de laboratorio incluyendo BH, enzimas cardiacas, perfil de lípidos y PC-R.

CATETERISMO CARDIACO:

De acuerdo al criterio clínico del médico tratante, los pacientes fueron sometidos a angiografía coronaria selectiva izquierda y derecha, 24 a 48 horas posteriores a su estabilización clínica, mediante terapia conservadora o en caso de angina refractaria a tratamiento óptimo. Los pacientes que cumplieron con los criterios de selección fueron considerados para su inclusión. El estudio se grabó en cine de 36 mm para su análisis posterior por dos observadores independientes, en quienes se valoró su concordancia.

ULTRASONIDO INTRAVASCULAR (USIV):

Los pacientes candidatos a ACTP, fueron sometidos a estudio de USIV preangioplastia y postangioplastia, así como en su seguimiento a 6 meses. Previo a la introducción del USIV se administraron 200 microgramos de nitroglicerina intracoronario y 10 000 UI de heparina. El estudio de USIV se realizó mediante el empleo de una sistema mecánico rotacional con consola de sistema CVI INSIGHT (Cardiovascular Imaging Systems, Inc.) para USIV, al cual se incorpora un transductor de 40 megahertz montado en catéter de 3.2 French monorriel, con una vaina de polietileno para la obtención de imágenes de sección transversal planar en tiempo real.

Previa asepsia, antisepsia y colocación de campos estériles, mediante técnica de Seldinger modificada, vía arteria femoral derecha o izquierda se colocó una camisa arterial 8 French a través de la cual se introdujo, con apoyo de guía teflonada, un catéter guía Myler 8 French izquierda o derecha, según sea el caso, y una vez canulada selectivamente la arteria coronaria, se introduce una guía de angioplastia .014" la cual se avanza sobre la arteria culpable hasta el segmento más distal posible de la lesión. Una vez colocada adecuadamente la guía se introduce sobre ésta el catéter de USIV. El catéter de USIV se avanzó a 10 mm distal a la lesión culpable, se realizó el retiro progresivo y lento del transductor hasta llegar al ostium de la coronaria. El estudio de USIV se grabó en cinta de vídeo súper VHS de 0.5-in de alta resolución para su análisis cuantitativo y cualitativo. El estudio se realizó en la proyección en la cual, durante la angiografía selectiva se logro visualizar mejor el sitio de lesión de la arteria culpable, se registró el tipo de proyección y los grados de inclinación, así mismo se midió la distancia existente del ostium de la coronaria al sitio de mayor estenosis de la lesión en estudio, datos que se tomaron como referencia para el estudio de control a los 6 meses.

El análisis del estudio de USIV consistió en la descripción cualitativa de la composición de la placa de acuerdo con las características ultrasonográficas y cuantitativo con: el cálculo del área total del vaso con la medición del área de sección transversal de la lámina elástica externa que llamamos el área total del vaso (ATV), el área de la luz del vaso (AL) al medir el área de sección transversal de la luz del vaso, el área de sección transversal de la placa más la media (P+M), el porcentaje del área de la placa (PAP) o sección transversal de la estenosis. Se realizaron mediciones en el sitio de la lesión obstructiva más significativa (con el mayor PAP) y en un segmento proximal angiográficamente normal de la arteria culpable. La medición del ATV y el AL se realizó mediante planimetría computarizada. El P+M se calculó con $ATV - AL$. El PAP se calculó con $\frac{P+M}{ATV}$. Este método de selección de lesiones y de mediciones se ha reportado previamente en estudios con efecto de valorar los resultados de la angioplastia³⁷⁻⁴². El ATV de la lesión culpable se comparó con el ATV del segmento sano de referencia, para considerar el tipo de remodelación arterial (adecuada o inadecuada).

ANGIOPLASTIA CORONARIA TRANSLUMINAL PERCUTANEA (ACTP):

Posterior al estudio de USIV se procedió con la ACTP. A través del catéter guía Myler y sobre la guía de angioplastia se pasó el catéter balón, el cual se avanzó hasta el sitio de la lesión culpable, donde se realizaron las insuflaciones del balón a su valor nominal, el número de insuflaciones por lesión se determinó de acuerdo con los resultados hagiográficos del procedimiento. La selección del tamaño del catéter balón (o del stent) se realizó de acuerdo a las mediciones realizadas mediante USIV del área total del vaso en dos ángulos perpendiculares en el sitio de mayor estenosis, así como en el segmento de referencia prestenosis o posestenosis. Si las mediciones obtenidas fueron diferentes, se tomó en consideración un promedio de éstas para establecer el diámetro del balón que se emplearía. Una vez terminado el procedimiento se realizó la segunda evaluación mediante USIV.

A todos los pacientes se les realizó angiografía coronaria y USIV de control a los 6 meses posteriores al procedimiento inicial. Esta segunda evaluación angiográfica y ultrasonográfica se realizaron antes en caso de recurrencia de evento isquémico.

Los resultados de los estudios (coronariografía, USIV y la ACTP) fueron evaluados por 2 observadores independientes, la variabilidad ínter observador que se encontró fue una proporción kappa de 0.83.

RESPUESTA INFLAMATORIA (RESPUESTA INMUNOLOGICA):

Se tomaron muestras de sangre para realizar la separación y cultivo de células T, antes de la ACTP y 6 meses después del procedimiento. Se colectaron en un tubo heparinizado con 20 ml de sangre total, 5 ml en tubo con EDTA para determinación de anticuerpos y 7 ml sin anticoagulante para determinación de citocinas en suero. Las muestras de sangre se enviaron al Laboratorio de Investigación de Inmunología del Hospital de Pediatría de Centro Médico Nacional, Siglo XXI, para ser procesadas en un lapso de tiempo no mayor de 2 horas. Las muestras de sangre con EDTA y sin heparina fueron centrifugadas a 1200 r.p.m. a 20°C por 15 minutos para la obtención de suero y plasma respectivamente, se congelaron a -40°C hasta que se procesaron.

SEPARACION DE CELULAS:

La sangre se diluyó en PBS 1X a pH = 7.4 en una relación de 1:3, se agregó 4 ml de lymphoprep Ficoll-Hypaque (NYCOMED) por cada 7 ml de sangre diluida, se centrifugó a 2000 r.p.m. por 30 minutos. Las células mononucleares (CMN) se colectaron de la interfase y se lavaron dos veces con PBS 1X y una vez más con medio RPMI 10% suero fetal bovino (SFB) (Gibco), la viabilidad celular se determinó con azul tripan (Bio Whittaker).

CULTIVOS CELULARES Y ACTIVACION CON ANTIGENO:

Los cultivos se realizaron en placas 96 pozos de fondo plano. Se colocaron 2×10^5 células por pozo, se adicionó la LDL (de paciente o de donador sano) a concentración de 10 $\mu\text{g/ml}$, se ajustó a un volumen total de 200 μl con medio RPMI por pozo, por duplicado. De igual forma, en placas de 24 pozos se cultivaron 1×10^6 células para obtener sobrenadantes. Para control negativo se cultivaron las células únicamente con medio RPMI y para el control positivo de activación se emplearon anticuerpos anti-CD3. Se incubaron a 37°C con 4-5 % de CO₂. Se cosecharon y se obtuvieron los sobrenadantes a las 18, 24, 72 horas y a los 7 días. La activación celular se evaluó mediante citometría de flujo en un citómetro FACS Calibur (Becton & Dickinson) en cada uno de los tiempos y al tiempo 0. Se realizaron marcaje de las células con anti-CD 4, anti-CD 86, anti-CD 25 y anti-CD 69 (unidos a PE o FITC marca 3D Pharmingen) para evaluar la expresión de dichas moléculas. La viabilidad celular se valoró mediante tinción con azul tripan. Se evaluó la proliferación celular a los 7 días de su incubación, empleando como control positivo concanavalina A, mediante incorporación de Timidina ³H (Amersham) y se determinó la radioactividad en un contador beta de centello (Packard 1900TR).

DETERMINACION DE CITOCINAS (IL-1, IL-8, IL-10 Y TGF β 1):

Las determinaciones se realizaron mediante un sistema de ELISA con base en un principio cuantitativo tipo "sandwich enzyme immuno-assay" (Biosource), utilizando dos diferentes anticuerpos monoclonales dirigidos contra dos diferentes epítopes de las interleucinas, anticuerpo de detección biotinilado, buffer con Streptavidin-HRP (SAV) conjugado, cromógeno y solución de paro. Una vez descongeladas las muestras del plasma al tiempo 0 y los sobrenadantes recolectados en los diferentes tiempos, se colocaron en los microplatos cubiertos, junto con un estándar. Se diluyeron tanto los estándares

como la muestra, en el buffer ensayo/dilutor estándar. Se tomaron 100 microlitros de los estándares, de la muestra y del control, se colocaron en los pozos por duplicado y se incubaron por 1 hora. Posteriormente se diluyó el anticuerpo de detección biotinilado en el buffer y se agregaron 50 a 100 microlitros de la dilución a cada pozo excepto en el cromógeno vacío, se cubrió y se incubó por 1 hora a 37°C. Se aspiró la solución de los pozos, se lavaron los pozos con solución lavable y se palmearon con un papel absorbente para remover el exceso de líquido después del lavado final. El SAV se diluyó con el buffer, del cual se agregaron 100 microlitros a cada pozo, se cubrió y se incubaron por 45 minutos. Pasado el tiempo indicado, se aspiró la solución de los pozos. Nuevamente se lavaron y se removió el exceso de líquido con papel absorbente. Se agregaron 100 microlitros de sustrato de tetrametilbenzidino a cada pozo y se incubaron por 15 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. Después de éste tiempo se agregaron 50 a 100 microlitros de solución de paro para detener la reacción. La lectura de los microplatos se realizó a 450 nm en los 30 minutos posteriores, en un lector automatizado.

OBTENCION DE LDL:

Se obtuvieron muestras de sangre de pacientes con angina inestable que no eran candidatos o que rechazaron la ACTP y de donadores sanos. La LDL se separó por gradiente de dilución mediante de la técnica modificada de Yagi¹⁶, a 30 000 r.p.m. durante 24 horas en Ultracentrífuga Beckman LX-90 con rotor de columpio SW 40 Ti hora. Se caracterizó la lipoproteína que se obtuvo con determinación de proteínas, productos de lipoperoxidación con la técnica de TBARS y análisis de subtipos de LDL en gel.

V. 6. ANALISIS ESTADISTICO:

Los resultados se distribuyeron en forma no normal, por lo que se expresan como mediana y percentiles o rangos. La descripción de los grupos fue dependiente antes y después de la ACTP. Las variables independientes cuantitativas se compararon mediante estadística paramétrica con t-Student pareada y no paramétrica con prueba de Wilcoxon para variables pareadas (resultados basales vs. 6 meses), además de coeficiente de correlación rho de Spearman y U Mann Whitney para comparar grupos independientes. Las

variables dicotómicas se probaron con χ^2 o prueba exacta de Fisher dependiendo de los valores esperados. Se consideró significativo un valor de $p \leq 0.05$, con intervalo de confianza del 95%.

V. 7. CONSIDERACIONES ETICAS:

El protocolo de investigación fue sometido a la evaluación y aceptado por el Comité de Ética e Investigación del Hospital de Cardiología de Centro Médico Nacional Siglo XXI.

A todos los pacientes se les explicó detalladamente el procedimiento que se les realizaría, los riesgos, las posibles complicaciones y lo que representa para su enfermedad, por lo que en acuerdo con ello se les solicitó firma en una hoja de consentimiento informado, al incluirse en el estudio. (Anexo 2)

V. 8. RESULTADOS

De un total de 22 pacientes que ingresaron en forma consecutiva a la Unidad de Cuidados Intensivos Cardiovasculares del Hospital de Cardiología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, solo se incluyeron a 14 pacientes que cumplían con los criterios de inclusión y que fueron sometidos a intervención coronaria percutánea como parte de su manejo. Ocho pacientes fueron excluidos del análisis debido a problemas técnicos en el modelo *in vitro* que explicaremos más adelante.

Las características demográficas de los pacientes fueron las siguientes: la mediana de edad de 61 años (rango de 50 a 73 años), 8 hombres y 6 mujeres. La frecuencia de los factores de riesgo cardiovascular fue: diabetes mellitus 4 pacientes, hipertensión arterial sistémica 6, tabaquismo 8 y dislipidemia 7 pacientes. Todos los pacientes habían presentado eventos de angor previo a su ingreso y en 5 casos tenían antecedente de infarto del miocardio previo. El motivo de ingreso fue angina inestable de riesgo intermedio o alto (9 pacientes por angina inestable de reciente inicio, 3 con angina de patrón cambiante y 2 angina postinfarto); de acuerdo con la clasificación de Braunwald¹, se encontró que 7 pacientes estaban en clase IIIB2, 5 pacientes en clase IIIB3 y 2 en clase IIIC3. Todos los pacientes recibieron antiagregantes plaquetarios, heparina, vasodilatador endovenoso, betabloqueador y estatinas, como tratamiento farmacológico para su estabilización. Se incluyó, además un grupo de 12 sujetos sanos con la finalidad de establecer puntos de corte de normalidad para la determinación de anticuerpos anti-ox-LDL.

En el estudio de angiografía coronaria se encontró que 8 de los pacientes tenían enfermedad de 1 vaso epicárdico, 5 con enfermedad de 2 vasos y 1 con enfermedad de tres vasos. La descendente anterior (DA) fue la arteria responsable del evento agudo con mayor frecuencia (11 pacientes), la circunfleja en 2 casos y la coronaria derecha en 1 paciente; arterias a las cuales se les realizó angioplastia coronaria y colocación de stent facilitado por USIV. Se observó que, de acuerdo a características angiográficas, el tipo de lesión aterosclerosa más frecuente fue la "B" (3 de los pacientes con lesión tipo B1 y 8 con B2) y en 3 casos lesión tipo C.

El análisis cualitativo de las imágenes de ultrasonido intravascular mostró que la característica fibrolipídica de la placa aterosclerosa fue más frecuente (7 casos), que la lipídica (4 casos) o fibrosa (3 casos). En 6 pacientes se observó la presencia de calcio de grado ligero (menos de 90° de la circunferencia de la arteria) y sólo un paciente con calcificación de grado severo (> 180°). En el análisis cuantitativo de todos los pacientes se calculó: un ATV con mediana de 16.3mm² (rango de 10.5-25.7 mm²), con diámetro de 4.5mm (3.5-5.7mm), AL de 4.4mm² (3.1-6.4 mm²), con diámetro luminal 2.2mm (1.8-2.8mm) y PAP 72.2% (54.3-83.8%), sin diferencia significativa entre los pacientes que presentaron evento isquémico recurrente o reestenosis comparado con los que presentaron evolución favorable, en los valores basales. Solo uno de los pacientes presentó espasmo coronario como complicación secundaria al USIV, que se resolvió con la administración de verapamilo y nitroglicerina intravascular.

En su seguimiento a 6 meses, 7 de los pacientes presentaron nuevo evento de angor y en 6 de ellos se evidenció la presencia de reestenosis en la angiografía coronaria de control (la DA fue la arteria responsable en 5 casos y la circunfleja en un caso) No hubo diferencias significativas en la distribución del tipo de lesiones angiográficas entre pacientes que presentaron evento isquémico recurrente o reestenosis en comparación con los que no presentaron recurrencia de eventos isquémicos. De los pacientes que cursaron con angina recurrente, 3 tenían antecedente de infarto previo y el motivo de ingreso fue angina inestable de alto riesgo (2 pacientes con angina postinfarto, 2 con angina de patrón cambiante y 3 de reciente inicio). Los factores de riesgo se distribuyeron en forma homogénea entre los pacientes que presentaron nuevo evento de angor en su evolución que los que no lo hicieron. La hipertensión arterial sistémica fue el único factor que se asoció en forma significativa a la recurrencia de eventos isquémicos (p= 0.002, RR= 7.0 IC 95% 1.14 - 42.96).

En el análisis cuantitativo de USIV a los 6 meses se observó que, la pérdida tardía del área y el diámetro luminal del vaso tratado fue similar en ambos grupos (pérdida del AL mediana de -1.40mm² [0.2 a -3.2mm²] y del diámetro luminal de -0.25mm [0 a -1.1mm], en pacientes con evento isquémico recurrente vs. pacientes sin recurrencia de eventos, con pérdida del AL mediana de -0.55mm² [-0.2 a -6.6mm²] y del diámetro luminal -0.32mm² [-0.10 a -1.5mm²], p=NS). Se observó mayor porcentaje del área de la placa en el grupo de pacientes que presentaron reestenosis (60.83 (50.9-70.6)) que en los pacientes

que no cursaron con recurrencia de evento isquémico (48.25 (42.8- 60)), $p = 0.015$; el incremento del PAP fue de 8.48% (19.60 a - 11.8%) en pacientes con reestenosis vs. 4.25% (23.9 a - 3.2%) en los pacientes con evolución favorable, $p=0.075$), además se observó hiperplasia de la íntima en forma importante. En la **Tabla 2 y 3**, se muestra el análisis comparativo de las características angiográficas y de USIV (basales, posangioplastia y a los 6 meses) de los pacientes, de acuerdo a su evolución.

La proteína C reactiva se encontró elevada en 7 de los 14 pacientes, 6 de los cuales recurrieron con eventos de angina o reestenosis (mediana 1.27 mg/dl, rangos de 0.27 a 2.3 mg/dl vs. 0.43 mg/dl, rango 0.01 a 0.8 mg/dl de los pacientes que no presentaron nuevo evento, $p = 0.029$), ver **Figura 1**. De igual forma las cifras de leucocitos en sangre periférica fueron mayores en las paciente con evolución desfavorable, pero con $p=NS$. Aunque las concentraciones plasmáticas de IL-8 tuvieron una tendencia a ser mayores en los pacientes con eventos recurrentes, no se observó significancia estadística (mediana de 24.19 pg/ml, rango 9.15 a 77.49 vs. 10.01 pg/ml con rangos de 2.70 a 46.76 pg/ml, coeficiente de correlación 0.408 $p= 0.07$). Los resultados fueron similares en su seguimiento a los seis meses (11.9 pg/ml, rangos 4.85-42.28 pg/ml de los pacientes con evolución favorable vs. 24.84 pg/ml con rangos 2.40-50.63 pg/ml que recurrieron con evento de angor o reestenosis, $p=NS$).

Las concentraciones plasmáticas de IL-10 fueron mayores en los pacientes que no presentaron eventos isquémicos subsecuentes (mediana de 141.5 pg/ml, rangos de 36.47 a 271.30 vs. 52.09 con rangos de 0.93 a 75.79, $p = 0.035$, RR 0.25, 95% IC 0.075 - 0.83), pero a los 6 meses los valores son similares en ambos grupos (55.59 pg/ml, rangos 23.54-278.30 pg/ml vs. 48.59, 9.03-102.72 pg/ml de los pacientes con recurrencia de evento isquémico, $p=NS$). Además se observó una correlación inversa de los niveles plasmáticas de la IL-10 con las concentraciones séricas de la PC-R (coeficiente de correlación de rho Spearman de -0.477, $p =0.05$) como se muestra en la **Figura 2**. Sin embargo, no se observó la misma tendencia con las concentraciones de TGF β 1 activado, los pacientes que presentaron nuevo evento isquémico o reestenosis mostraron cifras mayores que los pacientes con evolución favorable, aunque sin significancia estadística (854.71 pg/ml, rangos 161.44 a 1413.83 pg/ml de los paciente sin eventos recurrentes Vs. 1139.66 pg/ml, rangos 632.43 a 1902.45

pg/ml en aquellos con angor recurrente o reestenosis, $p=NS$). A los seis meses los resultados de TGF β 1 activado en ambos grupos fueron similares (mediana de 1058.388 pg/ml, rangos 392.53- 2128.65 pg/ml y mediana 1006.49 pg/ml, rangos de 566.83 a 2380.30 pg/ml, de pacientes sin y con evento isquémico recurrente, respectivamente, $p=NS$). En la **Figura 3** se muestra en forma comparativa las diferencias en las concentraciones plasmáticas de IL-8, IL-10 y TGF β 1 activado de los pacientes de acuerdo con su evolución.

Respuesta inmunológica:

La mayoría de los pacientes presentaron niveles séricos elevados de anticuerpos de clase IgG e IgM dirigidos contra LDL-ox, en comparación con un grupo de sujetos sanos de referencia (mediana 0.158 pacientes vs. 0.044 de sanos, $p= 0.001$ y mediana 0.145 pacientes vs. 0.059 sanos, $p< 0.001$ respectivamente) como se puede observar en la **Figura 4**. Sin embargo, no hubo diferencia significativa cuando se comparó al grupo de pacientes que presentaron en su evolución nuevo evento isquémico o reestenosis, con los pacientes que no lo presentaron, no obstante si se observó una tendencia a presentar niveles séricos mayores de anticuerpos anti-ox-LDL del tipo IgM, tanto iniciales como en su control a los 6 meses, en los pacientes con evolución desfavorable (**Figura 5**).

El porcentaje de expresión de moléculas de activación, CD69 y CD25, al momento del cateterismo cardiaco y ACTP fue de 2.57% [0.98 a 11.51%] Vs. 1.27% [0.91 A 13.24%] de expresión de CD69 y 8.5% [0.10 a 16.72%] Vs. 15.06% [6.62 a 25.07%] de expresión de CD 25, en pacientes con Vs. sin angor recurrente o reestenosis, respectivamente ($p=NS$). Los resultados fueron similares en su evolución a los 6 meses. El porcentaje de expresión de CD86 se mantuvo elevado, principalmente en los pacientes que presentaron evento isquémico subsecuente o reestenosis (12.17% [8.03 a 78.92%] valores iniciales y 38.38% [7.65 a 68.14%] a los 6 meses vs. 5.15% [3.43 a 62.56%] iniciales y 10.47% [6.85% a 44.46%]a los 6 meses en pacientes con evolución favorable), pero sin significancia estadística.

Modelo In Vitro:

El modelo *in vitro* se empleó para demostrar la respuesta inmune específica contra LDL. Se realizaron cultivos con células polimorfonucleares provenientes del grupo de pacientes, se incubaron con LDL obtenida de voluntarios sanos

oxidada con sulfato de cobre por 24 horas, como antígeno y se analizaron a las 48 hrs., 72 hrs. y 7 días. En los primeros cultivos se observó muerte celular importante (viabilidad de 78% a 44% desde las primeras 48 a 72 hrs.), sugiriendo que la LDL oxidada con sulfato de cobre, resultaba tóxica para las células (como lo observamos en los cultivos de los 8 pacientes que se excluyeron del análisis); por lo cual se decidió emplear LDL nativa, obtenida de sanos voluntarios y se comparó LDL obtenida de pacientes, a una concentración de 5 y 10 mg/ml de proteína. El índice de proliferación en respuesta a LDL fue similar en ambos grupos (con recurrencia y sin recurrencia de evento isquémico) con una tendencia a ser mayor el nivel de proliferación en las células provenientes de pacientes que presentaron recurrencia (**Figura 7**). Mas aun, se encontró una mejor respuesta cuando se utilizó como antígeno LDL proveniente de pacientes, aunque no encontramos significancia estadística.

Con el fin de determinar la capacidad de la LDL para activar a las células del sistema inmune se determinó expresión de las moléculas de activación (CD69, CD25 y CD86) en estado basal y en cultivos celulares estimuladas con LDL. No se observó diferencia significativa en la expresión de estas moléculas a los diferentes tiempos, en respuesta a la LDL, como se muestra en la **figura 8**. Sin embargo, hubo un discreto descenso en la expresión de estas moléculas observada en las primeras 48 horas, que se recupera a los valores iniciales a los 7 días. La expresión de CD86 se mantuvo elevada principalmente en las células procedentes de pacientes que presentaron evento isquémico subsecuente a los 7 días de incubación, pero sin diferencia estadística (expresión de CD 86 en respuesta a LDL procedente de pacientes 5 mg de 24.94% [0.89-91.63%] vs. 18.40% [5.71-55.10%], con LDL 10 mg de 21.35% [1.17-94.03%] Vs. 17.40% [3.14-56.44%]; con LDL procedente de sujeto sano 5 mg de 24.61% [1.23-86.13%] vs. 16.72% [3.93-50.96%] y con 10 mg de 18.99% [0.4-84.4%] vs. 16.21% [4.3-50.7%] de los pacientes que presentaron eventos subsecuentes de angina o reestenosis Vs. pacientes que no lo presentaron, respectivamente. En la **Tabla 4**, se muestra en forma detallada el porcentaje de expresión de cada una de las moléculas de activación en respuesta a la LDL.

Finalmente, se realizaron determinaciones de citocinas en sobrenadante de los cultivos celulares. Se encontró concentraciones más elevadas de IL-10 en el sobrenadante de los cultivos celulares de los pacientes que no presentaron eventos recurrentes que los que si lo presentaron, aunque sin diferencia

estadísticamente significativa. Las concentraciones de IL-1 tuvieron la misma tendencia. Sin embargo, no se observó diferencias significativas de estas concentraciones en respuesta a los dos tipos de LDL que se emplearon para la activación celular (ver **figura 9 y 10**).

V. 9. DISCUSION:

Diversos estudios clínicos han demostrado que los pacientes con síndrome coronario agudo, sea angina inestable e infarto sin elevación del segmento ST ó infarto con elevación del segmento ST, cursan con una respuesta inflamatoria aumentada. También se sugiere que existe un mecanismo autoinmune que pudiera contribuir a la formación, progresión e inestabilización de las lesiones aterosclerosas, en donde la LDL y principalmente la modificación de esta por oxidación parecen jugar un papel primordial. En el análisis de la respuesta proinflamatoria en nuestro estudio, se observó que la proteína C reactiva se encuentra elevada en los pacientes con angina inestable, ésta se asocia con la recurrencia de eventos isquémicos subsecuentes y con mayor frecuencia de reestenosis, como ya se ha reportado previamente en la literatura^{6,7,9,12-15}. De igual forma la tendencia que se mostró con concentraciones séricas mayores de IL-8, apoya la respuesta proinflamatoria predominante en los pacientes que presentaron peor evolución. El efecto protector de una respuesta antiinflamatoria, ha sido demostrado en estudios que comparan pacientes con angina estable con aquellos con angina inestable, reportando niveles elevados de IL-10 en éstos últimos⁵⁴⁻⁵⁶. Anguera et al.⁵⁷ reporta niveles menores de IL-10 en pacientes con angina inestable que recurren con eventos isquémicos en un seguimiento a 3 meses. Nuestros resultados son similares, encontramos un predominio de respuesta antiinflamatoria en los pacientes que presentaron mejor evolución en su seguimiento a 6 meses y además observamos que los pacientes con concentraciones mayores de IL-10 se asociaban a menor índice de reestenosis. Al parecer la IL-10 ejerce un efecto modulador sobre la respuesta inmune (respuesta tipo TH2), inhibiendo la liberación de citocinas por las células T en forma indirecta, inhibe las moléculas de adhesión celular, así como de factores estimulantes de colonias de granulocitos-macrófagos, del factor tisular, fibrinógeno, de la proliferación de células de músculo liso, expresión de la ciclo-oxigenasa 2 y de la muerte celular⁵⁸⁻⁶¹. Mallat et al.⁶², demuestra en estudios de inmunohistoquímica que, la reducción en la expresión de IL-10 en lesiones aterosclerosas avanzadas se asociaba a una reducción en la expresión de óxido nítrico. Además, también parece inhibir la producción del factor de necrosis tumoral alfa y el óxido nítrico y a su vez proteger al miocardio isquémico y reperfundido a través de la supresión del reclutamiento de neutrófilos^{60,63}. Los niveles de citocinas antiinflamatorias (IL-10) podrían ejercer

su efecto protector al balancear el efecto de citocinas proinflamatorias, disminuyendo la posibilidad de inestabilización de la placa aterosclerosa y mejorando el pronóstico de estos pacientes⁵⁷. Existen otras citocinas con efecto antiinflamatorio, como es la IL-4, agonista del receptor de IL-1 y el factor transformante de crecimiento β 1. Sin embargo, el papel que juega el TGF β 1 aun no es claro, los estudios clínicos que han analizado este factor no muestran consistencia en sus resultados, algunos de ellos han asociados el aumento en las concentraciones séricas de éste con el grado de severidad de la enfermedad arterial coronaria o eventos isquémicos agudos recurrentes, en contraste otros reportan lo contrario⁵⁰⁻⁵². Nosotros encontramos que existía una tendencia a presentar niveles séricos de TGF β 1 activado más altos los pacientes que presentaron recurrencia de eventos de angina o reestenosis, pero sin correlación con el número de vasos enfermos, pero sin significancia estadística. Es probable que el aumento en la liberación de TGF β 1 produzca un aumento en la producción de matriz extracelular y esto contribuya a la progresión e inestabilidad de la placa aterosclerosa^{51,54}. De hecho, en nuestro estudio encontramos concentraciones séricas basales mayores de TGF β 1 activado y menores niveles de IL-10 en los pacientes que presentaron reestenosis o angina recurrente, en quienes, además, se observó mayor incremento en el porcentaje de placa aterosclerosa en su seguimiento a 6 meses. Tanto el incremento en el porcentaje del área de la placa como la presencia de proliferación neointimal fueron los factores que contribuyeron a la reestenosis a los 6 meses del procedimiento, sin modificación en el tipo de remodelación arterial presente en estos pacientes y ésta evolución se asoció a una respuesta inmune de tipo TH1 antes del procedimiento de intervencionismo coronario. No observamos diferencias en el fenotipo de respuesta inmune entre el grupo de pacientes que presentaron una evolución favorable y los que presentaron recurrencia de evento isquémico a los 6 meses de evolución, lo que sugiere que el fenotipo de respuesta inmune en la etapa aguda de de la angina inestable es la que se asocia con el pronóstico de estos pacientes.

Nuestros resultados muestran que la elevación de los niveles séricos de IL-8 se asocian a un peor pronóstico (eventos isquémicos recurrentes y reestenosis), tiene correlación positiva con las concentraciones de PC-R y correlación inversa con los niveles de IL-10, lo que sugiere un predominio de la respuesta inmune tipo TH1 sobre la TH2 con mayor repuesta inflamatoria y por lo tanto, mayor probabilidad de inestabilidad de la placa aterosclerosa, peor pronóstico.

Si bien existen diferentes teorías tratando de explicar la causa de esta respuesta inflamatoria en la aterosclerosis, la teoría lipídica es la más consistente. Con esta finalidad, se realizaron activaciones *in vitro* de las células PMN de los pacientes con LDL oxidada con sulfato de cobre (TBARS 13 nmol/mg de proteína), que aun cuando el grado de oxidación fue menor que el empleado en otros estudios reportados en la literatura, originaba muerte celular importante. Aun cuando, los reportes previos de estudios *in vitro* son divergentes, no se ha logrado demostrar que la LDL nativa pueda ser estímulo suficiente para generar una respuesta, nosotros decidimos realizar la estimulación de las células con LDL nativa procedente de paciente y se comparó con la LDL de sujeto sano, considerando que en el paciente se ha demostrado la presencia de productos de lipoperoxidación en suero y que las características de la molécula de LDL son diferentes (mayor contenido de colesterilester y menor tamaño molecular). Sin embargo, llama la atención que, aun cuando no se observa un gradiente de respuesta a la LDL, se reproduce la respuesta sistémica que presentan los pacientes, observándose menor producción de IL-10 en el sobrenadante de los cultivos de células de los pacientes que presentan recurrencia de eventos isquémicos, también la expresión de CD 86 en respuesta a LDL fue mayor en este grupo de pacientes. Es posible que esta respuesta se deba a la sensibilización por exposición previa de las células, antes de ser extraídas del paciente. Se sabe que CD 86 es una molécula coestimuladora que se logra detectar en células presentadoras de antígeno (macrófagos, células dendríticas, monocitos) y su expresión sea debida, en nuestro estudio, a la exposición a la LDL.

En estudios clínicos se ha demostrado la presencia de anticuerpos contra LDL-ox, tanto en muestras de suero de pacientes con enfermedad arterial coronaria, como en placas aterosclerosas en modelos animales y muestras de aterectomía de arterias de humanos^{44-47,64}. Nosotros encontramos resultados similares, con mayor nivel sérico de anticuerpos anti-LDL-ox, tanto tipo IgG como IgM, en los pacientes con síndrome isquémico agudo, en comparación con los sujetos sanos. Además, pudimos observar que existe tendencia a presentar un predominio de respuesta inmune primaria (anticuerpos tipo IgM) en los pacientes que presentaron eventos recurrentes de isquemia o reestenosis y esto pudiera asociarse a la respuesta proinflamatoria, con exposición reciente de autoantígenos (LDL). El tamaño de muestra pequeño es una limitante en nuestro estudio. Además, es probable que el realizar las activaciones *in Vitro*,

empleando lipoproteínas mínimamente oxidadas, podría ejercer una mayor acción antigénica con la finalidad de reproducir la respuesta inmune que se presenta a nivel sistémico.

V. 10. TABLAS Y GRAFICOS

Variable	Evolución favorable		Angor recurrente o reestenosis	
	ingreso	6 meses	Ingreso	6 meses
IL-8 (pg/ml)	10.01 2.70-46.76	11.94 4.85-42.24	24.19 9.15-77.49	24.84 2.49-50.62
IL-10 (pg/ml)	141.50 ** 36.47-271.30	55.59 23.54-278.30	52.09** 0.92-75.79	48.59 9.00-102.72
TGFβ1 (pg/ml)	854.71 161.44-1413.83	1058.38 392.53-2128.65	1139.66 632.43-1902.45	1006.49 566.83-2380.30
IgG oxLDL (U DO)	0.159 0.111-0.353	0.212 0.108-0.328	0.150 0.08-0.366	0.147 0.061-0.373
IgM oxLDL (U DO)	0.146 0.112-0.188	0.180 0.063-0.234	0.144 0.106-0.213	0.208 0.119-0.257
CD69 (%)	1.27 0.91-13.24	6.07 0.98-13.91	2.57 0.98-11.51	2.98 1.05-11.87
CD25 (%)	15.06 6.62-25.07	6.27 1.85-18.38	8.5 0.10-16.72	3.51 0.10-8.07
CD86 (%)	5.15 3.43-62.56	10.47 6.85-44.46	12.17 8.03-78.92	38.38 7.65-68.14

Tabla 1. Tabla comparativa de las concentraciones séricas de diferentes parámetros de laboratorio de pacientes que presentaron evolución favorable y los que presentaron recurrencia de isquemia o reestenosis. Únicamente se encontró diferencias significativas en los valores iniciales de PC-R e IL-10 (*p=0.05 y **p=0.035)

PARÁMETRO	ANGOR RECURRENTE O REESTENOSIS	
	SI	NO
ANÁLISIS CUALITATIVO		
No. Vasos enfermos:		
1 vaso	3	5
2 vasos	3	2
3 vasos	1	0
Vaso enfermo		
DA	6	5
Circunfleja	0	2
CD	1	0
Tipo de lesión:		
B1	2	1
B2	4	4
C	1	2
Composición de la placa:		
Lipídica	1	3
Fibrolipídica	3	4
Fibrosa	2	1
Calcificación		
< 90°	2	4
≥ 90°	1	0

Tabla 1. Análisis comparativo de la valoración cualitativa de la angiografía coronaria y del USIV de los pacientes con eventos de isquemia recurrente y de pacientes que no lo presentaron. No se observaron diferencias significativas. DA= descendente anterior, CD= coronaria derecha.

PARÁMETRO	ANGOR RECURRENTE O REESTENOSIS	
	SI	NO
ANÁLISIS CUANTITATIVO INICIAL		
ATV (mm ²)	16.4 (10.5-25.7)	16.3 (12.5-18.9)
Diámetro ATV (mm)	4.79 (3.5-5.7)	4.57 (3.9-5.52)
AL (mm ²)	4.23 (3.10-6.40)	4.95 (3.4-6.4)
Diámetro AL (mm)	2.1 (1.8-2.8)	2.3 (2.0-2.6)
PAP (%)	76.65 (57.4-83.8)	64.6 (54.3-77)
DESPUES DE ACTP		
ATV (mm ²)	17.1 (10.2-25.7)	16.6 (12.8-21.4)
Diámetro ATV (mm)	5 (3.8-5.9)	4.45 (4.0-5.7)
AL (mm ²)	8.9 (5.8-16.5)	8.95 (6.3-11.5)
Diámetro AL (mm)	3.15 (2.8-4.5)	3.25 (2.8-3.7)
PAP (%)	45.4 (36.10-62.3)	48.13 (43.7-62.7)
Ganancia AL (mm ²)	5.05 (1-10)	3.75 (2-8)
Ganancia Diámetro luminal	1.10 (0-2)	0.91 (0-2)
6 MESES		
ATV (mm ²)	16.80 (10.5-24)	14.9 (10.0-23.5)
Diámetro ATV (mm)	4.95 (3.5-5.8)	4.32 (3.7-5.9)
AL (mm ²)	8.6 (6.0-12.0)	5.95 (3.9-9.1)
Diámetro AL (mm)	3.0 (2.5-3.9)	2.55 (2.1-3.2)
PAP (%)	60.83 (50.9-70.6)*	48.25 (42.8- 60)*
Pérdida de AL (mm ²)	-0.55 (-0.2 a -6.6)	-1.40 (-0.2 a -3.2)
Pérdida de diámetro de lumen (mm)	-0.32 (-0.10 a -1.5)	-0.25 (0 a -1.1)
Aumento PAP	8.48 (- 11.8 a 19.60)	4.25 (- 3.2 a 23.9)

Tabla 2. Valoración cuantitativa del USIV (basal, posangioplastia y en su seguimiento a 6 meses). El análisis únicamente mostró diferencias significativas en el porcentaje del área de la placa a los 6 meses entre los pacientes que presentaron angina recurrente o reestenosis y los que no lo presentaron (*p= 0.015 Wilcoxon). ATV= área total del vaso, AL = área luminal, PAP= porcentaje del área de la placa.

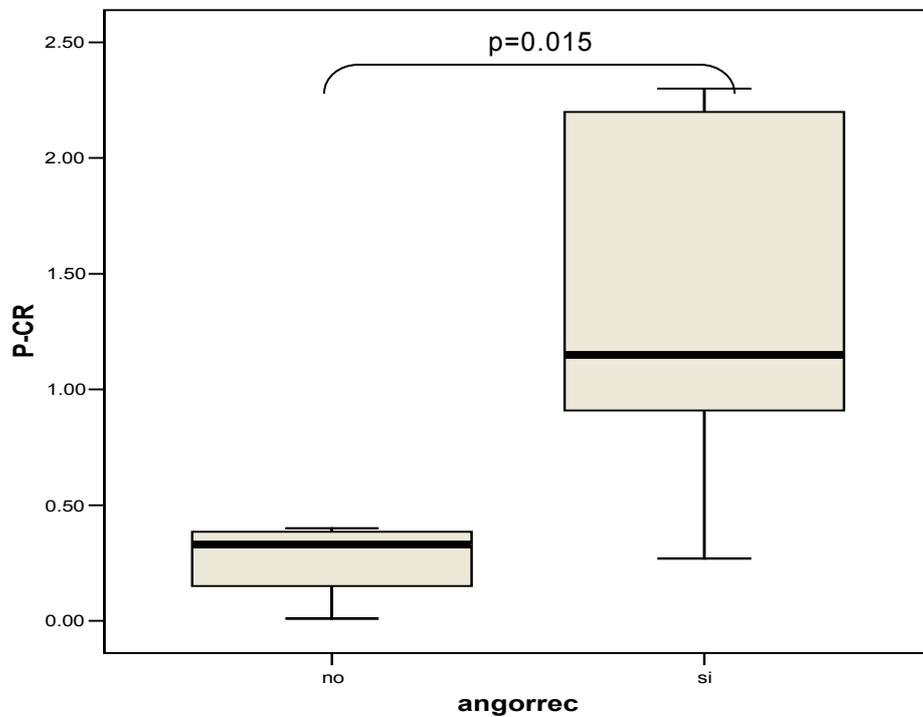


Figura 1: Comparación de las concentraciones séricas basales de PC-R en pacientes que presentaron evento isquémico o reestenosis con los que no lo presentaron, se encontró diferencia estadísticamente significativa (t-Srudent pareada) angorrec= angor recurrente.

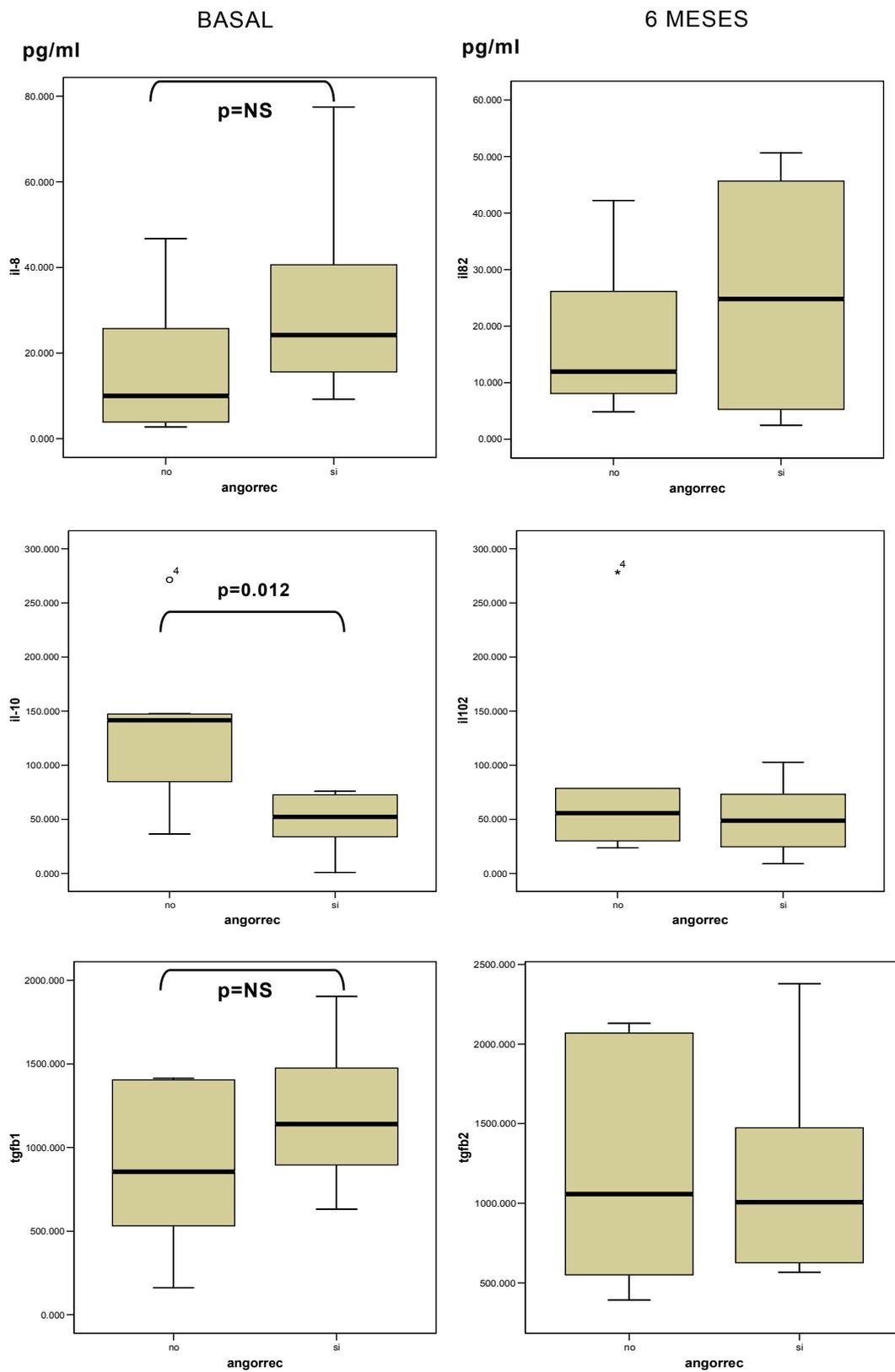


Figura 2: Comparación de concentraciones séricas de interleucinas basales y a los 6 meses (IL-8, IL-10, TGF β1) de pacientes que presentaron evento isquémico o reestenosis con los que presentaron evolución favorable. Angorrec=angor recurrente o reestenosis.

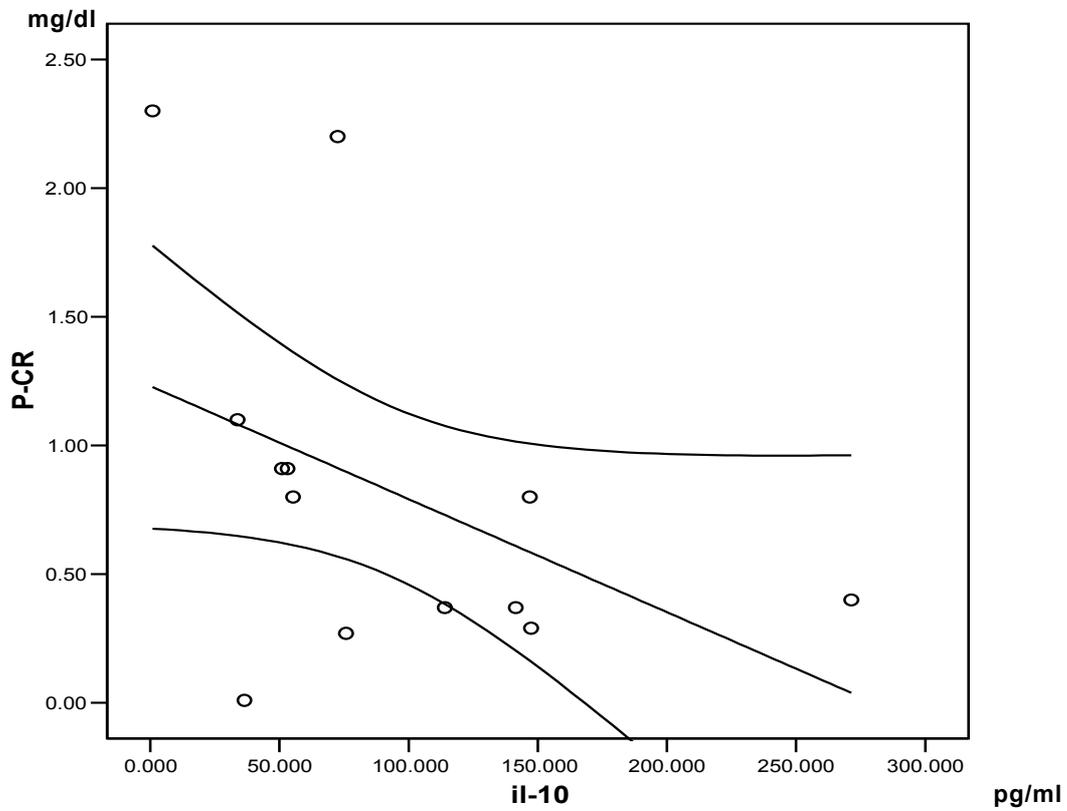


Figura 3. Muestra una correlación inversa de las concentraciones séricas de IL-10 y de PC-R (coeficiente de correlación de rho de Spearman -0.477, $p=0.05$).

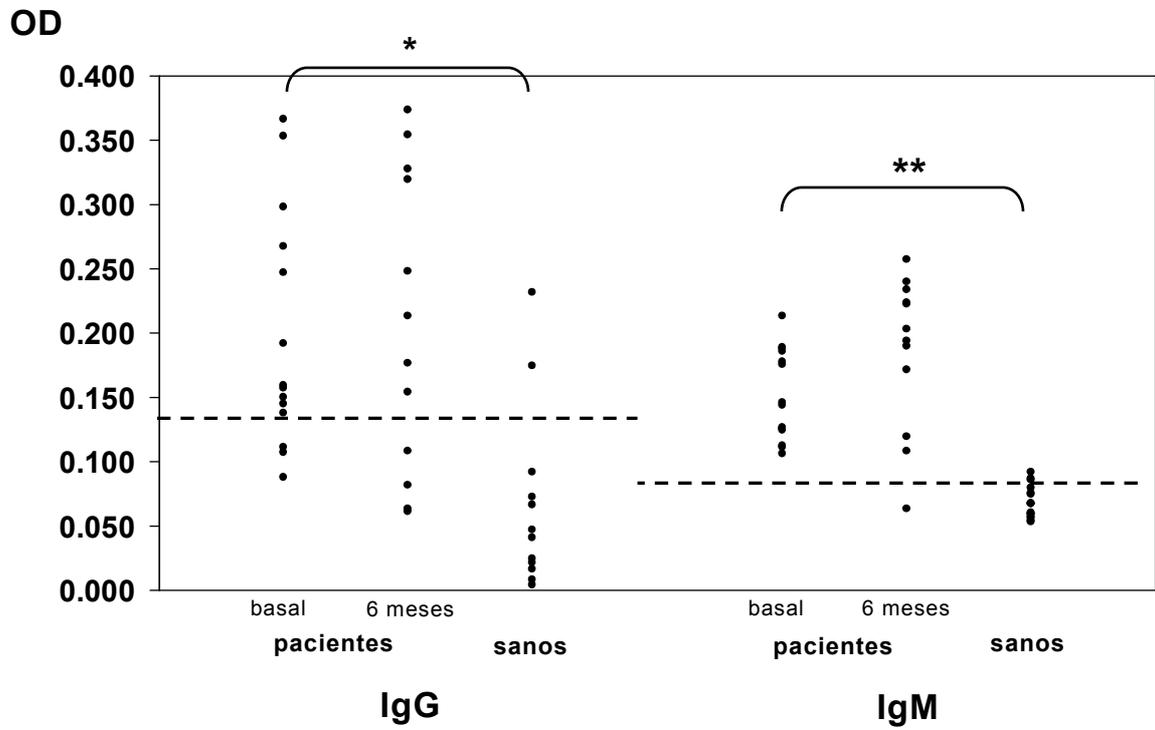


Figura 4. Concentraciones séricas de anticuerpos anti-ox-LDL tipo IgG e IgM, del grupo de pacientes comparado con grupo de sanos, expresado en unidades de densidad óptica (*p= 0.001 y **p< 0.001)

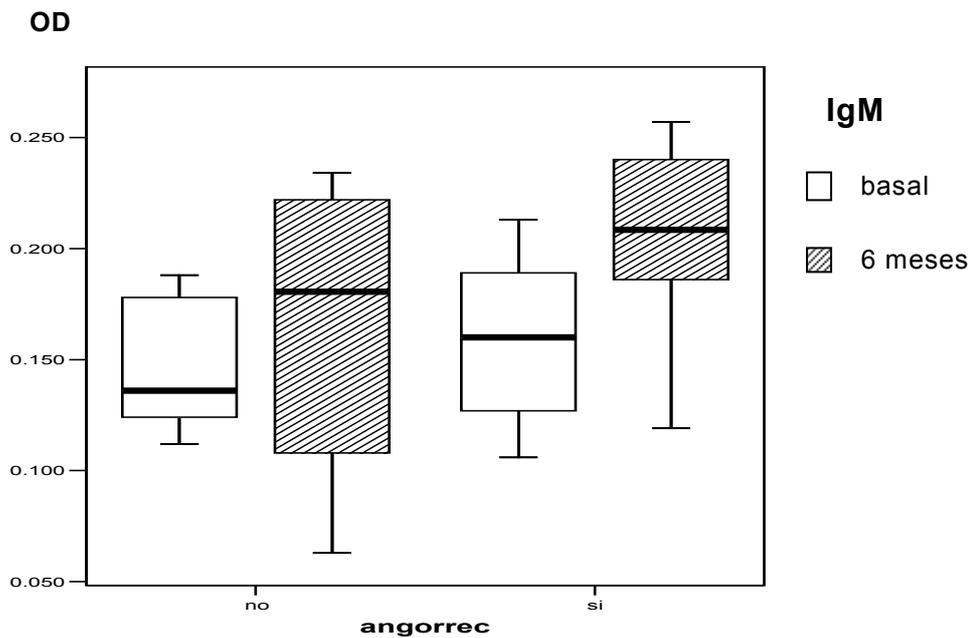


Figura 5: Comparación de los niveles de anticuerpos anti-ox-LDL del tipo IgM en pacientes con angina inestable que tuvieron evolución favorable fueron menores en comparación con los que presentaron angor recurrente o reestenosis, $p=NS$.

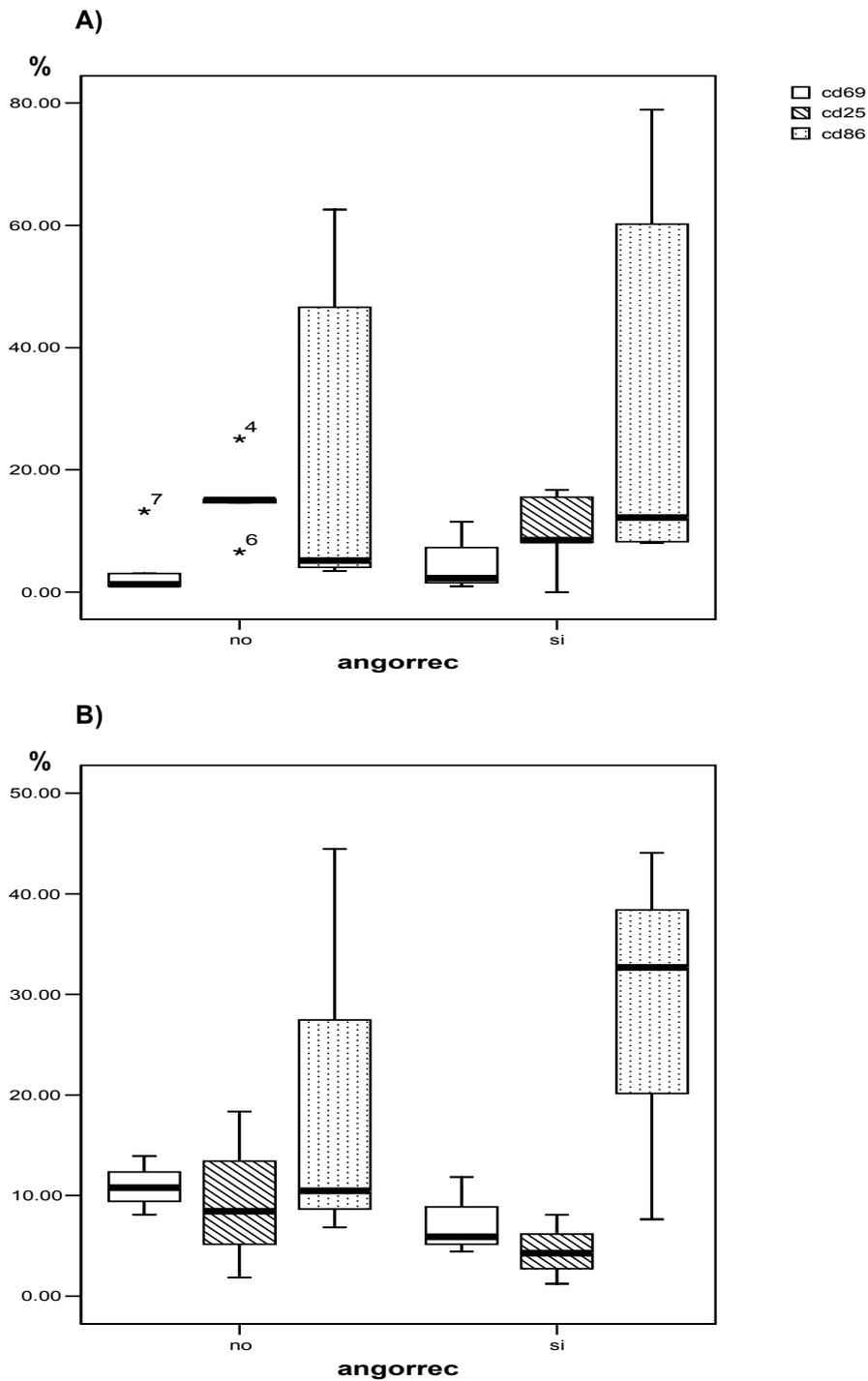


Figura 6: Valores basales (A) y a los 6 meses (B), del porcentaje de expresión de moléculas de activación celular, de células procedentes de pacientes que no presentar eventos de angor recurrente vs. de las células que recurrieron con eventos de angina o reestenosis. Angorrec = angor recurrente o reestenosis, no se encontraron diferencias significativas.

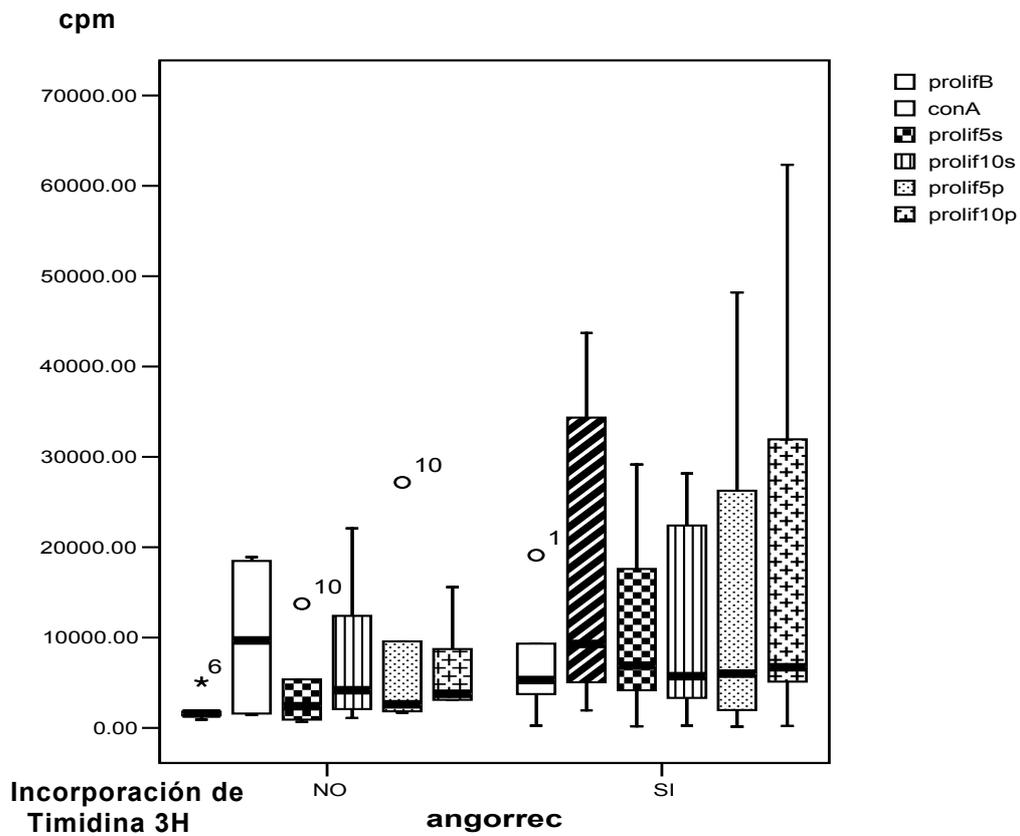
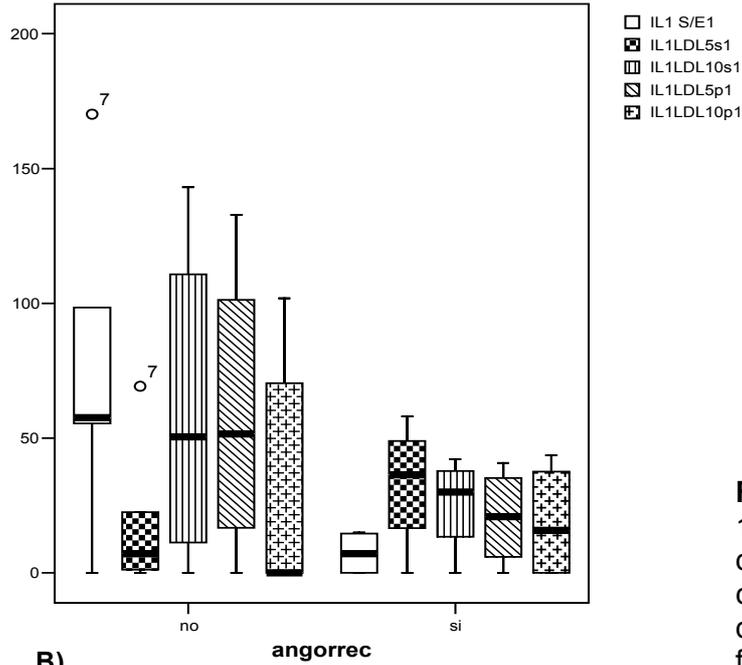


Figura 7. Proliferación celular en respuesta a LDL, comparación de pacientes que presentaron angor recurrente Vs. los que no lo presentaron. Cpm= cuentas por minuto, angorrec= angor recurrente, 5s= 5 mg de LDL de sanos, 10s= 10 mg LDL sano, 5p= 5 mg de LDL de paciente, 10p= 10 mg LDL de paciente.

	CD 69		CD 25		CD 86	
ANGINA RECURRENTE O REESTENOSIS	NO	SI	NO	SI	NO	SI
LDL 5 s	5.28 [0.23-8.95]	7.14 [2.25-22.53]	10.26 [6.77-14.06]	9.78 [2.82-20.00]	16.72 [3.93-50.96]	24.61 [1.23-86.13]
LDL 10 s	4.40 [0.33-6.12]	8.07 [2.05-22.25]	10.91 [5.12-11.49]	6.96 [3.98-17.14]	16.21 [4.3-50.7]	18.99 [0.4-84.4]
LDL 5 p	6.05 [0.34-7.69]	7.09 [1.82-16.45]	6.67 [5.67-10.67]	6.92 [4.18-20.14]	18.40 [5.71-55.10]	24.94 [0.89-91.63]
LDL 10 p	6.70 [0.32-11.76]	7.08 [2.13-13.13]	7.98 [5.23-8.34]	6.54 [4.19-26.43]	17.40 [3.14-56.44]	21.35 [1.17-94.03]

Tabla 4. Porcentaje de expresión de moléculas de activación en respuesta a LDL (mediana [rangos]). Comparación de la respuesta de células de pacientes que presentaron recurrencia de evento isquémico vs. pacientes que evolucionaron en forma favorable, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. LDL 5s = 5 mg procedente de sujeto sano, LDL 10s= 10 mg de sano, LDL 5p= 5 mg proveniente de pacientes, LDL 10p= 10 mg.

A)



B)

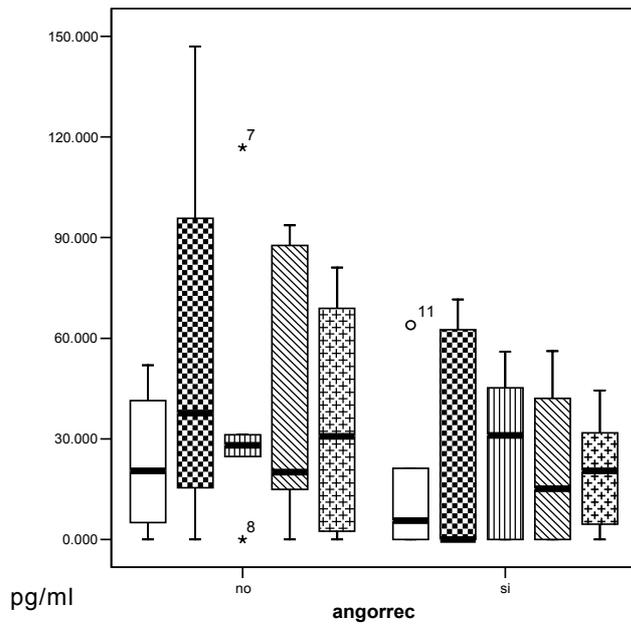


Figura 9. Concentración de IL-1 en sobrenadante de cultivos de PMN estimulados con LDL, comparación de la respuesta de pacientes con evolución favorable Vs. desfavorable, las diferencias no fueron significativas. A) basal, b) Control 6 meses. 5s= 5 mg de LDL de sanos, 10s= 10 mg LDL sano, 5p= 5 mg de LDL de paciente, 10p= 10 mg LDL de paciente.

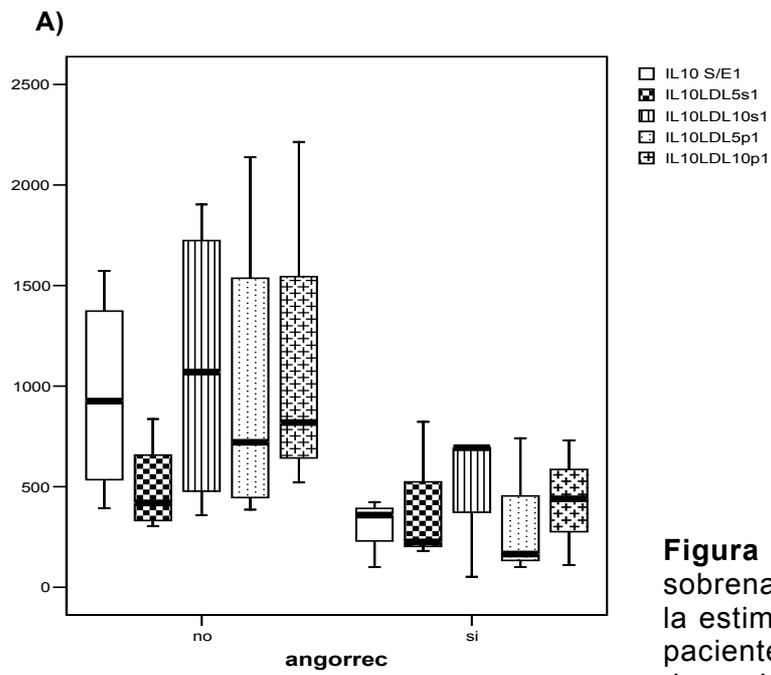
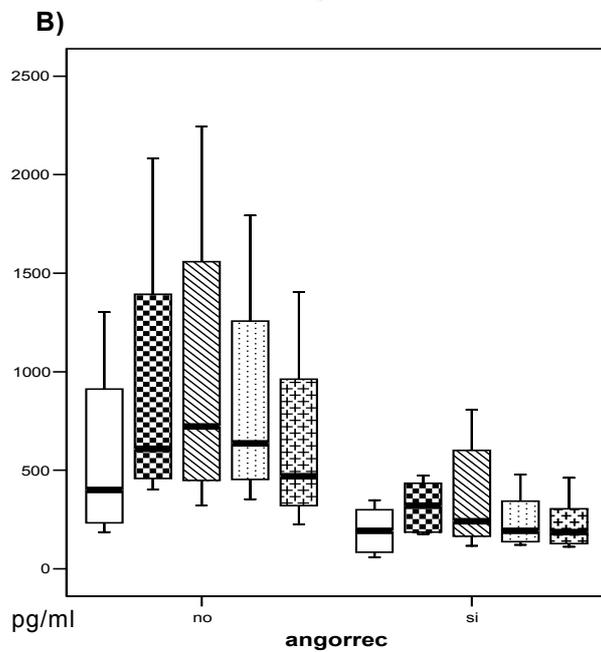
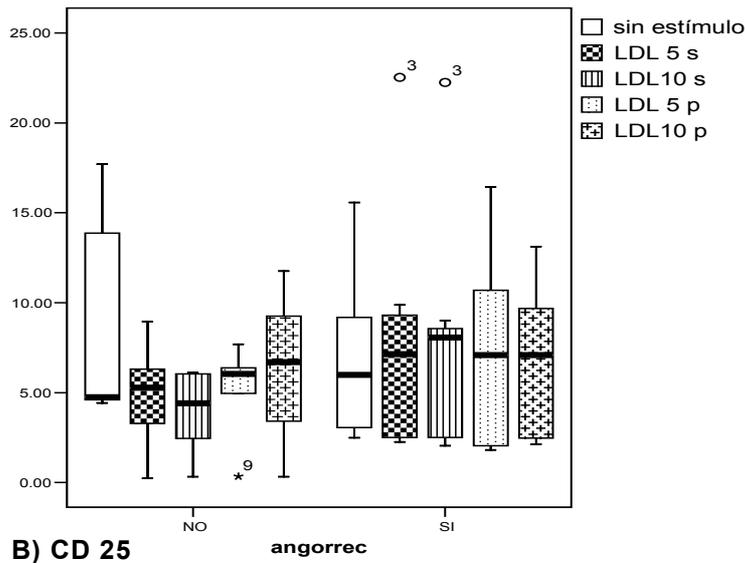


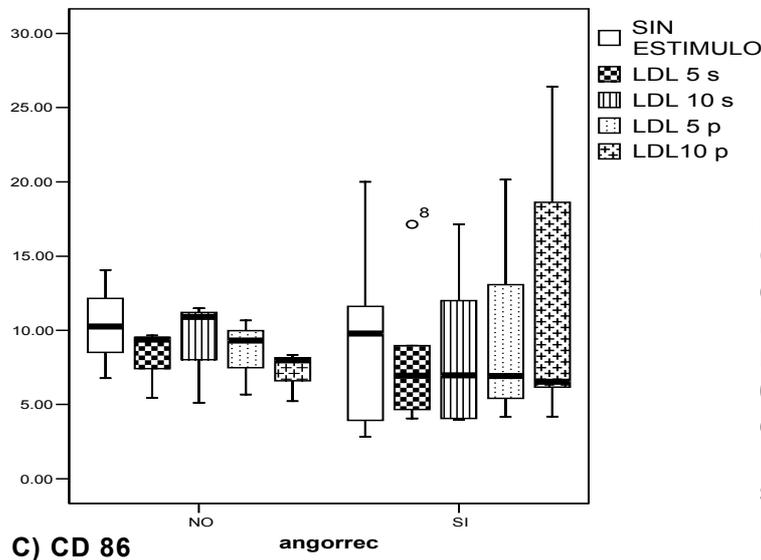
Figura 10: Concentraciones en sobrenadante de IL-10 en respuesta a la estimulación con LDL de los PMN de pacientes, comparación de respuesta de pacientes con recurrencia de angina Vs. sin eventos isquémicos subsecuentes (p=NS). A) basal, B) 6 meses. Angorrec= angor recurrente. p=NS. 5s= 5 mg de LDL de sanos, 10s= 10 mg LDL sano, 5p= 5 mg de LDL de paciente, 10p= 10 mg LDL de paciente.



A) CD 69



B) CD 25



C) CD 86

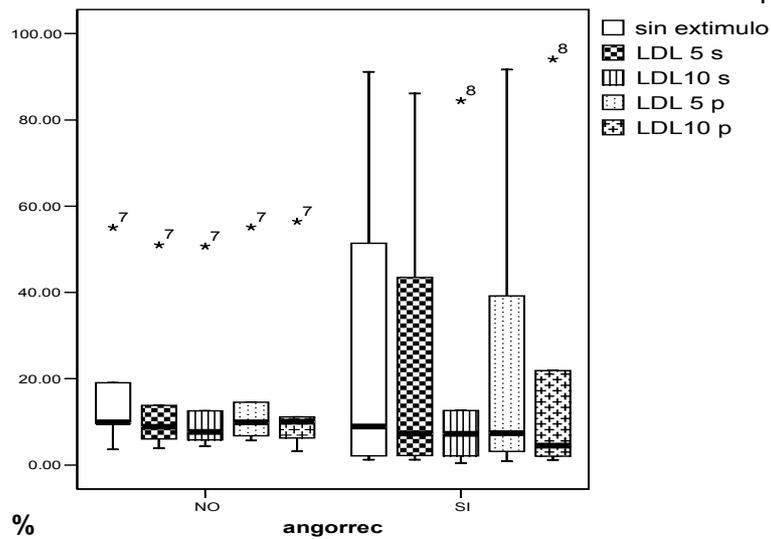


Figura 8. Activación in Vitro de PMN de pacientes con LDL. Comparación de respuesta de células de pacientes con y sin recurrencia de angina o reestenosis. A) Expresión de CD 69, B) expresión de CD25, C) expresión de CD86. 5s= 5 mg de LDL de sanos, 10s= 10 mg LDL sano, 5p= 5 mg de LDL de paciente, 10p= 10 mg LDL de paciente.

VI. CONCLUSIÓN:

Es evidente que estos pacientes con síndrome coronario agudo que presentan remodelación vascular positiva cuando se asocia a una intensa respuesta proinflamatoria (respuesta inmune tipo TH1), evolucionan en forma desfavorable y se asocia a mayor frecuencia de reestenosis con mayor incremento en el porcentaje del área de la placa, así como mayor recurrencia de eventos isquémicos subsecuentes a los 6 meses de procedimientos de angioplastia coronaria y colocación de stent. Por el contrario un predominio de la respuesta TH2 se asocia con una mejor evolución, con un efecto protector. Es probable que ésta respuesta se desencadene como respuesta a la LDL. El TGF β 1 activado tiene un efecto proinflamatorio más que antiinflamatorio, en nuestro estudio.

VII. ANEXOS:

ANEXO 1

CLASIFICACIÓN DEL TIPO DE LESIONES ANGIOGRÁFICAS DEL ACC Y AHA

Lesiones tipo A (éxito >85%, riego bajo)

- Corta (<10mm de longitud) * Calcificación ligera o ausente
- Concéntricas. * Lesiones suboclusivas
- Fácilmente accesibles. * No ostiales.
- No anguladas (<45°) * No involucran un ramo mayor
- Contorno liso. * Ausencia de trombo

Lesiones tipo B (éxito del 60% al 85%, riesgo moderado)

- Lesión tubular. * Calcificación moderada <180°
- Excéntrica. * Oclusión total <3 meses.
- Tortuosidad moderada del segmento proximal. * Lesión ostial.
- Angulación moderada (>45°, >90°). * En bifurcación ramo mayor
- Contorno irregular. * Algunos trombos presentes.

Lesiones tipo C (éxito <60%, alto riesgo)

- Difusa (>2 cm de longitud) * Oclusión total >3 meses.
- Tortuosidad importante. * Imposibilidad de proteger ramo mayor.
- Angulada (>90°)
- Lesión en puentes venoso con lesiones friables.

ANEXO 2

HOSPITAL DE CARDIOLOGIA CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Estudio de la remodelación arterial coronaria y la respuesta inflamatorio, antes y después de angioplastía coronaria transluminal percutánea guiada por ultrasonido intravascular, en pacientes con angina inestable.

PROPOSITO DE LA INVESTIGACION E INFORMACION DE ANTECEDENTES.

La angina de pecho inestable es una enfermedad en la cual las arterias del corazón (las coronarias) están obstruidas parcialmente. Esta obstrucción se debe al depósito de grasa en el interior de las arterias (aterosclerosis) y cambios de adaptación de las paredes de la arteria que intenta compensar esa obstrucción, a lo que se llama remodelación vascular. Cuando la obstrucción de las coronarias es importante, no permite una adecuada circulación de la sangre necesaria para nutrir al corazón, lo que produce dolor de pecho (angina), si no recibe el tratamiento específico, puede conducir a un ataque cardíaco, o sea, un infarto. El manejo de los pacientes con angina de pecho inestable incluye la terapia medicamentosa y en algunos casos procedimientos intervencionistas. Estos procedimientos se refieren al cateterismo cardíaco y a la angioplastía coronaria.

El cateterismo cardíaco es un estudio que permite valorar objetivamente el tipo y la severidad de la enfermedad de las coronarias. El resultado de éste estudio permite establecer el tratamiento óptimo definitivo para cada paciente, el cual puede ser medicamentoso únicamente, cirugía de corazón o la angioplastía coronaria.

La angioplastía coronaria es una forma alternativa de tratamiento a la cirugía, que se realiza mediante el empleo de catéteres con un balón o globo en su extremo

distal, que se infla en el sitio enfermo de la arteria coronaria, la finalidad es aumentar el diámetro interno de la arteria obstruida, con lo cual se mejora el flujo de la sangre al músculo cardiaco, lo que puede aliviar los síntomas y evitar el infarto. Las complicaciones que se pueden presentar son: oclusión aguda de la arteria, ruptura del recubrimiento interno de la pared de la arteria, resultados no óptimos, las cuales se pueden resolver con el implante de unas prótesis metálicas llamadas stents.

Aunque el cateterismo cardiaco es un estudio útil para evaluar las coronarias, cuenta con limitantes importantes para la valoración de la arquitectura, el tamaño y la severidad de las obstrucciones de las arterias. El ultrasonido intravascular es un estudio aunque no se emplea en forma rutinaria, nos permite obtener imágenes directas del interior de las arterias con la finalidad de realizar un análisis minucioso de las coronarias, además es de utilidad para poder hacer una mejor elección del tamaño de catéter que se emplea en la angioplastía lo que ha mejorado sus resultados tanto inmediatos como a largo plazo de este procedimiento. La complicación que se presenta con mayor frecuencia es el espasmo de la arteria (menos del 5% de los casos), lo que se puede revertir rápidamente con nitroglicerina. Otras complicaciones raras que se pueden presentar son básicamente las mismas de la angioplastía. El método que se utiliza para realizar el ultrasonido intravascular es similar al de la angioplastía.

El propósito de éste estudio es evaluar la remodelación vascular, o sea, cambios que se producen en la pared de las coronarias enfermas mediante el uso del ultrasonido intravascular y estudio en muestras de sangre (4 muestras en diferentes tiempos) para determinar sustancias que se elevan por una respuesta inflamatoria que frecuentemente acompaña a la angina de pecho. Se realizará una nueva evaluación con cateterismo cardiaco y de ultrasonido intravascular a los 6 meses del procedimiento inicial.

Si usted acepta participar en éste estudio deberá firmar esta forma de consentimiento, una vez que todas sus dudas y preguntas al respecto se hayan aclarado.

ESTUDIO DE LA REMODELACION ARTERIAL Y RESPUESTA INFLAMATORIA, ANTES Y DESPUES DE ANGIOPLASTIA CORONARIA TRANSLUMINAL PERCUTANEA GUIADA POR ULTRASONIDO INTRAVASCULAR, EN PACIENTES CON ANGINA INESTABLE.

NOMBRE _____ **CEDULA** _____ **NUM.** _____
EDAD _____ **SEXO** _____ **FECHA DE INGRESO** _____ **TELEFONO** _____

FACTORES DE RIESGO:

TAB: SI _____ NO _____ HAS: SI _____ - NO _____ DM: SI _____ NO _____ TxINS: SI _____ NO _____
 DL: SI _____ NO _____

HISTORIA CARDIOVASCULAR:

IM PREVIO _____ LOCALIZACIO: AS _____ AE _____ LA _____ INF _____ PI _____ LB _____ VD _____
ANGOR INESTABLE: CLASE I _____ II _____ III _____ PRIMARIO _____ SEC _____ PI _____ A _____
 B _____ C _____
CAMBIOS ECG: LESENDO _____ LESEPI _____ ISEPI _____ ISENDO _____
DERIVACIONES: DI _____ DII _____ DIII _____ AVF _____ AVL _____
 V1 _____ V2 _____ V3 _____ V4 _____ V5 _____ V6 _____ V7 _____ V8 _____ V4R _____

TRATAMIENTO: NTG IV _____ ISO _____ BB _____ IECA _____ CaA _____ HEP _____ ASA _____
 BIIb/IIIa _____ DIUR _____
 Otros: _____

CATERISMO: (%OBSTRUC) TCI _____ DA _____ DIAG _____ CX _____
 MO _____ RI _____ CD _____ DP _____ PL _____ VI - FE: _____
 PROYECCION _____ ANGULACION _____ DISTANCIA O-O _____
 REFERENCIA _____

ACTP: DA _____ DIAG _____ CX _____ MO _____ RI _____ CD _____ DP _____
 EXITOSA: SI _____ NO _____
 COMPLICACIONES: _____
 LESION RESIDUAL _____

USIV : VASO: _____ SEGMENTO _____ REFERENCIA _____
 TIPO DE LESION: SUAVE _____ DURA _____ CALCIFICADA _____ ARCO Ca⁺(°) _____
 EXCENTRICA _____ CONCENTRICA _____
 CUANTITATIVO: ATV _____ AL _____ P+M _____ PAP _____
 TIPO REMODELACION: _____
 COMPL _____

LABORATORIO:

	INGRESO	48 HRS.	POSTACTP	48HRS.ACTP	6 MESES
P-CR					
TGF β1					

EVOLUCION 6 MESES:

CATET: (%OBSTRUC) TCI _____ DA _____ DIAG _____ CX _____ MO _____
 RI _____ CD _____ DP _____ FE VI: _____ RESTENOSIS: _____

USIV : VASO: _____ TIPO DE LESION: PLACA SUAVE _____ PLACA DURA _____
 CALCIFICADA _____ EXCENTRICA _____ CONCENTRICA _____
 CUANTITATIVO: ATV _____ AL _____ P+M _____ PAP _____

TIPO REMODELACION: _____

COMPLICACIONES _____

OBSERVACIONES: _____

ABREVIATURAS:

HAS: Hipertensión arterial sistémica

TAB: Tabaquismo

DM: Diabetes Mellitus

TxINS: Tratamiento con insulina

DL: Dislipidemia

IM: Infarto del miocardio

AS: Anteroseptal

AE: Anterior extenso

LA: Lateral alto

INF: Inferior

LB: Lateral bajo

VD: Ventrículo derecho

PI: Postinfarto

NTG IV: Nitroglicerina intravenosa

ISO: Isosorbide

ECG: Electrocardiograma

LESENDO: Lesión subendocárdica

LESEPI: Lesión subepicárdica

USIV: Ultrasonido intravascular

ATV: Área total del vaso

AL: Área de la luz del vaso.

P+M: Área de la placa más la media.

PAP: Porcentaje del área de la placa

BB: Betabloqueador

IECA: Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina

CaA: Calcio antagonista

HEP: Heparina

ASA: Acido acetilsalicílico

IIb/IIIa: Bloqueadores glicoproteínas IIb/IIIa

DIUR: Diurético

TCI: Tronco de la arteria coronaria izquierda

DA: Descendente anterior

DIAG: Diagonal

CX: Circunfleja

RI: Ramo intermedio

CD: Coronaria derecha

DP: Descendente posterior

FE VI: Fracción de expulsión del ventrículo izquierdo

ISENDO: Isquemia subepicárdica

ISEPI: Isquemia subepicárdica

O-L : Distancia del ostium coronaria a la obstrucción

VII. 1. GLOSARIO

P-CR	Proteína C reactiva
IC	Intervalos de confianza
IL	Interleucinas
LDL-ox	Lipoproteína de baja densidad oxidada
USIV	Ultrasonido intravascular
ACTP	Angioplastia coronaria trasluminal percutánea
TGF β 1	Factor transformante de crecimiento beta 1
ATV	Area total del vaso
AL	Area luminar
P+M	Area de sección transversal de la placa más la media
PAP	Porcentaje del área de la placa
NS	No significativo

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Braunwald E, Mark DB, Jones RH, et al. Unstable Angina: Diagnosis and management. Rockville, MD: Agency for Health Care Policy and Research, 1994: 1-154.
2. Theroux P, Idon PM: Unstable angina: pathogenesis, diagnosis and treatment. *Curr Probl Cardiol* 1993; 18:159-214.
3. Yusuf S, Flather M, Pogue J, et al. Variations between countries in invasive cardiac procedure and outcomes in patients with unstable angina or myocardial infarction without initial ST elevation. *Lancet* 1998; 352: 507-14.
4. Gyongyosi M, Yang P, Hassan A, et al. Coronary risk factors influence plaque morphology in patients with unstable angina. *Coron Artery Dis* 1999; 10:211-9.
5. Pursuit Trial Investigators. Inhibition of platelet glycoprotein IIb/IIIa with eptifibatid in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1998; 339:436-43.
6. Toss H, Lindahl B, Siegbahn A, for the FRISC Study Group. Prognostic influence of increased fibrinogen and C-reactive protein levels in unstable coronary artery disease. *Circulation* 1997; 96: 4204-4210.
7. Morrow DA, Rifai N, Antman EM, et al. C-reactive protein is a potent predictor of mortality independently of and in combination with troponin T in acute coronary syndromes: a TIMI IIA Substudy. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 1460-5.
8. García MX, Kaski JC. Cardiopatía isquémica: marcadores de inflamación y riesgo cardiovascular. *Rev Esp Cardiol* 1999; 52: 990-1003.
9. Kuller LH, Eichner JE, Orchard TJ, et al. The relation between serum albumin levels and risk of coronary heart disease in Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Am J Epidemiol* 1991; 134: 1266-77.
10. Crea F, Biasucci LM, Buffon A, et al. Rol of inflammation in the pathogenesis of unstable coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1997; 80 : 10E-16E
11. Dinerman JL, Mehta JL, Saldeen TG, et al. Increase neutrophil elastase release in unstable angina pectoris and acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1990; 15: 1559-63.
12. Liuzzu G, Luigi M, Gallimore R, et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid protein in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1994; 331: 417-24.

13. De Winter RJ, Bholasingh R, Lijmer JG, et al. Independent prognostic value of C-protein and troponin I in patients with unstable angina or non-Q-wave infraction. *Cardiovasc Res* 1999; 42: 240-45.
14. Neuman FJ, Ott I, Gawaz M, et al. Cardiac release of cytokines and inflammatory response in acute myocardial infraction. *Circulation* 1995; 92:748 –55.
15. Buffon A, Liuzzo G, Biasucci LM, et al. Preprocedural serum levels of C-reactive protein predicts early complications and late restenosis after coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 1512–21.
16. Caligiuri G, Paulsson G, Nicoletti A, Maseri A, Hansson GK. Evidence for antigen-driven T-cell response in unstable angina. *Circulation* 2000; 102:1114-19.
17. Caligiuri G, Liuzzo G, Biasucci LM, Maseri A. Immune system activation follows inflammation in unstable angina: pathogenetic implications. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 1295-1304.
18. Van der Wal AC, Piek JJ, de Boer OJ, Koch KT, Teeling KT, van der Loos CM, Becker AE. Recent activation of plaque immune response in coronary lesions underlying acute coronary syndromes. *Heart* 1998; 80: 14- 8.
19. Frostegård J, Ulfgren AK, Nyberg P, Hedin U, Swedenborg J, Andersson U, Hansson GK. *Atherosclerosis* 1999; 145: 33-43.
20. Pasterkamp G, de Kleijn DP, Borst C. Arterial remodeling in atherosclerosis, restenosis and after alteration of blood flow: potential mechanism and clinical implication. *Cardiovas Res* 2000; 45: 843-52.
21. Bishop JE, Gisela L. Regulation of cardiovascular synthesis by mechanical load. *Cardiovasc Res* 1999; 42: 27-42.
22. Hiroto U, Masanobu K, Toshio Y. Shear stress as inhibitor of smooth muscle cell proliferation: role of transforming growth factor beta 1 and tissue- type plasminogen activator. *Arterioscler Thromb Biol* 1997; 17: 1512-16.
23. Glagov S, Weiswnberg E, Zarins CK, et al. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1987; 316: 1371-5.
24. Mintz GS, Kent KM, Pichard AD, et al. Contribution of inadequate arterial remodeling to the development of focal coronary artery stenoses. *Circulation* 1997; 95: 1791-8.
25. Birnbaum Y, Fishbein MC, Luo H, et al. Regional remodeling of atherosclerotic arteries: A major determinant of clinical manifestation of disease. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 1149-64.

26. Hermiller JB, Tenaglia AN, Kisslo KB, et al. In vivo validation of compensatory enlargement of atherosclerotic arteries. *Am J Cardiol* 1993; 71: 665-8.
27. Gerber TC, Erbel R, Gorge G, Ge J Rupperecht HJ, Meyer J. Extent of atherosclerosis and remodeling of the left main coronary artery determined by intravascular ultrasound. *Am J Cardiol* 1994; 73: 666-71.
28. Nishioka T, Luo H, Eigler NL, Berglund H, Kim CJ, Siegle RJ. Contribution of inadequate compensatory enlargement to development of human coronary artery stenosis: an in vivo intravascular ultrasound study. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 1571-6.
29. Dangas G, Mintz GS, Mehran R, et al. Preintervention arterial remodeling as an independent predictor of target lesion revascularization after nonstent coronary intervention: an analysis of 777 lesions with intravascular ultrasound imaging. *Circulation* 1999; 99: 3149-54.
30. Mintz GS, Pichard AD, Kent KM, et al. Intravascular ultrasound comparison of restenotic and de novo coronary artery narrowing. *Am J Cardiol* 1994; 74: 1278-80.
31. Di Mario C, Gil R, Camenzind E, et al. Quantitative assessment with intracoronary ultrasound of mechanisms of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty and directional atherectomy. *Am J Cardiol* 1995; 75: 772-7.
32. Kimura T, Kaburagi S, Yokoi H, et al. Geometric remodeling and intimal regrowth as mechanism of restenosis observations from serial ultrasound analysis of restenosis (SURE) trial. *Circulation* 1995; 92 (Suppl): I76-7.
33. Di Mario C, Gorge G, Peters R, et al. Clinical application and image interpretation in intracoronary ultrasound. *Eur Heart J* 1998; 19:209-29.
34. Higano ST, Nishimura RA. Intravascular Ultrasonography. *Curr Probl Cardiol* 1994; XIX: 1-55.
35. Ledesma M, Farell J, Flores J, Argüero R. Utilidad del ultrasonido intracoronario en la angioplastía coronaria transluminal percutánea. *Arch Inst Cardiol Mex* 1996; 66: 467-75.
36. Peters RJG, Kok WEN, Di Mario C, et al. Prediction of restenosis after coronary balloon angioplasty. Results of PICTURE (Post-intracoronary Treatment Ultrasound Results Evaluation). A prospective multicenter intracoronary ultrasound imaging. *Circulation* 1997; 95: 2254-61.

37. The Guide Trial Investigators. IVUS-determined predictors of restenosis in PTCA and DCA: an interim report from the GUIDE trial, Phase II. *Circulation* 1994; 90:1-23 (113),
38. Stone GW, Hodgson JM, ST Goar FG, et al. For the clinical outcomes with ultrasound trial (CLOUT) investigators. Improved procedural results of coronary angioplasty with intravascular ultrasound guided balloon sizing. *Circulation* 1997; 95: 2044-52.
39. Simonton CA, Leon MB, Kuntz RE, et al. Acute and late clinical angiographic results of directional atherectomy in Optimal Atherectomy Restenosis Study (OARS). *Circulation* 1995; 92: 1-545.
40. Simitsuji, Suzuki T, Kato O, et al. For the ABACAS investigators. Restenosis mechanism after aggressive directional coronary atherectomy assessed by intravascular ultrasound in adjunctive balloon angioplasty following coronary atherectomy study. *J Am Coll Cardiol* 1997; 75; 129 A.
41. Portkin BN, Keren G, Mintz GS, et al. Arterial response to balloon coronary angioplasty; an intravascular ultrasound study. *J Am Coll Cardiol* 1992; 20: 942-51.
42. Mintz GS, Popma JJ, Pichard AD, et al. Arterial remodeling after coronary angioplasty: a serial intravascular ultrasound study. *Circulation* 1996; 94: 35-43.
43. Smith PC, Pasterkamp G, de Jaegere PJ, et al. Coronary artery disease: arterial remodeling and clinical presentation. *Heart* 1999; 82: 461-64.
44. Hodgson JM, Reddy KG, Suneja R, et al. Intracoronary ultrasound imaging: correlation of plaque morphology with angiography, clinical syndrome and procedural results in patients undergoing coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol* 1993; 21: 35-44.
45. Gyöngyösi M, Yang P, Hassan A, et al. Arterial remodeling of native human coronary arteries in patients with unstable angina pectoris: prospective intravascular ultrasound study. *Heart* 1999; 82: 68-74.
46. Waltenbreger J. Modulation of growth factor action. *Circulation* 1997; 96: 4083-94.
47. Nikol S, Isner JM, Pickering G. et al. Expression of transforming growth factor β 1 is increased in human vascular restenosis lesion. *J Clin Invest* 1992; 90: 1582-92.
48. Majesky MW, Lindner V, Twardzik DR, et al. Production of transforming growth factor β 1 during repair of arterial injury. *J Clin Invest* 1991; 88: 904-10.

49. Ishibashi T, Kijima M, Yokoyama K. Expression of Cytokine and adhesion molecule mRNA in atherectomy specimens from patients with coronary artery disease. *Jpn Circ J* 1999; 63: 249-54.
50. Tashiro H, Shimokawa H, Yamamoto K, et al. Altered plasma levels of cytokines in patients with ischemic heart disease. *Coronary Artery Disease* 1997; 8: 143-7.
51. Wang XL, Liu SX, Wilcken DE. Circulating transforming growth factor β 1 and coronary artery disease. *Cardiovasc Disease* 1997; 34: 401-10.
52. Coleman KR, Braden GA, Willingham MC, et al. Vitaxin, a humanized monoclonal antibody to the vitronectin receptor ($\alpha_v \beta_3$) reduces neointimal hyperplasia and total vessel area after balloon injury in hypercholesterolemic rabbits. *Circ Res* 1999; 84: 1268-76.
53. Smith JD, Bryant SR, Couper LL, et al. Soluble transforming growth factor B type II receptor inhibits negative remodeling, fibroblast transdifferentiation and intimal lesion formation but not endothelial growth. *Circ res* 1999; 84: 1212-22.
54. Smith D, Irving S, Sheldon J, et al. Serum levels of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 are decreased in patients with unstable angina. *Circulation* 2001;104:746-9.
55. Mizia-Stec K, Gašior Z, Zahorska-Markiewicz B, Janowska J, et al. Serum tumor factor $-\alpha$, interleukin-2 and interleukin-10 activation in stable and acute coronary syndromes. *Coron Artery Dis* 2003; 14: 431-438.
56. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, et al. Serum level of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 is an important prognostic determinant in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003; 107: 2109-2114.
57. Anguera I, Miranda-Guardiola F, Bosch X, Fililla X, et al. Elevation of serum levels of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 and decreased risk of coronary events in patients with unstable angina. *Am Heart J* 2002;144:811-7.
58. Cunha FQ, Moncada S, Liew FY. Interleukin-10 (IL-10) inhibits the induction of nitric oxide synthases by interferon-gamma in murine macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 182:1155-9.
59. Selzman CH, Meldrum DR, Cain BS, et al. Interleukin-10 inhibits postinjury tumor necrosis factor-mediated human vascular smooth muscle proliferation. *J Surg Res* 1998;80:352-6.

60. Yang Z, Zingarelli B, Szabo C. Crucial role of endogenous interleukin-10 production in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circulation* 2000;101:1019-26.
61. Seitz M, Loetscher P, Dewald B, et al. Interleukin-10 differentially regulates cytokine inhibitor and chemokine release from blood mononuclear cells and fibroblasts. *Eur J Immunol* 1995;25:1129-32.
62. Mallat Z, Heymes C, Ohan J, et al. Expression of interleukin-10 in advanced human atherosclerotic plaques: relation to inducible nitric oxide synthase expression and cell death. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:611-6.
63. Gach O, Bie´mar C, Nys M, Deby-Dupont G, Chapelle JP, Deby C, Lamy M, Pie´rard LA, Legrand V. Early release of neutrophil markers of activation after direct stenting in patients with unstable angina. *Coronary Artery Disease* 2005, 16:59–65.
64. Tsimikas S, Lau HL, Han KR, et al. Shortal B, Miller ER, Segev A, Curtiss LK, Witztum JL, Strauss BH. Percutaneous Coronary Intervention Results in Acute Increases in Oxidized Phospholipids and Lipoprotein(a) Short-Term and Long-Term Immunologic Responses to Oxidized Low-Density Lipoprotein. *Circulation* 2004;109:3164-3170.