



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
Instituto Nacional de Cardiología

"Dr. Ignacio Chávez"

MINERALIZACION VASCULAR EN PACIENTES
CON CARDIOPATIA ATROSCLEROSA
CORONARIA MULTIVASCULAR

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA
DE LA ESPECIALIDAD
EN CIRUGIA CARDIOTORACICA
PRESENTA

**DR. GUILLERMO ZAVALA
RAMIREZ**

ASESORES DE TESIS:

DRA AURORA DE LA PEÑA DIAZ

DR VALENTIN HERRERA ALARCON

DR MANUEL ALFONSO BAÑOS GONZALEZ

AMOR-SCIENTIA-QUE-INSERVIANT-CORDI



INSTITUTO - N - DE
CARDIOLOGIA
IGNACIO - CHAVEZ

México, D.F., Julio del 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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).

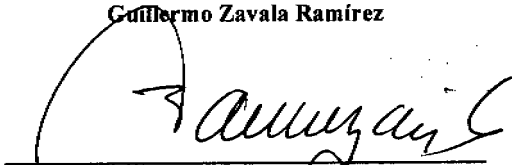
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

AGRADECIMIENTOS

- ... a Dios, Quien todo se rige, por todo lo que me ha dado.
- ... a Mis padres José Luis y Ma. De la Salud por su entrega y apoyo hacia mí, por infundir en mí el deseo de superación y de constancia a la que debo mis actuales éxitos.
- ... a mi Esposa Marcela, por su apoyo y comprensión.
- ... a mis Hijas Marcelita y mi bebé por nacer (Regina) son el motivo de mi vida, mi realización.
- ... a mi Abuelo Guillermo, por su ejemplo de tenacidad, gracias a mis hermanos, siempre apoyando.
- ... a mis asesores de Tesis, Dra. Aurora de La Peña, Es un Privilegio participar en su trabajo, muchas gracias por su apoyo. Dr. Manuel Baños, gracias por tu apoyo para la realización de esta tesis. Dr. Valentín Herrera, gracias por su apoyo durante toda mi especialidad, gracias por apoyar mis sueños en mi formación como cirujano Cardiotórácico.
- ... al Dr. Barragán y todos los cirujanos del Instituto Nacional de Cardiología, quienes influyeron en forma decisiva en mi formación profesional con su ejemplo y enseñanza.
- ... a Todos los Médicos del Instituto Nacional de Cardiología por su influencia académica en mi especialidad.
- ... a todas las personas enfermas en cuyo tratamiento participé, dándome de esa manera la oportunidad de aprender.
- ... a mis compañeros, gracias por compartir los momentos de trabajo, alegría tropiezos, gracias por su amistad.

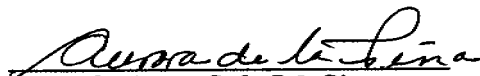
TESIS PRESENTADA POR:

Guillermo Zavala Ramírez



Dr. Rodolfo Barragán García

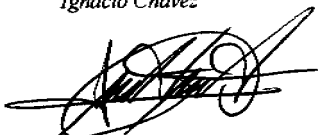
*Profesor Titular del Curso Universitario
de Especialización en cirugía Cardiorácica
Instituto Nacional de Cardiología
"Ignacio Chávez"*



Dr. Aurora De La Peña Díaz

Asesor de Tesis

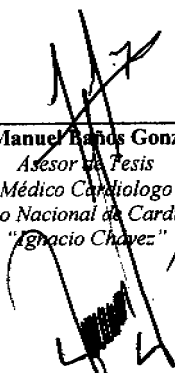
*Profesor de tiempo completo departamento de Farmacología Facultad de Medicina UNAM
Investigador Instituto Nacional de Cardiología
"Ignacio Chávez"*



Dr. Valentín Herrera Alarcón

Asesor de Tesis

*Médico Adscrito al Departamento de Cirugía Cardiorácica
Instituto Nacional de Cardiología
"Ignacio Chávez"*



Dr. Manuel Ramos Gonzalez

Asesor de Tesis

*Médico Cardiólogo
Instituto Nacional de Cardiología
"Ignacio Chávez"*

Dr. Fernando Guadalajara Boo

Director de Enseñanza

*Instituto Nacional de Cardiología
"Ignacio Chávez"*



**Dirección de
Enseñanza**

INVESTIGADORES

Dr. Rodolfo Barragán García. Jefe del Servicio de Cirugía Cardiotorácica INC

Dr. Bruno Escalante Acosta. Investigador titular, Biomedicina CINVESTAV

Dr. Marco Antonio Peña Duque. Jefe de Servicio Hemodinámica INC

Dr. Alberto Aranda Fraustro. Médico Adjunto del Servicio Patología INC

Dr. Benjamín Valente Acosta. Estudiante de pregrado UNAM

Ing. Carlos Linares López. Facultad de Geofísica UNAM

Dr. Javier Figueroa Solano. Adjunto Terapia Intensiva Pediátrica INC

Dr. Abel Moreno Cárcamo. Investigador Titular. Instituto de Química UNAM

“El estudio de la enfermedad en sus dimensiones patogénica, fisiopatológica, expresión clínica, recursos diagnósticos y de tratamiento son indispensables para un buen ejercicio profesional y excelente calidad en la atención médica. Es indispensable el estudio y la actualización constante, así como el análisis crítico y la disposición para renovar conceptos y conocimiento a través del ejercicio profesional y la investigación, de este modo conocer cada vez en forma mas profunda a la enfermedad para poder prevenirla y tratarla.”

Dr. J.L. Zavala

“La cardiopatía isquémica ha sido estudiada desde los inicios de la medicina, con diferentes avances en su comprensión y tratamiento, en donde la participación del cirujano ha sido importante.

Los procedimientos quirúrgicos de revascularización probablemente son los procedimientos terapéuticos más estudiados cualitativa y cuantitativamente y se ha llegado a la conclusión de que en esta patología inciden tantos y diferentes factores que requiere interacción multidisciplinaria para su tratamiento y prevención.

Dentro de este marco, la presencia y participación activa del cirujano adquiere relevancia en el proceso de actualización y renovación de conocimientos que permitan ofrecer al paciente el máximo beneficio. “

RESUMEN

ANTECEDENTES: La mineralización vascular es un proceso en el que participan múltiples mecanismos cuyo conocimiento aun están en estudio. El objetivo del presente trabajo es el de identificar el grado y composición de la mineralización vascular de pacientes con enfermedad coronaria aterosclerosa mediante el microscopio electrónico de barrido con energía dispersa de rayos X. No existe un estudio similar en la literatura que persiga el estudio de la mineralización vascular asociada a la enfermedad aterosclerosa en el que participan pacientes vivos de los que se obtienen los tejidos de estudio en población mexicana. El cirujano tiene una presencia destacada que permite obtener un modelo experimental invaluable.

MÉTODOS: Se incluyeron en el estudio pacientes sometidos a revascularización coronaria con colocación de hemoductos arteriales pediculados y libres, a quienes se toma muestra de tejido de aorta de la aortotomía para las anastomosis proximales y una muestra del extremo distal de la arteria mamaria interna izquierda. Se toman muestras de autopsia de aorta ascendente de pacientes sin enfermedad aterosclerosa. Las muestras se procesan y se analizan por métodos de histopatología y también mediante microscopía electrónica de barrido con espectrofotómetro de energía dispersada de rayos X que permiten evaluar la proporción y la composición elemental de la mineralización de la pared vascular. Se evalúan también factores de riesgo para aterosclerosis

RESULTADOS: El estudio presenta los resultados de seis casos en los que se encontró que en el grupo de estudio existe una presencia abundante de minerales en comparación con el grupo control, en donde no hay o existe mineralización mínima, (40.83 ± 13.2 partículas vs 13.50 ± 4.3 $p=0.01$), dentro de los factores de riesgo asociados el más importante fue el tabaquismo. La técnica de microscopía de barrido con dispersión de rayos X permite identificar todos los minerales presentes en la arteria como calcio, fósforo, magnesio, zinc,

hierro, aluminio y silicio, además de titanio, plomo y cobre en algunos pacientes. El análisis histológico mostró que en ninguno de los casos había datos de lesión aterosclerosa en las muestras analizadas.

CONCLUSIONES: La mineralización de la aorta ascendente es severa en presencia de aterosclerosis coronaria, sin embargo puede existir sin lesión aterosclerosa local. La composición elemental es similar a lo reportado en estudios postmortem en otras arterias, sin embargo encontramos elementos que no han sido reportados como el titanio, plomo y cobre, lo que permite suponer la influencia de factores ambientales y considerar que el endotelio puede guardar el recuerdo de situaciones fisiopatológicas o toxicológicas que modifiquen el microambiente en diferentes segmentos del árbol vascular. La arteria mamaria interna izquierda no presenta mineralización importante en pacientes con enfermedad coronaria aterosclerosa

Palabras clave: aterosclerosis, mineralización vascular, calcificación vascular, mineralización de aorta

Departamento de Cirugía Cardiorábrica. Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" (INCICh). Juan Badiano No.1; Colonia Sección XVI; Delegación Tlalpan; CP 14080; México, D.F.
Dirección de correo electrónico: gzara@hotmail.com

INDICE

Contenido	Pág.
RESUMEN	4
ANTECEDENTES	7
<i>Aterosclerosis y mineralización vascular</i>	7
<i>Consideraciones acerca de la calcificación de aorta</i>	11
<i>Consideraciones clínicas de la mineralización vascular</i>	12
<i>Microscopia electronica de barrido con espectrometro de energia dispersada de rayos x</i>	14
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
HIPOTESIS	17
JUSTIFICACION	18
MATERIAL Y METODOS	19
OBJETIVOS	20
METODOS	21
DEFINICION DE VARIABLES	24
ANALISIS ESTADISTICO	25
RECURSOS FINANCIEROS	26
RECURSOS FISICOS	26
RECURSOS HUMANOS:	26
RIESGO DE LA INVESTIGACION	26
HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO	27
HOJA DE RECOLECCION DE DATOS	28
RESULTADOS	30
DISCUSION	42
LIMITACIONES	44
CONCLUSIONES	45
CONSIDERACIONES ETICAS	46
BIBLIOGRAFIA	47

ANTECEDENTES

ATEROSCLEROSIS Y MINERALIZACIÓN VASCULAR

La aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria crónica, progresiva que afecta principalmente a las arterias de grande y mediano calibre¹. Se caracteriza por la formación de placas de tejido fibroso y elementos lipídicos, células inflamatorias y agregado plaquetario en el endotelio y conlleva en su evolución diferentes grados de obstrucción vascular y calcificación, siendo ésta última motivo de interés para los investigadores en cuanto a su mecanismo de formación y estructura^{1,2}, además de comparar su presencia en sistemas vasculares coronarios, aorta y vasos periféricos³.

Existen factores de riesgo tradicionales para ésta enfermedad como son la obesidad, la hipertensión arterial sistémica, la dislipidemia, la diabetes mellitus, el tabaquismo, la edad, el género, y otros factores llamados emergentes como la lipoproteína (a) y la homocisteína.⁴ Los distintos factores de riesgo ocasionan disfunción del endotelio, promueven el aumento de la permeabilidad de los lípidos y células, oxidación de lipoproteínas, inflamación, proliferación del músculo liso, depósito o lisis de la matriz extracelular, activación plaquetaria y formación de un trombo. Estos cambios ocurren en la íntima, media y adventicia.⁴ En las fases iniciales de la aterosclerosis, las células endoteliales expresan moléculas de adhesión celular, atraen a los monocitos, se acumulan lípidos y se incrementa la proliferación de las células del músculo liso. Si el daño persiste, se incrementa el número de macrófagos y linfocitos en la lesión. En las fases avanzadas, se liberan enzimas hidrolíticas, citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento, los cuales inducen mayor daño y eventualmente conducen a una necrosis focal. Los macrófagos mediante la secreción de enzimas proteolíticas, pueden debilitar la capa fibrosa y predisponer a su ruptura⁴, con manifestaciones clínicas de angina inestable, infarto del miocardio o muerte súbita.

Por lo tanto en la composición de la placa aterosclerótica se encuentra la presencia de lípidos, plaquetas, células inflamatorias, células musculares y tejido necrótico y cicatrizal. La composición estructural y celular de ésta lesión se ha estudiado y logrado descifrar casi por completo en la actualidad, sin embargo su composición molecular y elemental todavía no se conoce por completo.⁶

Se sabe también, que la placa aterosclerótica se compone de agregados de elementos minerales tales como el calcio, fósforo, hierro, silicio, potasio, magnesio, zinc, cobalto y manganeso.²⁰ En el contexto de la aterosclerosis, las células de la musculatura lisa vascular son las responsables de la formación de calcificaciones vasculares, las cuales pueden ser en la íntima (aterosclerosis) y en la capa media de la pared vascular (esclerosis de Mönckeberg), sin embargo no se conoce el mecanismo preciso por el cual el calcio y otros minerales se depositan.¹⁴

El calcio y el fósforo son los minerales más abundantes en el cuerpo, participan en varios mecanismos fisiológicos y pueden formar fosfatos amorfos de calcio e hidroxiapatita (HA) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. La hidroxiapatita es el componente principal de huesos y dientes, sin embargo cuando se deposita en los vasos sanguíneos provoca estenosis, isquemia y trombosis. Aproximadamente el 90% de los enfermos cardiovasculares presentan depósitos de hidroxiapatita en las placas aterosclerosas. Se han identificado factores que participan en el proceso de calcificación tanto de la vasculatura como del tejido óseo²⁸, los lípidos oxidados son un punto en común entre ambos procesos además de la osteoprotegerina y los bifosfonatos

Existen varios trabajos de investigación que han estudiado los compuestos que forma el calcio presente en la placa¹⁹ y concluyen que los fosfatos de calcio en forma de bioapatita, similar a la observada en el hueso, es el más abundante, encontrándose muchas similitudes entre el tejido vascular calcificado con el tejido óseo (presencia de la bioapatita,

vesículas de matriz ósea y la presencia de células no completamente diferenciadas que pueden diferenciarse en matriz cartilaginosa y posteriormente calcificarse).^{6,9}

Existen diversas teorías y mecanismos moleculares^{1,5,8,16} (aun están en estudio) que explican la calcificación vascular: Entre los mecanismos propuestos que pueden participar de manera conjunta se encuentran: 1.- Pérdida de la inhibición, 2.- Inducción de formación ósea, 3.- Complejos bioquímicos circulantes y 4.- la muerte celular. Figura 1

1.- Pérdida de la inhibición: Las células endoteliales así como la mayoría de los fluidos corporales presentan moléculas que actúan como inhibidores de la mineralización como la proteína de matriz Gla, la fetuina y la osteopontina, entre otras, impiden los depósitos de fosfato de calcio; se ha demostrado en forma experimental que la ausencia de estas moléculas induce una rápida calcificación vascular.^{16,19}

2.- Inducción de formación ósea: se han encontrado proteínas de hueso como la osteopontina y osteocalcina así como rastros histológicos de hueso ectópico dentro de las paredes de arterias calcificadas, en estudios in vitro se ha demostrado que en medios propicios las células endoteliales tienen un remanente de precursores osteo-condrogénicos, los cuales se calcifican en medios propicios, lo que sugiere que en condiciones patológicas in vivo éstas células osteogénicas se calcifican.^{16,19,20}

3.- Complejos de nucleación mineral circulantes: Un número importante de estudios recientes han demostrado una relación directa entre la actividad osteoclástica de resorción con la calcificación vascular. Lo anterior se ha demostrado tanto en estudios experimentales con ratones en donde se indujo genéticamente la deficiencia de la osteoprotegerina y se observó osteoporosis y calcificación vascular.^{2, 16, 22} Este mecanismo ha permitido también explicar el nexo que existe entre la calcificación vascular y la osteoporosis en mujeres postmenopáusicas.

4.- Necrosis celular: los fosfolípidos presentes en las membranas de las células necróticas o apoptóticas pueden comportarse como moléculas que permiten la nucleación de los compuestos de calcio, la necrosis celular se ha asociado en múltiples tejidos con la calcificación.¹⁶

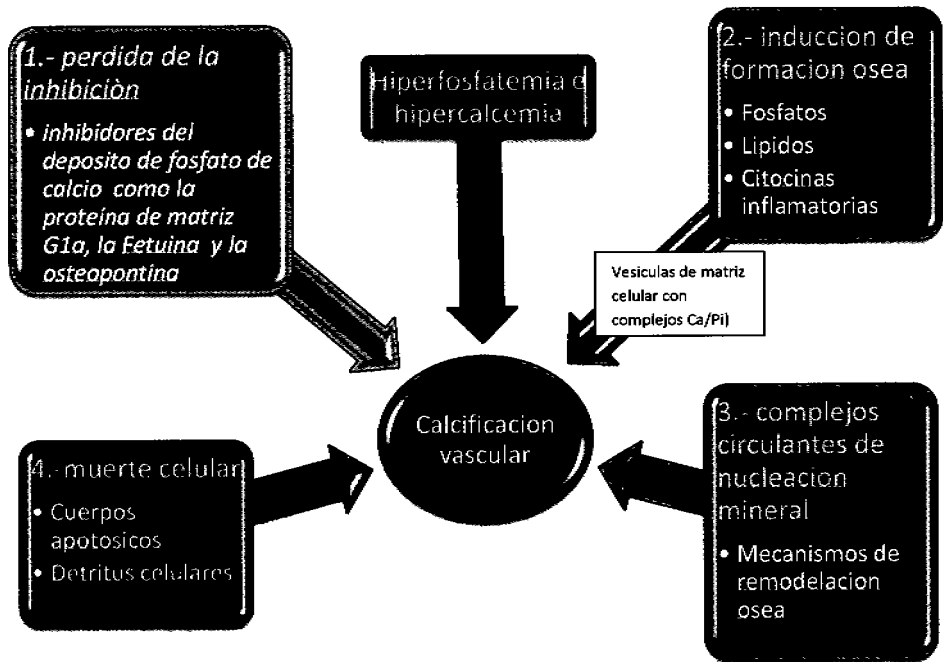


Figura 1. Representación esquemática de los mecanismos que favorecen los depósitos vasculares de apatita. Figura modificada de Giachelli CM. Vascular calcification mechanisms. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15):2959-64

Hay que comprender que la aterosclerosis y la calcificación vascular no son procesos pasivos de depósito de minerales, sino que son procesos complejos y son procesos activos con la participación de múltiples elementos químicos, celulares y también mecánicos.¹

Las calcificaciones vasculares son parte del proceso de desarrollo de la aterosclerosis; ocurren exclusivamente en arterias aterosclerosas y están ausentes en la pared de arterias sin aterosclerosis.²⁰

CONSIDERACIONES ACERCA DE LA CALCIFICACION DE AORTA

Existen algunos estudios que han demostrado que las calcificaciones de la aorta y de las arterias coronarias son un marcador específico de aterosclerosis subyacente y comparten los mismos factores de riesgo.³

Estudios *in vivo* de la calcificación de la aorta ascendente, el arco y aorta descendente por métodos no invasivos mostraron que cuando existe calcificación y presencia de placa de ateroma en aorta también esta presente en arterias coronarias y arterias periféricas.³ Sin embargo, en poblaciones orientales la calcificación aórtica importante no corresponde con las calcificaciones coronarias, lo que hace suponer que en dichas poblaciones la calcificación aórtica es independiente de la calcificación coronaria, sin embargo este es un punto de debate y hace falta estudios para delimitar dicha relación.³

Otro dato importante es el hallazgo de que la mayor cantidad de calcificación se encuentra en la aorta torácica descendente y el arco aórtico siendo menos frecuente en la aorta ascendente. En éste sitio los factores más importantes que modifican su función se asocian a las variaciones en la presión de expulsión del ventrículo izquierdo, la presión sistémica y los factores mecánicos locales producidos por el funcionamiento de la válvula aórtica.^{3,8}

CONSIDERACIONES CLINICAS DE LA MINERALIZACIÓN VASCULAR

La mayoría de los individuos de más de 60 años tienen depósitos minerales que se van incrementando progresivamente con el paso del tiempo. Esta mineralización y calcificación va reduciendo la elasticidad vascular y con ello afectando la fisiología hemodinámica, lo que aumenta en forma importante la morbilidad y la mortalidad por la contribución a la presencia de hipertensión arterial, estenosis valvular aórtica, cardiopatía isquémica, hipertrofia ventricular en respuesta a falta de elasticidad de aorta ascendente y otras alteraciones propias de la aorta relacionadas a la calcificación de su pared como lo son los aneurismas.^{8,11,13}

La calcificación de la aorta ascendente puede provocar diferentes grados de resistencia a la expulsión de sangre por el ventrículo izquierdo y favorecer la presencia de insuficiencia cardíaca, ello debido a la pérdida de la elasticidad y de la complianza de la raíz aórtica. Dentro de los mecanismos fisiológicos normales en el sistema cardiovascular, se requiere que la aorta retenga energía cinética durante la sístole (por su elasticidad) y la libere durante la diástole, ello contribuye a que el trabajo del corazón se optimice (Mecanismo de Windkessel). Cuando se ve alterado este mecanismo el corazón aumenta el esfuerzo mecánico, promoviendo por sí hipertrofia ventricular, disfunción diastólica y falla cardíaca, independientemente de otros factores que pudieran tener el mismo efecto.^{3,7,8}

Se ha estudiado la aterosclerosis por diferentes flancos, ya que es una patología de repercusión clínica importante que causa gran mortalidad y morbilidad en la población mundial.²³ Existen estudios de histología que han permitido la caracterización de la evolución de la placa de aterosclerosis y su repercusión clínica, pudiendo clasificar las lesiones en 6 tipos principales²³:

TIPOS DE LESION ATEROSCLEROSA SEGUN GRADO DE AFECTACION

TIPO	CARACTERISTICAS HISTOLOGICAS
I	Se encuentra depósitos escasos de lipoproteínas y escasas células espumosas
II	Se encuentran definidas dos o mas capas de células espumosas
III	Es un estadio intermedio entre grados II y IV, en donde no hay repercusión obstructiva
IV	Se encuentra propiamente la lesión de placa ateromatosa
V	Placa ateromatosa con tejido fibroso y calcificación
VI	Se encuentran complicaciones como hematoma y trombo

Las lesiones I, II y III se consideran lesiones no avanzadas y las lesiones IV, V y VI se consideran lesiones avanzadas.

Las lesiones ateromatosas avanzadas presentan calcificaciones tanto en la propia placa ateromatosa como en la pared vascular subyacente y éstas tienen ya consecuencias clínicas, ello ha sido estudiado en investigaciones post mortem en arterias coronarias, permitiendo de ésta forma correlacionar el avance estructural de la lesión y la repercusión clínica, pudiendo manifestarse como angina ó infarto; se conoce que las lesiones densas y extensas se asocian a angina y que las lesiones puntiformes y mas aisladas se asocian generalmente a infarto.⁹

Se ha estudiado la calcificación también en arterias periféricas, provoca diversos grados de insuficiencia aguda y crónica por obstrucciones locales, sin embargo la presencia de mineralización en la pared se asocia a insuficiencia arterial crónica muy grave que avanza invariablemente a la oclusión total e irremediable del vaso afectado.^{8,9, 11,13}

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO CON ESPECTROMETRO DE ENERGIA DISPERSADA DE RAYOS X

El contenido de calcio en paredes vasculares humanas se ha analizado mediante diferentes métodos, tanto bioquímicos como de imagen, tanto in vivo como ex vivo.

EL ultrasonido (no invasivo), el ultrasonido intracoronario (invasivo), la tomografía computarizada y el estudio de imágenes por resonancia magnética se ha utilizado para el análisis in vivo como métodos de evaluación y también de diagnóstico.

El análisis ex vivo se ha realizado mediante microtomografía, resonancia magnética, espectroscopía por resonancia magnética y espectroscopía de absorción atómica.

El microscopio electrónico es un sistema óptico que hace uso de un rayo de electrones para formar imágenes magnificadas de muestras pequeñas (Flegler et al. 1993). La microscopía electrónica de barrido con un espectrómetro de energía dispersada de rayos X permite observar las características topográficas y proporciona información de la composición química de materiales inorgánicos presentes en material orgánico.²⁴

El principal uso de este equipo es el análisis cuantitativo que permite conocer con gran exactitud la concentración de elementos. Los límites de detección están en el rango de 40-50 ppm (por ejemplo, esto permite determinar la edad de una roca con tan solo el análisis en lamina delgada de minerales que contienen Th, U y Pb), el equipo cuenta con modos de obtención de imágenes topográficas y obtención de la composición del material estudiado.

En nuestra revisión extensa de literatura, no existen estudios publicados en donde se evalúe la mineralización vascular y aterosclerosis en pacientes vivos. El estudio de la mineralización vascular permitirá a futuro poder hacer un análisis del curso de la enfermedad isquémica con la presencia y cantidad de diferentes minerales

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México, las enfermedades isquémicas del corazón ocasionaron 67,090 defunciones en el año 2005, ubicándose como la segunda causa de muerte en población general (10.8%), solo debajo de la diabetes mellitus.^{4, 12} La aterosclerosis y calcificación vascular es un proceso inflamatorio, crónico que afecta las arterias y por sus consecuencias clínicas ha sido estudiada desde diferentes frentes,¹⁷ logrando actualmente tener conocimiento de su composición estructural y celular, sin embargo no existe conocimiento completo de la composición molecular y elemental.^{7, 15}

La calcificación vascular es consecuencia de la aterosclerosis afectando arterias de grande y mediano calibre así como arterias coronarias, lo que traduce alteración en la función arterial, siendo un proceso sistémico.⁷

La microscopía electrónica de barrido con espectrómetro de energía dispersada de rayos X es un método que permite observar las características topográficas y además la composición química de la mineralización de la pared vascular, método que no ha sido reportado en la literatura para el estudio de la aterosclerosis.

El microscopio esta equipado con varios detectores: un detector de electrones secundarios para obtener imágenes de alta resolución SEI (Secondary Electron Image), un detector de electrones retrodispersados que permite la obtención de imágenes de composición y topografía de la superficie BEI (Backscattered Electron Image), y un detector de energía dispersiva EDS (Energy Dispersive Spectrometer) permite coleccionar los Rayos X generados por la muestra y realizar diversos análisis e imágenes de distribución de elementos en superficies, figura 2. Aún cuando las posibilidades de empleo son muy amplias su uso se

destina a la clasificación morfológica de partículas de roca y minerales, identificación de especies de microfósiles, y composición y distribución elemental en materiales geológicos. Sin embargo el empleo de esta tecnología en el estudio de la composición mineral de la placa aterosclerosa ha permitido obtener resultados importantes en nuestra población de estudio.



Figura 2. Esquema del microscopio de barrido.

PREGUNTA DE INVESTIGACION:

¿Cuál es la proporción de mineralización y composición elemental de la misma en arterias aorta y mamaria de pacientes con cardiopatía aterosclerosa?

HIPOTESIS NULA

La aorta y la arteria mamaria presentan igual grado de mineralización en pacientes con enfermedad coronaria

HIPOTESIS ALTERNA

La aorta de pacientes con enfermedad coronaria presenta mayor grado de mineralización comparado con arteria mamaria interna del mismo paciente.

JUSTIFICACION

La calcificación y mineralización son procesos que acompañan la evolución de la enfermedad aterosclerosa, culminando en rigidez de los vasos afectados, la cual a su vez tiene efectos por sí que agravan los fenómenos ya alterados por la obstrucción de la placa ateromatosa.

Se sabe que la calcificación y mineralización vascular obedecen a un conjunto de procesos activos que aún están en estudio.²¹ El conocimiento de la composición y de la proporción de la mineralización vascular en la aterosclerosis formará parte del conocimiento necesario para ir descubriendo a fondo los mecanismos de estos procesos los cuales son susceptibles de prevención y posiblemente regresión de una patología que significa alta morbilidad en nuestra población.

MATERIAL Y METODOS

UNIVERSO DE TRABAJO: El estudio se realizará con la participación de diferentes instituciones: Departamentos de Cirugía, Farmacología y Patología del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”, Instituto de Geofísica de la UNAM, Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la UNAM,

POBLACION: Pacientes con enfermedad coronaria sometidos a cirugía de revascularización coronaria en el Instituto Nacional de Cardiología.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Conocer la proporción de mineralización y composición elemental de arterias aorta y mamaria de pacientes con cardiopatía aterosclerosa.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

1. Comparar el grado de mineralización de la aorta de pacientes con enfermedad coronaria con el grado de mineralización en sujetos sin enfermedad coronaria.
2. Determinar el grado de mineralización de la aorta en comparación con la arteria mamaria en pacientes con enfermedad aterosclerosa.
3. Determinar la composición elemental de minerales en la arteria aorta y mamaria de pacientes con enfermedad aterosclerosa.

MÉTODOS:

DISEÑO DEL ESTUDIO:

Estudio de casos y controles

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Pacientes de ambos géneros sometidos a cirugía de revascularización coronaria en quienes se coloque hemoductos tanto arteriales pediculados como venosos.
- Pacientes que acepten participar en el estudio y firme consentimiento informado

CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN:

- Pacientes con inestabilidad hemodinámica sometidos a cirugía de urgencia

DESCRIPCIÓN OPERATIVA:

Casos

En los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, se registraron los factores de riesgo tradicionales como edad, género, índice de masa corporal, antecedentes familiares y personales como hipertensión, diabetes mellitus, tabaquismo y dislipidemia. Cada paciente autorizó por escrito su participación en el estudio mediante consentimiento informado. Todos los pacientes tenían diagnóstico de enfermedad coronaria documentada por angiografía realizada por cardiólogos hemodinamistas experimentados usando la técnica Judkins estándar.

Controles

Los tejidos para el control de sujetos sin enfermedad coronaria ni otra cardiopatía congénita ni adquirida que afectara el flujo a través de la aorta ascendente fueron tomados de muestras de autopsia de niños finados por causas no cardíacas .

El tejido de arteria mamaria interna izquierda del mismo paciente fue analizada también como tejido control, para comparar la mineralización de la aorta con tejido vascular periférico.

Muestra de tejido

Con la intención de no someter al enfermo a un riesgo mayor del que contempla la cirugía cardíaca, el tejido aórtico se obtendrá durante el procedimiento quirúrgico mediante resección de tejido de la arteria aorta como parte de la técnica quirúrgica habitual (aortotomía) para realizar anastomosis proximal de puentes coronarios. Se obtendrá otra muestra de tejido de arteria mamaria y se empleará como tejido control.

Las muestras de aorta y de arteria mamaria obtenidas en la cirugía de revascularización, así como las muestras de aorta de niños finados por causas no cardíacas se fijan en formaldehído y almacenadas a temperatura ambiente.

En el laboratorio de Trombosis y Fibrinólisis, Departamento de Farmacología, Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" se disecó el tejido en 2 partes (50 y 50% aproximadamente).

Posteriormente la mitad de las muestras se extraen del formol, se realizan cortes transversales pequeños (3-4 mm) y se mantienen durante 24 a 48 hrs para secado en temperatura ambiente .

Posteriormente se colocan en portaobjetos circulares de una pulgada de diámetro, las muestras son recubiertas con grafito (buena conductividad eléctrica) y se analizan con el microscópio electrónico de barrido con espectrofotómetro de energía dispersada para el análisis.

La otra parte se mantendrá en formaldehído al 4% y será transportado al Departamento de Patología para ser cubierto de parafina. De cada segmento cubierto de parafina se cortan 15 secciones (5 micrometros de grosor) con el microtomo para tinción histológica convencional.

Análisis Histológico.

Mediante tinción con Masson se identificarán los componentes normales del tejido arterial y la presencia o ausencia de placas aterosclerosas

DEFINICION DE VARIABLES:

- Diabetes mellitus tipo 2: Pacientes con diagnóstico previo de diabetes mellitus tipo 2 ó que estuvieran recibiendo tratamiento hipoglucemiante y/o insulina, y pacientes con glucemia en ayuno de 126 mg/dL en 2 o más ocasiones.
- Hipertensión arterial sistémica: Pacientes con diagnóstico previo o con tratamiento antihipertensivo establecido.
- Hipercolesterolemia: Pacientes con diagnóstico previo, niveles de colesterol total igual o mayor de 240 mg/dL, niveles de colesterol LDL igual o mayor de 160 mg/dl o colesterol HDL menor de 40 mg/dl.
- Hipertrigliceridemia: se considero con diagnóstico previo, tratamiento con fibratos o triglicéridos séricos igual o mayor de 150 mg/dL.
- Tabaquismo previo: Antecedentes de consumo de 5 o más cigarros al día suspendido en un tiempo mayor a un año.
- Tabaquismo activo: al consumo de 5 o más cigarros al día al momento de su ingreso al estudio o suspendido en un tiempo menos a 1 año.
- Obesidad: cuando el índice de masa corporal (peso en kg/ talla en m²) fue igual o mayor de 30.
- La extensión de la enfermedad arterial coronaria: se consideró con el número de lesiones significativas (> 50% de reducción de diámetro) en un mismo vaso principal o secundario [mayor de 2 mm].

ANALISIS ESTADISTICO

Se realizó estadística descriptiva con medias y medianas según la distribución, para variables continuas. Frecuencias y porcentajes para variables categóricas. Se analizaron grupos con T de student o U de Mann Whitney para variables continuas según la distribución y Chi cuadrada para variables categóricas. Se utilizó análisis de varianza (ANOVA) para diferencias entre variables cuantitativas (medias) en diferentes grupos. Se consideró diferencia significativa a un $p < 0.05$.

RIESGO DE LA INVESTIGACION:

Ninguno

RECURSOS HUMANOS:

Residentes de Cirugía cardiotorácica y de cardiología,, Médicos Adjuntos de cirugía cardiotorácica y Cardiología, Investigadores de los departamentos de Endocrinología, Farmacología y Patología. Personal de Enfermería, Instituto de Geofísica UNAM

RECURSOS FISICOS:

Servicio de Cirugía Cardiotoracica, Farmacología y endocrinología del Instituto Nacional de Cardiología. Instituto de Geofísica de la UNAM

RECURSOS FINANCIEROS

Institucionales, Proyecto apoyado por CONACYT 59896 PAPIIT UNAM IN220308, Instituto Científico Pfizer

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo _____

Declaro libre y voluntariamente que acepto participar en el estudio:

“MINERALIZACION VASCULAR EN PACIENTES CON CARDIOPATIA ATEROSCLEROSA CORONARIA MULTIVASCULAR”

El estudio consiste en toma de muestras de pared de aorta y de arteria mamaria interna izquierda durante el proceso de cirugía de revascularización, dicha toma de muestra no significa procedimiento extra a una cirugía de revascularización, ya que en dicho procedimiento siempre se retira fragmentos de pared de aorta para la realización de las anastomosis proximales de los hemoductos venosos y siempre se retira fragmento de la arteria torácica interna izquierda para la preparación de la misma para la anastomosis distal de dicho hemoducto . Este estudio aportaría una gama nueva de conocimientos sobre la aterosclerosis desde un punto de vista todavía no estudiado y contribuir en un futuro al beneficiar a los pacientes con ésta patología pacientes con nuevos tratamientos. Puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación en el estudio.

Es de mi conocimiento que seré libre de retirarme del presente estudio en el momento que así lo desee. En caso de que decidiera no participar, la atención que como paciente recibo en esta Institución no se verá afectada.

FIRMA

TESTIGO

Fecha:

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

DATOS GENERALES DEL PACIENTE			
NOMBRE			
REGISTRO:	EDAD:	GENERO:	FECHA DE NACIMIENTO: (D/M/A):
ESCOLARIDAD:	CSE:	FECHA DE INGRESO AL INC:	

ANTECEDENTES FAMILIARES:

ANTECEDENTES FAMILIARES		
	SI	NO
CARDIOPATIA ISQUEMICA:		
CARDIOPATIA ISQUEMICA TEMPRANA(Hombres < 55, Mujer <65)		
HIPERTENSION ARTERIAL		
DIABETES MELLITUS		

FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR		
	SI	NO
HIPERTENSION ARTERIAL: TIEMPO DE EVOLUCION:		
DIABETES MELLITUS: TIEMPO DE EVOLUCION:		
TABAQUISMO PREVIO: DURACION EN AÑOS: SUSPENDIDO HACE:		
TABAQUISMO ACTUAL: NUMERO DE CIGARROS AL DIA: _____ EDAD DE INICIO: _____		
DISLIPIDEMIA: TIEMPO DE EVOLUCION:		
PESO:		
TALLA:		

TIPO DE CARDIOPATIA	
INFARTO:	LOCALIZACIÓN:
Angor:	

LESION CORONARIA POR ANGIOGRAFIA	
Enfermedad de tronco	
Enfermedad trivascular	
Otra:	

INFARTO DE MIOCARDIO PREVIO:	Fecha del infarto:
TRATAMIENTO DE REPERFUSION	FECHA
- TROMBOLISIS	
- PERCUTANEA	
- QUIRURGICA	

TRATAMIENTO MEDICO ACTUAL:	SI	NO
ASPIRINA		
ESTATINA		
BETABLOQUEADOR		
CALCIO ANTAGONISTA		
INHIBIDOR DE LA ECA		
BLOQUEADOR DE RECEPTOR DE ANGIOTENSINA		
FIBRATOS		
HIPOGLUCEMIANTE ORAL		
INSULINA		

FUNCION VENTRICULAR:
FRACCION DE EXPULSION DEL VENTRICULO IZQUIERDO:
GROSOR DE PARED POSTERIOR DEL VI:
GROSOR DEL SEPTUM INTERVENTRICULAR:

RESULTADOS

Se incluyeron 6 pacientes con enfermedad arterial coronaria, en quienes se realizó cirugía de revascularización coronaria. La media de edad fue de 54 años \pm 12.5, con predominio de género masculino (66%). El factor de riesgo predominante fue tabaquismo (ya sea previo o actual) en 4 pacientes (66%). Las características clínicas de los pacientes y resultados histológicos se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Características clínicas de los pacientes y resultados histológicos, n= 6.

Edad	54 \pm 12.5
Masculino, n(%)	4 (66)
Hipertensión, n (%)	2 (33)
Diabetes mellitus, n(%)	2 (33)
Tabaquismo, n(%)	4 (66)
Dislipidemia, n(%)	2 (33)
Infarto de miocardio previo, n(%)	3 (50)
Angina estable, n(%)	4 (66)
IMC	25.24 \pm 2.6
TA sistólica	111.33 \pm 5.3
TA diastólica	69.17 \pm 6.4
FEVI	50.83 \pm 9.1
Tratamiento establecido, n(%)	
- Estatinas	4 (66)
- Betabloqueadores	4 (66)
- IECA	4 (66)
- Aspirina	3 (50)
Análisis de tejido arterial	
Presencia de aterosclerosis	0
Núm de partículas minerales aorta	40.83 \pm 13.2
Núm de partículas minerales control	13.50 \pm 4.3

Las variables están expresadas en medias + desviación estándar y frecuencias con porcentajes para variables categóricas.

Se incluyeron pacientes con lesiones aterosclerosas significativas de 1, 2 y 3 vaso coronarios. La media de segmentos coronarios afectados fue 3.33 ± 1.9 , con más de 66% de pacientes con algún vaso coronario ocluido (ver tabla 2).

Tabla 2. Características angiográficas de los pacientes

Pacientes n=6	
Univascular, n(%)	2 (33)
Bivascular, n(%)	2 (33)
Trivascular, n(%)	2 (33)
Segmentos coronarios afectados	3.33 ± 1.9
Enfermedad de tronco, n(%)	1 (16)
Algún vaso ocluido, (%)	4 (66)
Calcificación coronaria, (%)	1 (16)

Las variables están expresadas en medias + desviación estándar y frecuencias con porcentajes para variables categóricas.

El análisis con microscopio electrónico realizado en aorta control mostró mínimo grado de mineralización (Figura 1). Al realizar acercamiento (escala de 20 micras) se observan detalles estructurales del mineral (figura 2). En la figura 3 se observa la imagen espectral realizada con análisis por emisión de electrones retrodispersados (EDS) sobre la imagen de mineral mostrando presencia de Silicio, Aluminio (Silicoaluminatos) y hierro predominantemente con porcentajes de 53, 35 y 11%, respectivamente (Figura 3).

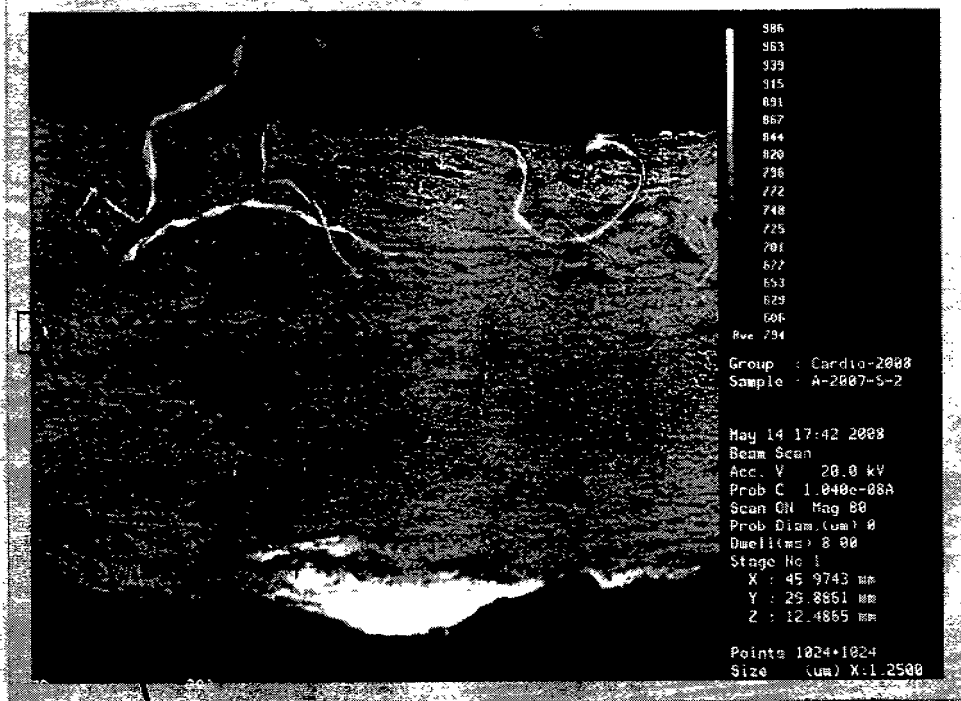


Figura 1. Se observa arteria aorta de paciente control con mínima mineralización vascular.

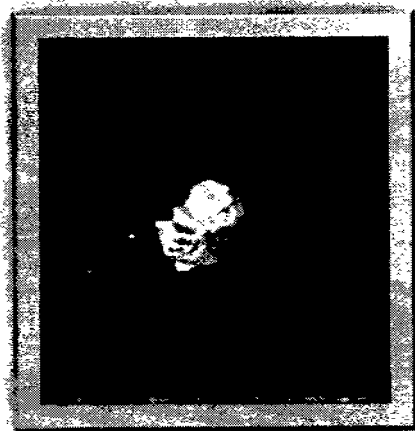


Figura. 2
 Acercamiento a
 20 micras de la
 imagen previa.

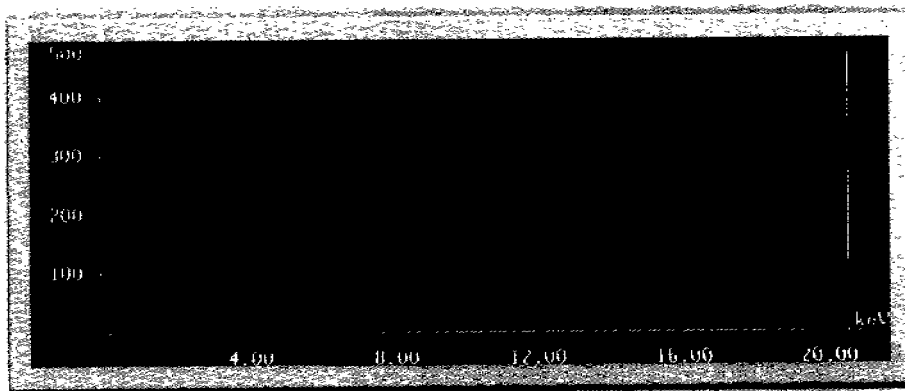


Figura 3. Imagen espectral de elementos presentes en mineral

Al analizar las arteria aortas de pacientes con aterosclerosis coronaria se observó alto grado de mineralización (figura 8) comparado con aorta de enfermos sin aterosclerosis (Fig 1), 40.83 ± 5.4 partículas / unidad de área vs 4.0 ± 1.0 partículas / unidad de área respectivamente, $p= 0.01$. Al comparar grupos de aorta de pacientes, arteria mamaria con aorta control se continuó observando diferencias estadísticamente significativas ($p=0.001$). [Ver figura 5]

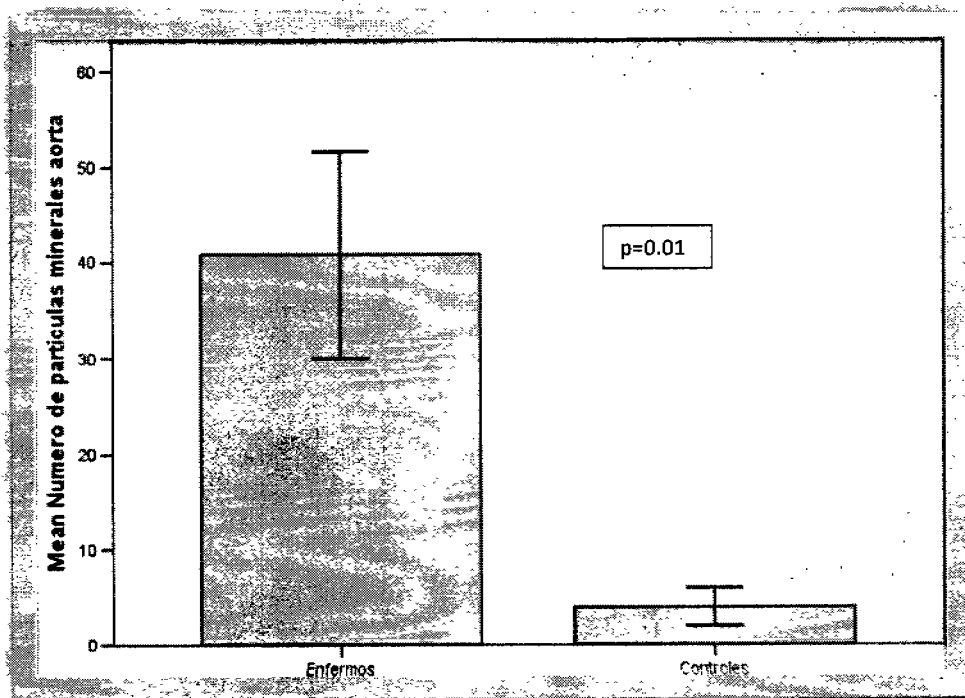


Figura 4. Análisis comparativo de aorta de pacientes con aterosclerosis coronaria comparado con aorta de sujetos control.

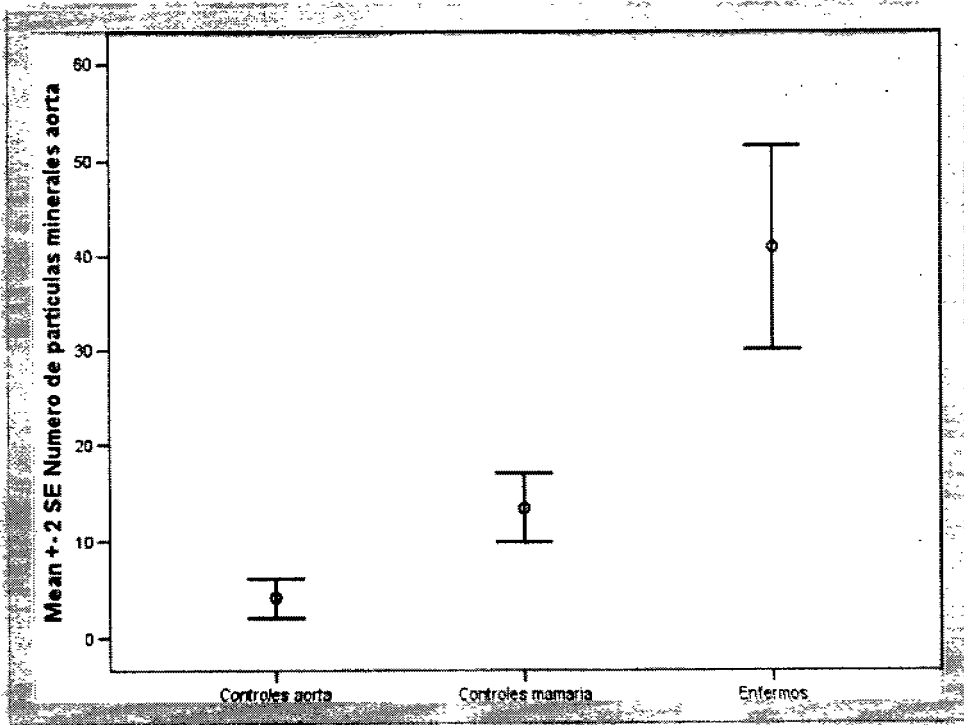


Figura 5. Análisis comparativo de aorta de pacientes con enfermedad arterial coronaria, arteria mamaria y controles sin aterosclerosis mediante análisis de varianza.

En la figura 6, se observa una arteria mamaria de pacientes con aterosclerosis coronaria que se colocó como puente arterial a la arteria descendente anterior.

Figura 6. Se observa arteria mamaria de un paciente con enfermedad coronaria con poca mineralización vascular. Escala 500 micras

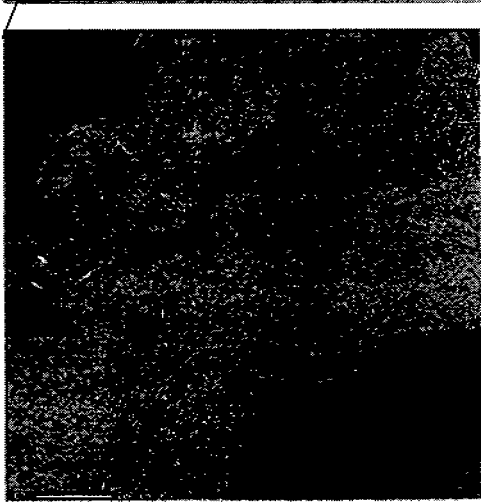
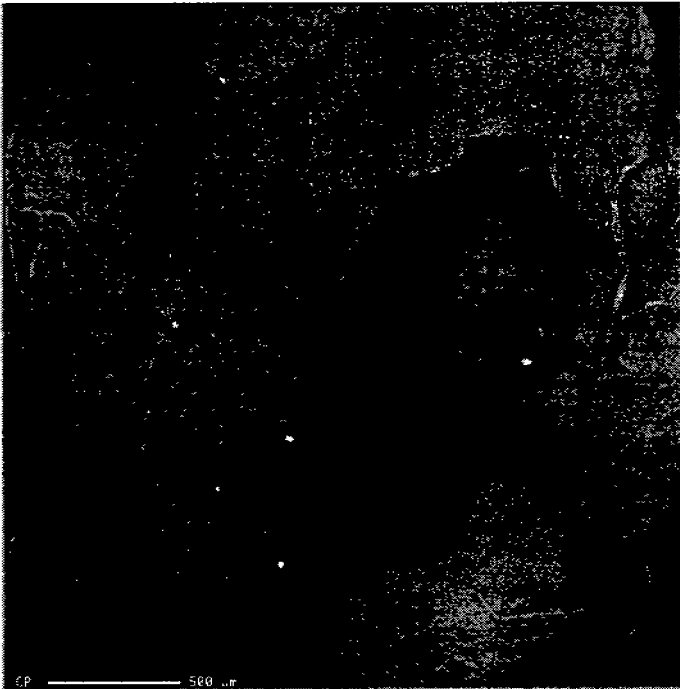


Figura 7. Acercamiento de imagen previa. Escala 200 micras.

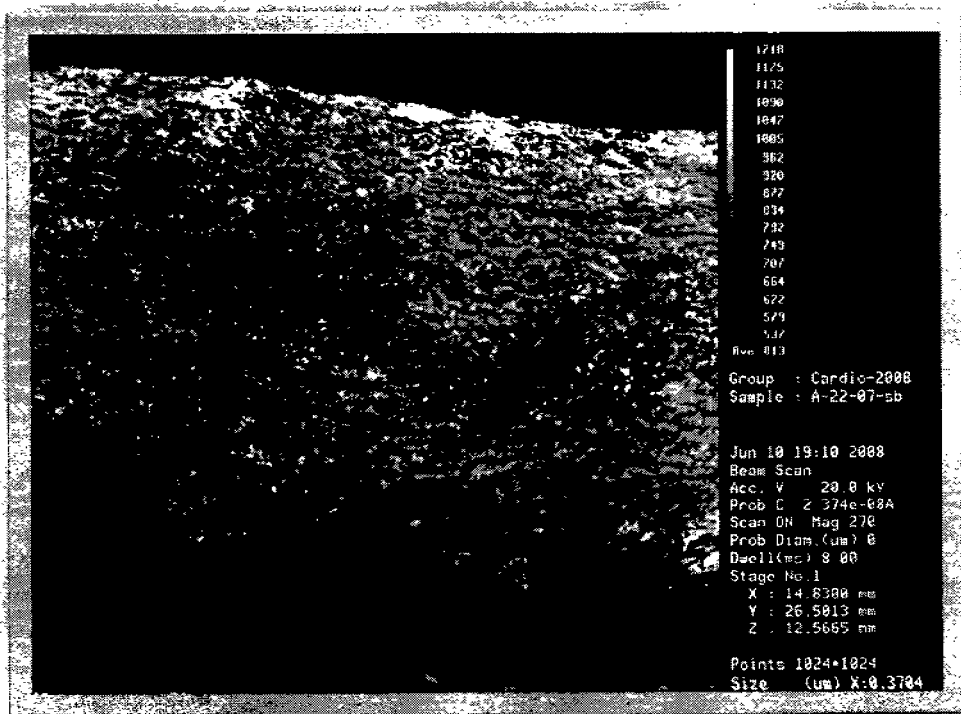


Figura 8. Aorta de paciente con alto grado de mineralización vascular. Escala 50 micras.

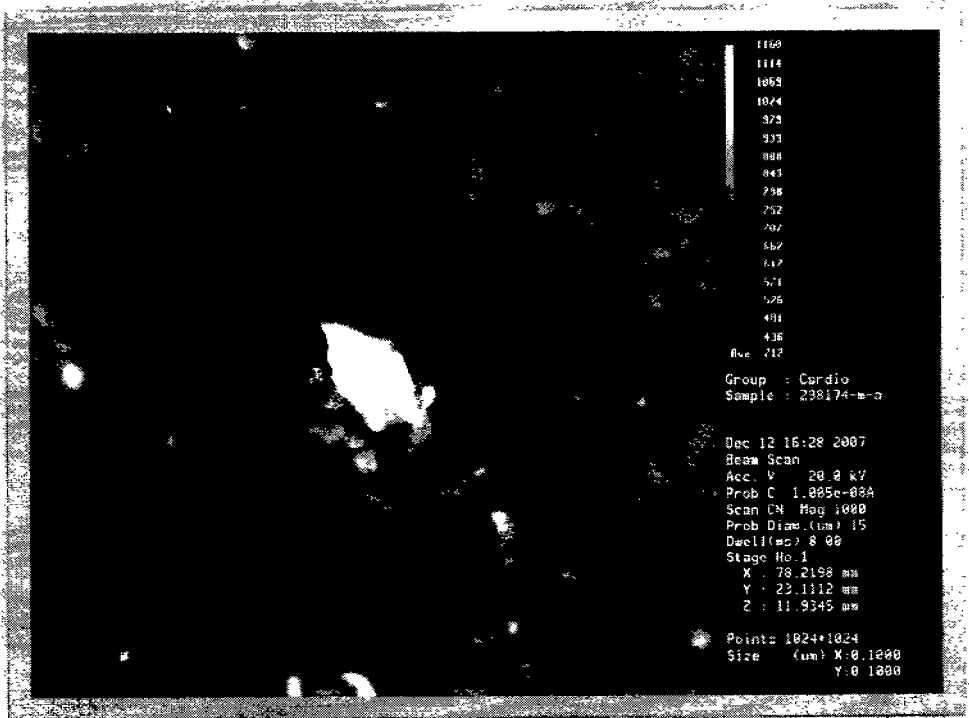


Figura 9. Acercamiento de la imagen previa a escala de 20 micras sobre mineral localizado en la capa media de arteria aorta.

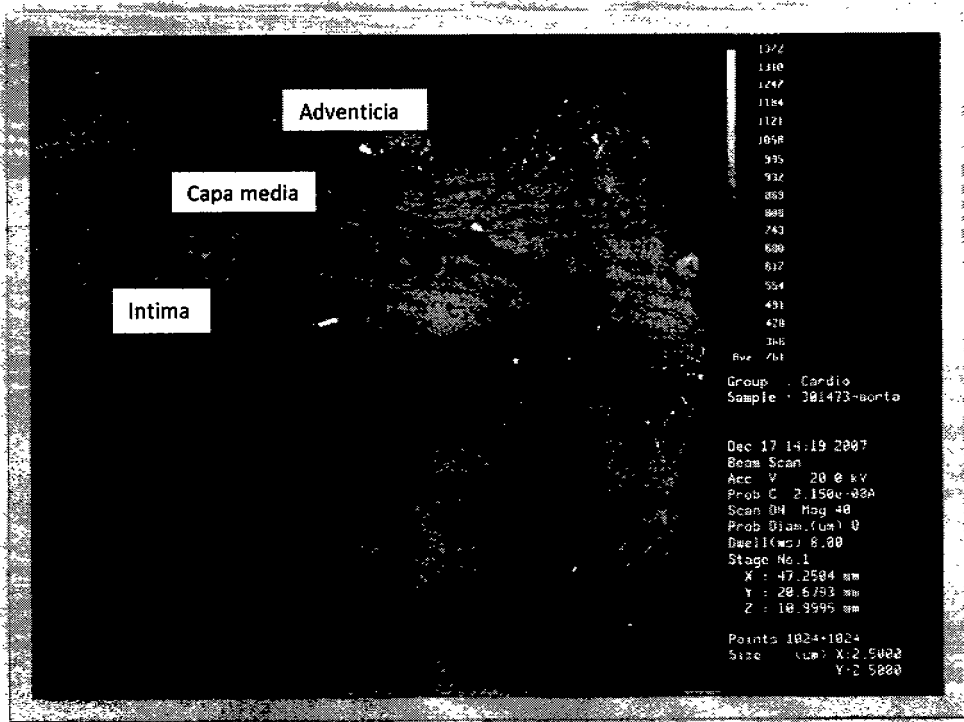


Figura 10. Observamos aorta de pacientes con aterosclerosis coronaria con moderado grado de mineralización vascular.

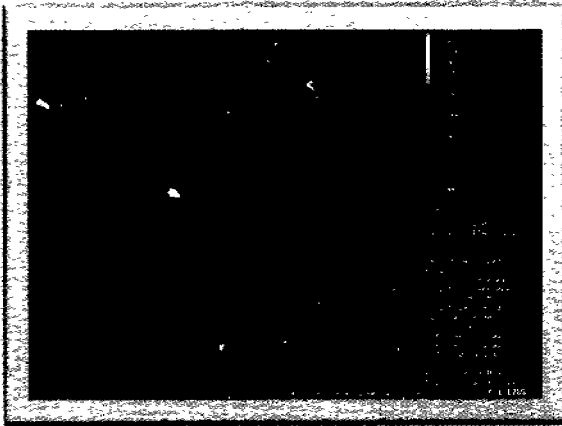


Figura 11.
Acercamiento de
imagen previa

ELEMENTOS MINERALES ENCONTRADOS EN ARTERIAS

Paciente 1	Si, Al, Mg, Ca, Pb, P, Cu, Zn, S, Na, Cl
Paciente 2	Si, Al, Fe, K, Ca, Mg, Cu, Zn, S, Cr
Paciente 3	Si, Al, Ca, K, Fe, S
Paciente 4	Si, Ca, Ag, Mg, K, Fe, Zn, P, Ti
Paciente 5	Fe, Ca, Si, Al, S, Mg, Cr
Paciente 6	Fe, Cr, Ni, Si, Ca

Si= Silicio, Al= Aluminio, Mg= Magnesio, Ca=Calcio, Pb= plomo, P=fosforo, Cu=cobre, Zn=Zinc, Na= Sodio, Cl=Cloro, Fe=Hierro, K= Potasio, S= Azufre, Cr=cromo, Ag= oro, Ti=titanio, Ni=niquel

La mineralización encontrada en pared de aorta de nuestro grupo de pacientes mostró diferencias en cuanto a su composición, la cual fue muy variable de un paciente a otro y con proporciones diferentes de cada mineral en cada paciente, no mostrando predominio de uno u otro en forma constante.

Chocolate, grasas, vegetales, tabaco
 Vegetales, cerveza, cereal. Afección pulmonar (mineros)
 Agua contaminada, minas
 Frutas, vegetales, carnes, mariscos, refrescos, vino, tabaco
 Agua potable
 Carnes, vegetales

ANALISIS HISTOLOGICO

En ninguna de las muestras analizadas se encontraron lesiones correspondientes a las ya conocidas de la aterosclerosis.

DISCUSION

La mineralización vascular es un proceso activo con vías metabólicas complejas que aún están en estudio.^{4,6} Se sabe que éste proceso es una alteración sistémica que acompaña siempre a la aterosclerosis en algún momento de la evolución de ésta, sin embargo puede existir en ausencia de lesiones reconocidas como aterosclerosis.¹

La calcificación vascular se ha reconocido como un proceso asociado a la edad, principalmente con depósitos de calcio y fósforo, además de relacionado a otros factores de riesgo como la hipertensión, dislipidemias y obesidad.^{4,6}

En nuestro grupo de estudio encontramos todos nuestros pacientes con datos clínicos de enfermedad aterosclerosa avanzada, ello por la obvia razón de que presentan oclusiones arteriales coronarias significativas así como en la mayoría la presencia de por lo menos un vaso coronario ocluido totalmente. Encontramos mineralización severa en todos nuestros pacientes a nivel de la aorta ascendente, pudiendo de esta forma asociar la aterosclerosis coronaria a la mineralización de aorta ascendente y corroborar que la mineralización vascular y la aterosclerosis coronaria comparten los mismos factores de riesgo; este ultimo hallazgo no ha sido reportado anteriormente^{1,3,5}, con ello podemos observar que si existe afectación en aorta ascendente demostrada por mineralización en contraste a lo reportado en varios estudios en los que se demuestra por métodos no invasivos que existe una mayor calcificación en aorta torácica descendente y abdominal^{3,7,11}. Los pacientes del grupo incluido tenían como principal factor de riesgo el tabaquismo, lo que es concordante con lo reportado en la literatura. Se ha demostrado que el tabaquismo es el factor de riesgo principalmente asociado a calcificación de la pared de la aorta ascendente³, hecho que podríamos señalar de igual importancia para la mineralización por otros elementos diferentes al calcio y fósforo.

La calcificación de la pared de la aorta ascendente es independiente del grado de aterosclerosis coronaria^{3,8}, lo que hace suponer que existen mecanismos de mineralización que no se comparten entre estos dos sitios vasculares en estudio, sin embargo los factores de riesgo si son compartidos.

El presente estudio se demostró mineralización mínima en sujetos sin enfermedad ateroscelosa observando en la escasa mineralización composición de silicio, aluminio y hierro. De la misma forma se demostró que arterias periféricas de los pacientes con enfermedad aterosclerosa, en este caso siendo la arteria mamaria interna izquierda, no presentan mineralización, de ello podríamos inferir que ello significa un fundamento desde el punto de vista histológico y estructural de que el hemoducto de arteria mamaria interna que se usa para revascularización coronaria se encuentra en buenas condiciones y ello correlacionar con la larga vida útil del hemoducto demostrada en forma sólida en los estudios clínicos, siendo motivo de futuras investigaciones la mineralización de dicho hemoducto a largo plazo y si ello influye en la permeabilidad.

Los resultados obtenidos en este estudio no muestran una diferencia cualitativa entre los elementos encontrados en la intima, comparados con los encontrados en la capa media ni con los encontrados en vasos considerados de baja mineralización, lo que concuerda con lo reportado por Tohno y col^{25,26}, que analizaron la acumulación de elementos postmortem en arterias femorales en las que demostraron la presencia de calcio, fósforo, magnesio, zinc, hierro, aluminio y silicio. En nuestro estudio encontramos la presencia de los minerales reportados en otros estudios publicados, sin embargo encontramos trazas de elementos nunca antes reportados como el titanio, plomo y cobre, lo que habla de exposición a dichos elementos por parte de nuestros pacientes, quedando en claro la influencia del ambiente en la mineralización, siendo motivo de futuros estudios el mecanismo por el cual dichos elementos se depositan y que influencia tienen en la evolución de la aterosclerosis. No se sabe si los acúmulos de metales pesados favorecen la evolución de la aterosclerosis o incluso elevan el riesgo de mortalidad o si por el contrario pudieran funcionar como

factor protector ya que en estudios realizados por Kuliczkowski W y cols²⁷, no se logro asociar la presencia de metales pesados como el fierro, cobre, manganeso, zinc , selenio y cadmio a la patología isquémica cardiaca e incluso pudieron identificar que los niveles elevados de zinc disminuyen el riesgo de la enfermedad cardiaca isquémica

Dentro del estudio de histopatología no encontramos lesiones de placa ateromatosa, ninguno que corresponda a las clasificaciones histológicas ya reportadas y establecidas²³, con lo que demostramos que la mineralización vascular en este caso de la aorta puede existir sin la presencia de lesión aterosclerosa identificable; en el conocimiento de que la mineralización comparte factores de riesgo con la aterosclerosis coronaria y probablemente varios mecanismos metabólicos y que la aterosclerosis siempre se acompaña de mineralización queda la interrogante si la mineralización vascular se podría considerar una etapa de la aterosclerosis u otro tipo de lesión aterosclerosa o es una entidad nosológica independiente.

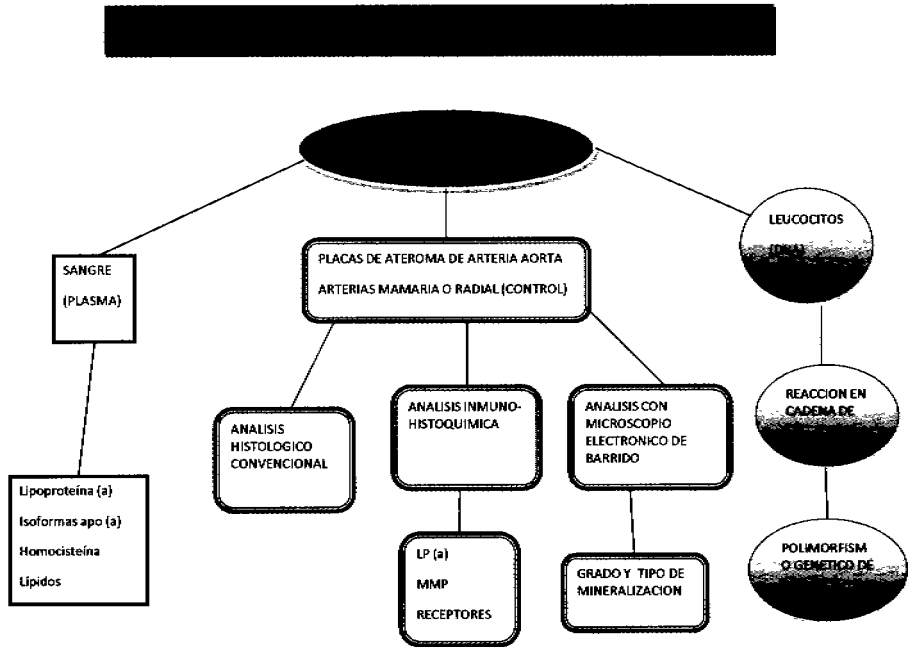
LIMITACIONES:

EL presente estudio es la fase inicial de una serie de investigación con temas afines, el tamaño de nuestra muestra se incrementará para publicaciones posteriores.

CONCLUSIONES

- La mineralización vascular puede existir sin la presencia de lesiones aterosclerosas identificables histológicamente in situ.
- La mineralización de la aorta ascendente se relaciona a la presencia de aterosclerosis coronaria, con la que comparte factores de riesgo.
- En pacientes con enfermedad aterosclerosa coronaria el grado de mineralización de la pared de la aorta ascendente es alto.
- En la población estudiada el grado de mineralización de la arteria mamaria interna izquierda es mínimo.
- La composición de los elementos de mineralización es por múltiples elementos como hierro, fósforo, calcio, sodio, aluminio, magnesio y no solo está dada por depósito de calcio.
- En la mineralización vascular puede haber depósito de elementos como el titanio, plomo y cobre, por lo que inferimos que los factores ambientales podrían influir en la mineralización vascular.

PROYECTO Aterotrombosis: Lipoproteína (a) y proteólisis. Estudio en lesiones ateroscleróticas humanas.



CONSIDERACIONES ETICAS

Las muestras obtenidas de arteria aorta y arteria mamaria interna izquierda no representa ninguna agresión ni procedimiento extra que signifique un riesgo para los pacientes sometidos a cirugía de revascularización, ya que dicho tejido se retira invariablemente en todos los procedimientos de revascularización para poder ser realizados y además son siempre desechados.

El presente protocolo es un subanálisis del proyecto **Aterotrombosis: Lipoproteína (a) y proteólisis. Estudio en lesiones ateroscleróticas humanas**, aprobado por el comité de Bioética e Investigación institucional con el número 07-538.

BIBLIOGRAFIA

1. Demer LL, Tintut Y. Vascular calcification: pathobiology of a multifaceted disease. *Circulation*. 2008;117:2938-2948.
2. Kadoglou N, et.al. The relationship between serum levels of vascular calcification inhibitors and carotid plaque vulnerability. *J Vasc Surg* 2008;47:55-62.
3. Takasu, J, et.al. Relationships of thoracic aortic wall calcification to cardiovascular risk factors: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) *Am Heart J* 2008;155:765-71
4. Sanz J, Fayad ZA. Imaging of atherosclerotic cardiovascular disease. *Nature*.2008; 451: 953-957
5. Mohga El-Abbadi, Giachelli C M. Mechanisms of Vascular Calcification Advances in Chronic Kidney Disease, 2007; 14:54-66
6. Dwight A. Towler J, Vascular biology and bone formation: hints from HIFJ. *Clin. Invest*. 2007;117:1477-1480.
7. Dhakshinamurthy Vijay Anand, Determinants of Progression of Coronary Artery Calcification in Type 2 Diabetes *J Am Coll Cardiol* 2007;50:2218-25

-
8. Jian-Su Shao, Jun C, Dwight A. Molecular Mechanisms of Vascular Calcification: Lessons Learned From The Aorta Arterioscler. *Thromb. Vasc. Biol.* 2006;26:1423-1430
 9. Johnson L, Loscalzo J. Vascular Calcification. Pathological Mechanisms and clinical implications. *Circ Res.* 2006;99:1044-1059
 10. Yun A. et al Adventitial dysfunction: an evolutionary model for understanding atherosclerosis. *Medical Hypotheses* 2005; 65: 962–965
 11. Shanani, C. Vascular calcification. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2005;14:361–367.
 12. Causas de mortalidad en México 2005. Estadísticas de mortalidad, Secretaria de Salud. <http://www.ssa.gob.mx>
 13. Reilly M, Wolfe M, Localio R, Rader D. Coronary artery calcification and cardiovascular risk factors: impact of the analytic approach. *Atherosclerosis* 2004;173: 69–78
 14. Trion A, Van der Laarse, Vascular smooth muscle cells and calcification in atherosclerosis *Am Heart J* 2004;147:808–14
 15. Craig A. Simmons^{a,b,1}, Janeta Nikolovska¹, Amanda J. Thornton^b, Sean Matlisa, David J. Mooney^{a,b,c}. Mechanical stimulation and mitogen-activated protein kinase signaling independently regulate osteogenic differentiation and mineralization by calcifying vascular cells *Journal of Biomechanics* 2004;37:1531–1541

-
16. Mei Y, Speer, Cecilia M, Giachelli Regulation of cardiovascular calcification
Cardiovascular Pathology 2004;13: 63– 70
 17. Fruchart JC, Nierman MC, Stroes ES, et al. New Risk Factors for atherosclerosis and patient risk assessment. *Circulation*. 2004; 109 (suppl III): III-15—III-19
 18. Fuster V, Corti R, Fayad A, Schwitter J, Badimon JJ. Integration of vascular biology and magnetic resonance imaging in the understanding of atherothrombosis and acute coronary syndromes. *J Thromb Haemost*. 2003; 1: 1410-21
 19. Demer, Tintut. Mineral Exploration: Search for the Mechanism of Vascular Calcification and Beyond *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:1739-1743
 20. Kristina Boström, MD, PhD Insights into the Mechanism of Vascular Calcification *Am J Cardiol* 2001;88(suppl):20E–22
 21. Shah PK, Galis ZS. Matrix metalloproteinase hypothesis of plaque rupture: players keep piling up but questions remain. *Circulation* 2001; 104: 1878-80
 22. G. E. Donley and L. A. Fitzpatrick Trends Noncollagenous Matrix Proteins Controlling Mineralization: Possible Role in Pathologic Calcification of Vascular Tissue *Cardiovasc Med* 1998;8:199–206
 23. Sary, Herbert C. et . al .A Definition of Advanced Types of Atherosclerotic Lesions and a Histological Classification of Atherosclerosis: A Report From the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association *Circulation* 1995; 92: 1355-1374
 24. Zechmeister A, Matonoha P. Scanning electron microscope x-ray analysis of Ca, P, Fe, Si, K, Na, Mg, Zn, Co and Mn in the wall of the young and the old (atherosclerotic) aorta. *Folia Morphol (Praha)*. 1977;25:353-6.

-
25. Tohno S, et al. Age-related changes of mineral contents in the human thoracic aorta and in the cerebral artery. *Biol Trace Element Res* 1996; 54: 23-31.
 26. Tohno Y, et al. High accumulation of elements in the human femoral artery. *Biol Trace Element Res* 1997; 57: 27-37.
 27. Kuliczkowski W, Jołda-Mydlowska B, Kobusiak-Prokopowicz M, Antonowicz-Juchniewicz J, Kosmala W, Effect of heavy metal ions on function of vascular endothelium in patients with ischemic heart disease, 2004;111:679-85.
 28. Tintut Y, Demer LL. Recent advances in multifactorial regulation of vascular calcification. *Curr Opin Lipidol*. 2001;12:555-60