



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

SECRETARÍA DE SALUD

HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

***“Evaluación de variantes genéticas tipo SNP’s en el gen MicroRNA-146a
y su relación con riesgo de reestenosis coronaria”***

TESIS DE POSTGRADO

PARA OBTENER EL

TÍTULO DE ESPECIALISTA EN CARDIOLOGÍA

QUE PRESENTA:

Dr. Luis Fernando Covarrubias Gil

Asesor de Tesis

Dr. Ismael Hernández Santamaría

Profesor Titular del Curso de Cardiología

México, D.F., Julio de 2015



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.

AUTORIZACIÓN DE TESIS

DR. CARLOS VIVEROS CONTRERAS

Jefe de Enseñanza e Investigación

DR. ISMAEL HERNÁNDEZ SANTAMARÍA

Asesor de Tesis y Profesor Titular del Curso de Cardiología

FOLIO DE REGISTRO DEL PROTOCOLO: HJM 2510/15-R

AGRADECIMIENTOS

*A Dios,
por la vida y porque siempre se manifiesta de diferentes maneras.*

*A mis padres,
que han inculcado en mí siempre el deseo de superación y la confianza en mí mismo y
porque siempre me han apoyado en todo.*

*A mi esposa,
que siempre ha estado conmigo para alentarme y con su amor hace las cosas más
sencillas.*

*A mi hijo,
por ser la fuerza que me impulsa a seguir adelante.*

*A mis maestros,
por contribuir en mi formación profesional.*

ÍNDICE

RESUMEN	6
INTRODUCCIÓN	7
<i>Definición</i>	8
<i>Prevalencia de la reestenosis intrastent</i>	11
<i>Fisiopatología de la reestenosis intrastent</i>	12
<i>Clasificación de la reestenosis intra-stent</i>	13
<i>Factores clínicos</i>	14
<i>Factores angiográficos</i>	14
<i>Factores de procedimiento</i>	14
<i>Tipos de tratamiento de la reestenosis intra-stent</i>	15
<i>Angioplastia simple con balón</i>	16
<i>Aterectomía</i>	17
<i>Láser intracoronario</i>	18
<i>Stent intra-stent</i>	18
<i>Radiación intracoronaria</i>	19
<i>Factores predictivos de aparición de una segunda reestenosis intrastent</i>	21
<i>Importancia de la genética en la reestenosis intrastent</i>	24
<i>MicroRNAs en enfermedad arterial coronaria</i>	22
<i>MicroRNAs en reestenosis</i>	26
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	27
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	27
JUSTIFICACIÓN	28
OBJETIVOS	29
<i>Objetivo general</i>	29
<i>Objetivos específicos</i>	29
HIPÓTESIS	29
DISEÑO DEL ESTUDIO	30
POBLACIÓN DE ESTUDIO	30
<i>Criterios de inclusión de los casos</i>	30
<i>Criterios de exclusión de los casos</i>	31
<i>Criterios de eliminación de los casos</i>	31
<i>Criterios de inclusión de los controles</i>	31
<i>Criterios de exclusión de los controles</i>	32
<i>Criterios de eliminación de los controles</i>	32

METODOLOGÍA	32
<i>Toma de muestra</i>	32
<i>Extracción de ADN</i>	33
<i>Genotipificación del SNP rs2910164G/C del miRNA-146a</i>	34
Análisis estadístico	3
RESULTADOS	35
DISCUSIÓN	38
CONCLUSIONES	40
<i>Índice de tablas:</i>	
Tabla 1	9
Tabla 2	10
Tabla 3	11
Tabla 4	15
Tabla 5	38
<i>Índice de gráficas:</i>	
Gráfica 1	36
Gráfica 2	37
BIBLIOGRAFÍA	41

RESUMEN

Introducción. La reestenosis intra-*stent* es un problema creciente debido al importante incremento que se ha producido en la utilización del *stent* intracoronario como forma de revascularización percutánea. Su incidencia global se cifra alrededor del 28%, habiéndose documentado que el mecanismo principal de su aparición es por una proliferación neointimal. Los factores predictivos más frecuentemente asociados son la diabetes mellitus, una mayor longitud de la lesión tratada, un menor diámetro de referencia del vaso, la localización en la descendente anterior, un menor diámetro luminal al final del procedimiento y el factor genético. **Objetivo.** Este evaluó la variante genética rs2910164G/C del gen *miR-146a*, y su relación con riesgo a desarrollar reestenosis coronaria intra-*stent* en una muestra obtenida de pacientes del Hospital Juárez de México y del Instituto Nacional de Cardiología. **Muestras y método.** Este estudio de casos y controles incluyó 113 pacientes con enfermedad arterial coronaria (EAC) implantados con *stent*, la a genotipificación del polimorfismo rs2910164G/C del *miR-146a* se evaluó con la técnica de 5' exonucleasa "TaqMan". **Resultados.** Los varones desarrollaron en un mayor número y porcentaje reestenosis coronaria intra-*stent* versus las mujeres. Por otro lado, los datos de equilibrio de Hardy-Weinberg mostraron que este polimorfismo estuvo en equilibrio de Hardy-Weinberg. Los datos de genotipificación mostraron que este polimorfismo no está asociado con reestenosis coronaria intra-*stent* en pacientes con EAC implantados con *stent*. **Conclusión.** La reestenosis intra-*stent* se presentó principalmente en varones, y el polimorfismo rs2910164G/C del miRNA-146a no es un factor de riesgo en nuestra población bajo nuestras condiciones de estudio.

INTRODUCCIÓN

En 2014, la cirugía de revascularización miocárdica (RM) celebró el quincuagésimo aniversario de los primeros procedimientos realizados en 1964 (Head SJ, y cols, 2013). Trece años más tarde, tuvo lugar la primera intervención coronaria percutánea (ICP). Desde entonces ambas técnicas de revascularización han sufrido continuos avances, en particular, el empleo sistemático de conductos arteriales en el caso de la RM y la introducción del implante de *stents* coronarios en la ICP. En este lapso, las ICP se han convertido en la intervención terapéutica más empleada en medicina y los progresos alcanzados en ambas técnicas han llevado a una reducción continua y estable de los eventos adversos periprocedimiento, dando excelentes resultados clínicos, sin olvidar que existen diferencias entre tratamientos.

En la RM, los injertos se implantan en el segmento medio del vaso coronario, más allá de la lesión causal, lo cual proporciona al miocardio otras fuentes de flujo sanguíneo y lo protege contra las consecuencias de una potencial obstrucción proximal. En cambio, con el implante de *stents* coronarios se restaura el flujo sanguíneo normal de los vasos coronarios nativos mediante el tratamiento local de las lesiones obstructivas, pero no se protege el miocardio contra la aparición de nueva enfermedad obstructiva en la zona proximal al *stent* (Sigwart U, y cols. 1987).

La RM ha sido objeto de un mayor número de más ensayos clínicos aleatorizados (ECA) que cualquier otra intervención médica. La elección de la mejor estrategia de revascularización posible, teniendo en cuenta también el contexto social

y cultural, a menudo requiere la interacción e intervención de cardiólogos, cirujanos cardiacos, médicos de referencia y otros especialistas. Los pacientes necesitan ayuda e información para tomar una decisión sobre su tratamiento, y probablemente los consejos más valiosos sean los proporcionados por un equipo médico-quirúrgico (Cequier A, y cols, 1997). En un contexto electivo, la RM es la estrategia apropiada cuando los beneficios esperados en supervivencia o en resultados clínicos (síntomas, estado funcional o calidad de vida) son superiores a las consecuencias negativas esperadas del procedimiento. La elección entre tratamiento médico; ICP o RM como estrategia preferida depende del balance riesgo-beneficio de dichas estrategias, por lo cual se debe sopesar el riesgo periprocedimiento de muerte, infarto de miocardio (IM) e ictus, frente a los beneficios relativos a la calidad de vida dependiente de la salud, así como la supervivencia a largo plazo libre de muerte, IM y repetición de la revascularización. El equipo médico-quirúrgico deberá tener en cuenta la anatomía coronaria, enfermedad subyacente, edad, comorbilidades, preferencias del paciente y experiencia del Hospital, Instituto u operador (Stefanini GG, y cols., 2013).

Se han desarrollado numerosos métodos para la estratificación del riesgo, basados principalmente en la complejidad anatómica o en el riesgo clínico, que son útiles en el proceso de toma de decisiones médicas (Head SJ., y cols. 2012). Estos métodos, empleados frecuentemente en contextos clínicos, se resumen en la tabla 1.

Tabla 1: Modelos de riesgo para valorar el pronóstico a corto plazo

Método	Cohorte del estudio (pacientes, diseño)	Inclusión de pacientes	Procedimientos coronarios	Número de variables		Resultados	Recomendación		Estudios de validación	Cálculo	Ref. ^a
				Clínicas	Anatómicas		CABG	ICP			
STS	n = 774.881, multicéntrico	1-12/2006	100% CABGs	40	2	Mortalidad intrahospitalaria o a los 30 días ^b y morbilidad intrahospitalaria ^c	I B		5-10	http://riskcalc.sts.org	15,16
EuroSCORE II	n = 16.828, multicéntrico	5-7/2010	47% CABGs	18	0	Mortalidad intrahospitalaria	IIa B	IIb C	>10	www.euroscore.org/calc.html	11
ACEF	n = 4.557, monocéntrico	2001-2003	–	3	0	Mortalidad intrahospitalaria o a los 30 días ^b	IIb C	IIb C	5-10	[Edad/fracción de eyección (%)] + 1 ^d	22
NCDR CathPCI	n = 181.775, multicéntrico	1/2004-3/2006	100% ICP	8	0	Mortalidad intrahospitalaria		IIb B	<5	–	21
EuroSCORE	n = 19.030, multicéntrico	9-11/1995	64% CABGs	17	0	Mortalidad operatoria	III B	III C	>50	www.euroscore.org/calculd.html	7,8

ACEF: edad, creatinina, fracción de eyección; CABGs: cirugía de revascularización coronaria sola; ICP: intervención coronaria percutánea; NCDR: National Cardiovascular Database Registry; STS: Society of Thoracic Surgeons.

^aReferencias.

^bLo que ocurra más tarde.

^cfenos permanente, insuficiencia renal, ventilación prolongada, infección de la herida esternal profunda, reintervención, estancia hospitalaria < 6 días o > 14 días.

^dSi la creatinina es > 2 mg/dl.

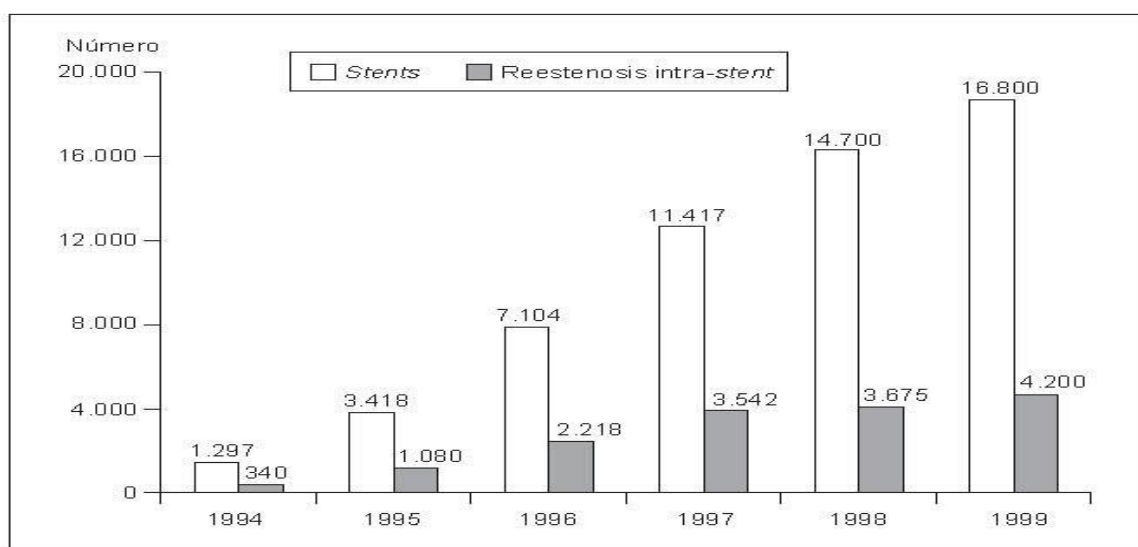
Tomada de Stephan Windecker y cols, 2014

Definición

El *stent* es un dispositivo utilizado en la revascularización percutánea de las estenosis coronarias. Desde su primera aplicación en humanos por Sigward y cols, su utilización se reservó inicialmente para el tratamiento de las complicaciones de la angioplastia coronaria transluminal percutánea (ACTP), así como la oclusión coronaria aguda o la amenaza de oclusión (Sigwart U., y cols., 1987). La reestenosis intra-*stent* se define como la aparición de una nueva estenosis angiográfica superior al 50% en el interior del *stent*, proceso condicionado por múltiples factores; características clínicas, forma de implantación, características anatómicas de la lesión tratada, tipo de *stent*, factor genético, etc. (Colombo A., y cols., 1995).

En la tabla 2 se muestra la tasa de reestenosis intra-stent de acuerdo al total de stents colocados por año, desde 1994 hasta 1999, así como la frecuencia de reestenosis (25-31%), cifras que concuerdan con la reportada actualmente a nivel mundial (28%).

Tabla 2: Número de stents colocados y reestenosis intra-stent en un periodo de 1994 a 1999



Tomada de Joan Antoni Gómez y cols, 1999.

Inicialmente la tasa de oclusión aguda o subaguda del *stent* postimplantación se situó entre el 2 y el 10%, obligando a regímenes de anticoagulación más agresivos que condicionaban una cifra de complicaciones hemorrágicas importantes (entre un 7 y un 13,5%) (Cequier A., y cols. 1997; Stefanini GG., y cols., 2013). Con la mejora producida en la técnica de implantación y en el régimen de antiagregación posterior disminuyó drásticamente la incidencia del número de las complicaciones trombóticas y hemorrágicas (Head SJ., y cols., 2012; Leon MB., y cols. 1998).

Prevalencia de la reestenosis intra-stent

La reestenosis intra-stent presenta características diferentes a la reestenosis post ACTP y el tratamiento presenta mayor complejidad. La prevalencia global de reestenosis intra-stent se puede cifrar alrededor de un 28%, oscilando según las series en individuos evaluados entre un 9,9 y un 32,8% (Reimbers B., y cols., 1997. Nofreiras E., y cols., 1998) (Tabla 3).

Tabla 3: Prevalencia de la reestenosis intra-stent en diferentes estudios con seguimiento angiográfico sistemático

Serie	Año	Número de pacientes	Seguimiento angiográfico (%)	Reestenosis (%)
Kasaoka ¹⁰	1998	1.706	70	25
Bauters ¹¹	1998	463	81	26
Kastrati ¹²	1998	1.349	80	26
Reifart ¹³	1998	3.858	63	32
Hospital de Bellvitge ¹⁴	1998	311	73	20
Global	1999	7.687	69	28

Tomada de Joan Antoni Gómez y cols, 1999.

Si además se incluyen pacientes con lesiones de una longitud superior a los 15 mm, esta prevalencia puede alcanzar valores de hasta el 58% (Mintz GS., y cols., 1998) Generalmente, se considera que de los pacientes incluidos en series con control angiográfico sistemático que presentan reestenosis angiográfica,

aproximadamente un 50% de ellos presentan reestenosis sintomática (Kasaoka S., y cols., 1998).

Fisiopatología de la reestenosis intra-stent

El primer y más importante factor implicado en el desarrollo de la reestenosis intra-stent es la proliferación neointimal que se produce a través y dentro del *stent*, procedente de las capas externas del vaso (Mintz GS., y cols., 1998).

La respuesta proliferativa está constituida por células inflamatorias (linfocitos, polimorfonucleares y macrófagos), células musculares lisas, colágeno y proteínas, lo que sugiere que la proliferación está mediada por mecanismos diversos procesos inflamatorios (Bauters C., y cols., 1998).

Se ha documentado también la existencia de un segundo factor, menos importante, el cual consistente en el grado de compresión del *stent*, debido al remodelado negativo que a largo plazo se produce en la arteria (Mintz GS., y cols., 1998).

Asimismo, la ecocardiografía intracoronaria (Eco i.c.) ha permitido documentar un tipo de recurrencia de la estenosis *intra-stent* que ha sido denominado como «seudorreestenosis» (Mintz GS., y cols., 1998). Este proceso consiste en el hallazgo de una estenosis angiográficamente significativa, pero al realizar un estudio mediante Eco i.c., se detecta una mala aposición o expansión

inicial del *stent*, sin presencia de proliferación intimal significativa (Dauerman HL., y cols., 1998).

Clasificación de la reestenosis intra-stent

La principal característica anatómica que parece determinar esta diferente evolución es la longitud de la reestenosis en el interior del *stent*. Se han descrito diferentes clasificaciones, aunque la más utilizada es la que clasifica las reestenosis en *focales* o *difusas*. Se define como reestenosis focal cuando la longitud de la reestenosis es menor a 10 mm y difusa cuando dicha longitud es igual o mayor a 10 mm. A su vez, las reestenosis difusas se han subdividido en *intra-stent*, cuando afectan sólo al interior del *stent* y en *intra-extrastent* cuando afectan también a la porción de arteria coronaria inmediatamente proximal o distal al *stent* (Amant C., y cols., 1997).

Existe otra clasificación menos empleada, en ella las reestenosis se subdividen en focales o difusas según el porcentaje de *stent* englobado por la lesión (Dauerman HL., y cols., 1998), así, las focales afectan a menos del 50% de la longitud del *stent* y las difusas afectan a un 50% o más de la longitud del *stent* (Kalon KL., y cols., 1998).

Se han detectado una serie de factores relacionados con la aparición de la reestenosis *intra-stent*, tanto clínicos, angiográficos, y de procedimiento (Tabla 4).

Factores clínicos:

El más consistente es la diabetes mellitus tipo 2 (Kasaoka S., y cols., 1998; Lee RC., y cols., 1993). Otros factores clínicos relacionados con el desarrollo de la reestenosis intra-stent es la edad avanzada o el antecedente de revascularización previa (tanto percutánea como quirúrgica) (Kasaoka S., y cols., 1998; Lee RC., y cols., 1993).

Factores angiográficos:

Son predictivos de reestenosis, los más frecuentemente identificados han sido la longitud de la lesión (Bauters C., y cols., 1998; Nofreiras E., y cols., 1998).

La implantación en vasos de pequeño calibre (Kasaoka S., y cols., 1998; Bauters C., y cols., 1998) y la localización de la lesión a tratar en la arteria descendente anterior (Lee RC., y cols., 1993; Nofreiras E., y cols., 1998). Otros factores menos comunes es la localización ostial de la lesión o la gravedad de la estenosis preprocedimiento (Wightman B., y cols., 1993).

Factores de procedimiento:

Han sido relacionados un menor diámetro luminal mínimo al finalizar el procedimiento (Kasaoka S., y cols., 1998; Wightman B., y cols., 1993) y la implantación de múltiples *stents* en una misma arteria (Bauters C. y cols., 1998).

Tabla 4: Factores predictivos de reestenosis angiográfica intra-stent documentados en diferentes estudios angiográficos:

Serie	Pacientes/Lesiones	Seguimiento angiográfico (%)	Eco i.c.	Factores predictivos	Análisis multivariado OR (IC del 95%)
Kasaoka ¹⁸	1.706/2.343	70	Sí	Edad	1,17 (1,03-1,33)
				Diabetes	1,20 (1,01-1,43)
				CC previa	1,33 (1,11-1,6)
				Longitud stent	1,26 (1,17-1,35)
				Diámetro referencia	0,47 (0,34-0,65)
				DLM post-stent	0,55 (0,41-0,75)
Bauters ¹¹	463/500	81	No	Múltiples stents	2,29 (1,37-3,82)
				Stent tipo Palmaz-Schatz	0,5 (0,31-0,83)
				Longitud estenosis	1,06 (1,01-1,10)
				Diámetro referencia del vaso	0,56 (0,34-0,93)
Kastrati ²²	1.349/1.753	80	No	Múltiples stents	1,81 (1,55-2,06)
				Diabetes	1,86 (1,56-2,16)
				DLM post-stent < 3 mm	1,81 (1,55-2,06)
				ACTP previa	-
				Oclusiones crónicas	-
				Implantación en DA	-
Hoffman ²¹	291/382	100	Sí	Localización ostial	4,01 (1,31-12,29)
				CSA pre-stent (Eco i.c.)	2,58 (1,06-6,28)
				DLM post-stent (Eco i.c.)	0,24 (0,08-0,74)
Kalon ²² (metaanálisis)	1.197/1.344	69	No	DLM post-stent	0,32 (-)
				Longitud lesión	1,03 (-)
Hospital de Bellvitge ¹⁴	311/340	73	No	Localización DA proximal	2,3 (1,46-3,73)
				Longitud lesión	1,14 (1,04-1,24)
				Indicación no electiva	1,8 (1,07-3,1)

DA: descendente anterior; Eco i.c.: ecografía intracoronaria; DLM: diámetro luminal mínimo; CSA: «cross-sectional area», área de sección intraluminal (ecografía intracoronaria); ACTP: angioplastia coronaria; CC: cirugía de revascularización coronaria; OR: odds ratio; IC: intervalo de confianza; -: datos no disponibles.

Tomada de Joan Antoni Gómez y cols., 1999

Un paciente no diabético, con un solo *stent* implantado y con un diámetro intraluminal post-implantación superior a 3 mm tiene una probabilidad del 16% de presentar reestenosis angiográfica durante el seguimiento. Por el contrario, la presencia de diabetes, implantación de múltiples *stents* y un diámetro intraluminal posprocedimiento inferior a 3 mm puede indicar una probabilidad de reestenosis angiográfica de hasta el 60% (Mehran R., y cols., 1997).

Tipos de tratamiento de la reestenosis intra-stent

La forma de tratamiento posiblemente más utilizada es la angioplastia convencional con balón, que actúa principalmente por compresión del tejido neointimal. Por otro lado, otra estrategia utilizada es la implantación de un *stent* adicional en el interior del *stent* inicial.

Cabe destacar que todos los estudios publicados son observacionales y si se han realizado comparaciones entre diferentes tipos de tratamientos (Eltchaninoff H., y cols., 1998).

Angioplastía simple con balón

El mecanismo por el que actúa el balón de angioplastia en esta situación se ha podido determinar mediante Eco i.c. documentándose que el incremento en el diámetro luminal se consigue por la extrusión del tejido neointimal a través de las celdas del *stent* y por una expansión adicional del *stent* ya implantado (Bauters C., y cols., 1998).

Los resultados iniciales de la aplicación de esta estrategia indican una alta tasa de éxito en el procedimiento (definido como éxito angiográfico en ausencia de complicaciones durante la hospitalización) situada entre un 98 y un 100% (Lee SG., y cols., 1998). Las series que engloban un mayor porcentaje de lesiones focales han detectado una baja tasa de necesidad de revascularización adicional a largo plazo del vaso tratado (entre el 11 y el 17%) (Reimbers B., y cols., 1997).

Cuando se analizan las series que presentan un porcentaje elevado de reestenosis difusas se observa que la tasa de necesidad de una nueva revascularización del vaso tratado se sitúa entre un 26 y un 43% (Eltchaninoff H., y cols., 1998; Mehran R., y cols., 1999).

Aterectomía

La mayoría de estudios publicados en relación con el tratamiento de la reestenosis intra-*stent* mediante aterectomía se refieren al uso de la aterectomía rotacional, mientras que hay poca información de la eficacia de la aterectomía direccional. Invariablemente, esta técnica se complementa con la realización de una dilatación con balón al finalizar el procedimiento. (Mehran R., y cols., 1999).

El beneficio obtenido se traduce en un incremento del área de sección de la luz del vaso, pero al igual que con la angioplastia con balón convencional, a un nivel inferior al obtenido inicialmente en el momento de la colocación del *stent* (Mintz GS., y cols., 1998).

A diferencia de la angioplastia con balón, el éxito del procedimiento es inferior (entre un 91 y un 98%). Cuando se analizan los resultados a largo plazo, la necesidad de una nueva revascularización del vaso tratado oscila entre un 23 y un 28% (Sharma SK., y cols., 1998).

Dauerman y cols, en un estudio no aleatorizado, ha documentado una tendencia no significativa a una menor necesidad de nuevas revascularizaciones durante el seguimiento en la aterectomía frente a los pacientes tratados con

angioplastia convencional (el 27 frente al 43%). De igual forma, Lee observó una menor tendencia a requerir un nuevo procedimiento de revascularización mediante la aterectomía rotacional frente a la angioplastia (el 25 frente al 47%), en presencia de reestenosis difusas. Cabe resaltar que a pesar de existir diferencias importantes en los porcentajes, no se alcanza significación estadística, probablemente por el número reducido de casos incluidos.

Láser intracoronario

Su finalidad es la máxima destrucción mediante ablación del tejido neointimal formado en el interior del *stent*, con la posterior dilatación utilizando angioplastia con balón. El resultado neto de este procedimiento es un incremento en el área de sección de la luz del vaso, pero también a un nivel inferior al conseguido inicialmente en la implantación del *stent* (Mintz GS., y cols., 1998). El láser en esta situación ha mostrado una tasa importante de complicaciones inmediatas, como es la aparición de hasta un 8,5% de IAM sin onda Q después del procedimiento. El láser intracoronario se asocia a una elevada incidencia de IAM sin onda Q, durante el procedimiento con una menor tendencia a necesitar nuevas revascularizaciones durante el seguimiento.

Stent intra-stent

Consiste en la colocación de un *stent* adicional en el interior del primer *stent* implantado. Estudios recientes mediante Eco i.c. han documentado que a los pocos minutos de realizar la ACTP se produce frecuentemente una reintrusión del tejido expulsado por el balón (Shiran A., y cols., 1998). La implantación de un *stent* adicional

intra-*stent* puede dificultar esta reintrusión de tejido, ayudando a mantener el beneficio obtenido inicialmente. Por otro lado, estudios con Eco i.c. han demostrado que ésta es la única estrategia que consigue aumentar la luz del vaso hasta un diámetro superior al obtenido con respecto a la implantación del *stent* original (Mintz GS., y cols., 1998).

La implantación de un *stent* intra-*stent* es un procedimiento seguro, con escasas complicaciones inmediatas. Éstas son similares a las que pueden aparecer tras la implantación de un *stent* de novo (afectación de ramas laterales a la lesión, disecciones fuera del *stent*, trombosis aguda o subaguda). La serie más amplia corresponde al grupo de Washington (Mehran R., y cols., 1999), incluyó 131 pacientes e identificó la necesidad de una nueva revascularización del 27% (Mehran R., y cols., 1999).

El estudio RIBS (Zueco J., y cols., 1998), que en la actualidad se está realizando en España y Portugal, incluyó 400 pacientes con reestenosis intra-*stent* y los asignó de forma aleatorizada a angioplastia convencional con balón o *stent* intra-*stent* para determinar la eficacia inicial y a largo plazo de estas dos formas de tratamiento en los pacientes con reestenosis intra-*stent*.

Radiación intracoronaria

Debido a que el mecanismo principal de la producción de la reestenosis intra-*stent* es la proliferación de tejido intimal, se ha sugerido que la radiación, al ser un potente agente antiproliferativo podría tener un importante papel en el tratamiento de la

reestenosis intra- *stent*. Esta terapia puede ser utilizada como complemento a la angioplastia con balón, a la aterectomía o a la colocación adicional de un *stent* (Mehran R., y cols., 1997).

En los resultados iniciales de la aplicación de la radiación intracoronaria parece observarse una ausencia de complicaciones inmediatas. Se utilizó la radiación con iridio 192 (Ir192) de forma aleatorizada al finalizar el procedimiento que requería la colocación de un *stent* si la lesión no tenía un *stent* previamente. Tras realizar un seguimiento angiográfico se detectó una menor reestenosis angiográfica en el grupo Ir192 en comparación con el grupo placebo (el 17 frente al 54%) con una tasa de nueva revascularización del 12% en el grupo Ir192 frente al 45% en el grupo placebo (Mehran R., y cols., 1997).

En el estudio WRIST no se detectaron complicaciones inmediatas y los resultados preliminares a los 6 meses indicaron una incidencia de reestenosis angiográfica del 19% en el grupo Ir192 frente al 58% en el grupo placebo, con una tasa de nueva revascularización del 15 y del 55%, respectivamente. Aún quedan, sin embargo, diferentes problemas técnicos no resueltos, ya que se ha demostrado que dosis pequeñas de radiación parecen favorecer la proliferación, mientras que dosis grandes pueden provocar aneurismas coronarios en las zonas adyacentes no cubiertas por el *stent*. La dosis exacta no se conoce con precisión e incluso existen dudas respecto al isótopo a emplear y a la mejor forma de radiación (Mehran R., y cols., 1997).

Factores predictivos de aparición de una segunda reestenosis intra-stent

Diferentes estudios han identificado una serie de factores predictores de la aparición de una nueva reestenosis intra-stent. La longitud de la reestenosis intra-stent se ha referido en varios estudios y parece ser uno de los principales determinantes. Así, se ha documentado que la presencia de una reestenosis del tipo difuso está claramente asociada con la necesidad de tener que realizar una nueva revascularización del vaso tratado (Bauters C., y cols., 1998, Sharma SK., y cols., 1998). Otro factor identificado ha sido la precocidad de aparición de la reestenosis intra-stent (Ambros V., y cols., 2003). Cuanto menor es el intervalo que transcurre en la aparición de la reestenosis, mayor es la posibilidad de requerir una nueva revascularización del vaso tratado durante el seguimiento.

Importancia de la genética en la reestenosis intra-stent

La reestenosis es una enfermedad compleja en la cual los mecanismos involucrados en su desarrollo no están definidos completamente. Susceptibilidad genética ha sido identificada como un factor de riesgo importante en su desarrollo (Jeffrey J., y cols., 2013).

Estudios recientes han detectado algunos genes relacionados con la aparición de la reestenosis intra-stent. Estos genes incluyen a reguladores de inflamación, relacionados con remodelamiento vascular, y proliferación. La genética de cada individuo constituye una de las causas que deben tenerse en cuenta e investigarse a fondo. Algunos estudios han identificado algunos genes involucrados

con esta patología. Algunas variantes genéticas tipo polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) localizados en el gen que codifica para la óxido nítrico sintasa endotelial ha sido asociada con reestenosis. En un estudio realizado entre casos y controles (41 pacientes con reestenosis y 51 sin reestenosis), y tomado en cuenta la edad, sexo y los factores de riesgo y empleando un 60% de SLD por grupo se identificó al alelo PIA2 asociado con reestenosis significativamente mayor que los no portadores (21.9% versus 1.9%, OR 14.1, IC 95%, $p=0.002$) (Diego D., y cols., 2009).

Es importante conocer la relación que existe entre diversos genes y la reestenosis intra-stent, ya que así podremos identificar el factor genético implicado en el desarrollo de la reestenosis en ciertos pacientes, antes de su colocación, y conocer así, su probable participación en el pronóstico (Kastrai A., y cols., 1999).

MicroRNAs; estructura y función

Recientemente, moléculas pequeñas de RNA no codificantes, específicamente los microRNAs (miRNAs) han tomado una gran relevancia como posibles biomarcadores de pronósticos en diversas enfermedades. Un miRNA es un ARN de cadena sencilla, de aproximadamente 18 a 22 nucleótidos de longitud, y que tiene la capacidad de regular la expresión de otros genes mediante diversos procesos (Pillai RS., y cols., 2005).

Los miRNAs fueron descritos inicialmente en 1993 por Lee y cols., en el laboratorio de Victor Ambros, (Eulalio A., y cols., 2007), pero el término "microARN" se definió hasta el 2001 en un conjunto de tres artículos publicados en Science el

26 octubre de 2001. (Glasser V, y cols., 2008). A principios de 2008, análisis computacionales realizados por IBM sugirieron la presencia de alrededor de 50.000 miRNA diferentes en el genoma humano, cada uno con alrededor de miles de RANm dianas potenciales (Head SJ, y cols., 2013).

Los miRNA son moléculas de ARN transcritas a partir de genes de ADN, pero no codifican proteínas. Se expresan en una amplia variedad de organismos, desde plantas hasta gusanos y humanos. Muchos miRNA están bien conservados entre especies, (Bauters C, y cols., 1998) y muchos componentes de la maquinaria de los miRNA se han encontrado incluso en Archaea y eubacterias, lo que revela que su origen es muy antiguo. Algunos estudios indican que en humanos hay cerca de 2000 genes de miRNAs, lo que implicaría que ellos podrían representar como mínimo el 3% de todos los genes humanos (Bentwich I, y cols., 2005).

La secuencia de ADN que codifica para un gen de miRNA tiene una longitud que supera al tamaño final del propio miRNA, estos miRNAs largos (de aproximadamente 2 kilobases) se definen como miRNAs primarios, posteriormente estos son procesados por la enzima Drosha, generando miRNAs precursores de aproximadamente 80 nucleótidos, finalmente, estos son enviados del núcleo de la célula al citoplasma mediante la exportina 5, y es en el citoplasma en donde la enzima Dicer genera finalmente los miRNAs maduros de aproximadamente 18-22 nucleótidos (Bauters C. y cols., 1998).

La función de los miRNA es regular la expresión génica de sus blancos a nivel post-transcripcional. De esta forma, un miRNA es complementario generalmente a

una secuencia localizada en la región 3'UTR (región no traducida) de uno o más ARN mensajeros (ARNm) diferentes. Los miRNA de animales suelen mostrar complementariedad imperfecta con la región 3' UTR, y generalmente inhiben la traducción del ARNm, mientras que los de plantas suelen mostrar complementariedad perfecta con regiones codificantes e inducen el corte y la posterior degradación del ARNm diana (como ocurre con los miRNAs en animales) (He L, y cols., 2005).

Antes de clasificarlos como parte de la ruta del RNAi, los miRNA fueron identificados inicialmente en gusanos, en los que regulan las fases del desarrollo,(Lee RC., y cols., 1993) pero en la actualidad se sabe que están implicados en una amplia variedad de procesos del desarrollo y podrían tener una función en el establecimiento de redes y en el ajuste fino de la expresión génica en la célula (Nofreiras E., y cols., 1998; Kalon KL., y cols., 1998). Dado que el número de dianas potenciales de los miRNA aumenta al número de miles (alrededor del 30% de los genes humanos), los miRNA podrían constituir otra capa del circuito regulatorio que existe en las células (Ruvkun G., y cols., 2001). Según esto, cualquier desregulación de los miRNA podría conllevar grandes problemas regulatorios en la célula, induciendo quizá fenotipos cancerosos. De hecho, se ha mostrado que los perfiles de expresión de los miRNA están sobre o sub expresados en un gran número de tipos de cáncer (Saumet A., y cols., 2006) y que la alteración en los niveles de expresión de los miRNA conduce al desarrollo de tumores (Samarjit Das., y cols., 2015).

A pesar del importante progreso realizado en la comprensión de la biogénesis y la función de los miRNA, los mecanismos utilizados por los miRNA para regular la expresión génica permanecen bajo un intenso debate (Stefanini GG,., y cols., 2013). En efecto, existen trabajos publicados que indican que los miRNA en células animales reprimen la expresión génica de cuatro formas diferentes:

- 1) Degradación de la proteína durante la traducción.
- 2) Inhibición de la elongación de la traducción.
- 3) Terminación prematura de la traducción (disgregación de los ribosomas).
- 4) Inhibición del inicio de la traducción.

Además, los miRNA en animales pueden inducir una degradación significativa de los ARNm diana (como los miRNA de plantas), a pesar del apareamiento imperfecto ARNm-miRNA. Sin embargo, el mecanismo de degradación suele ser diferente: los miRNA inducen la degradación de los ARNm diana mediante la eliminación de la caperuza (en el extremo 5') y de la cola de poliadeninas (poly-A, en el extremo 3') (Vasudevan S., y cols., 2007). Finalmente, los miRNAa silencian sus RNAm dianas secuestrándolos en *foci* (sitios) citoplásmicos discretos, los cuerpos de procesamiento de ARNm o *P bodies*, que carecen de maquinaria de traducción. Sin embargo, a pesar de las discrepancias existentes entre los diferentes mecanismos propuestos, los apoyos experimentales para cada mecanismo son variados, y son el objeto actual de intensos estudios. Se ha sugerido que las diferencias observadas se deben a deficiencias en los experimentos realizados, en algunos casos originadas por la utilización de modelos erróneos en los estudios de regulación de la traducción (Wightman B., y cols. 1993). Por último, en estudios

recientes se ha detectado que en determinadas condiciones, los miRNA pueden también activar la síntesis proteica (Zhao Y., y cols., 2005).

miRNAs en reestenosis

Se han identificado algunos miRNAs en los exosomas de pacientes con enfermedades del sistema cardiovascular. Existen estudios que describen la presencia de vesículas de miRNA y demuestran el papel del miRNA-126a, miRNA146a, miRNA-143 y otros miRNAs al ser transportados de las células endoteliales, células madre, fibroblastos y otras células, dentro de los miocitos, células endoteliales y células del músculo liso para activar cambios celulares y modular los fenotipos de las enfermedades (Zueco J., y cols., 1998).

Patrones de expresión alterados de miRNAs han sido identificados en modelos murinos o pacientes con reestenosis. Estudios de variantes genéticas tipo SNPs han sido muy poco estudiados en reestenosis intra-stent. De hecho, sólo un reporte del SNP rs2910164G/C del gen miR146a ha sido reportada con reestenosis intra-stent. Este estudio mostró asociación de este SNP con reestenosis intra-stent y no con aterosclerosis. No hay ningún otro estudio reportado en genes de miRNAs en reestenosis coronaria intra stent (Hamann L, y cols, 2014).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La reestenosis coronaria intra-stent es un problema importante y frecuente entre pacientes con enfermedad arterial coronaria (EAC) que requieren de la colocación de un stent como método de RM mediante ICP. Este problema se relaciona con varios factores, entre los que se encuentran factores clínicos como la diabetes mellitus, edad avanzada y el antecedente de RM previa, procedimiento quirúrgico o mediante ICP; factores angiográficos como la localización de la lesión, el calibre del o los vasos dañados, la longitud de la lesión; factores del procedimiento, mala evolución y factores genéticos, entre los que se encuentran genotipos relacionados con procesos inflamatorios que pueden dar lugar a la aterosclerosis en sí, pero que además pueden ser partícipes en el desarrollo de la reestenosis intra-stent.

Entre estos genes se encuentra el microRNA-146a, el evaluar la variante funcional (rs2910164G/C), nos proporcionará datos de su participación con esta patología en población mexicana.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿La variante genética (rs2910164G/C) del microRNA-146a confiere riesgo a desarrollar reestenosis intra-stent?

JUSTIFICACIÓN

La EAC es la enfermedad más prevalente en el mundo. Existen varios métodos de RM en pacientes con EAC, entre los que se encuentran la revascularización mediante cirugía y por ICP, la cual a su vez se puede llevar a cabo por varios métodos, entre ellos: angioplastia simple con balón, aterectomía, láser intracoronario, radiación intracoronaria y la más utilizada y que ha demostrado mejores resultados, el stent intra-stent.

Un gran porcentaje de los pacientes sometidos a revascularización mediante esta última técnica (stent intra-stent), invariablemente van a desarrollar reestenosis intra-stent, es decir, van a sufrir nuevamente estenosis del stent previamente colocado, como resultado de una serie de procesos inflamatorios que comienzan con la proliferación neointimal que se produce dentro del stent, procedente de las capas externas del vaso y como resultado de una respuesta inflamatoria constituido por diferentes tipos de células inflamatorias (linfocitos, polimorfonucleares y macrófagos), células musculares lisas, colágeno y proteínas, lo que sugiere que esta proliferación está mediada por mecanismos inflamatorios. Es ahí donde radicó la importancia de este estudio, ya que no todos los pacientes, a pesar de presentar las mismas características clínicas y angiográficas que pueden llevar a que este procedimiento inflamatorio provoque reestenosis del stent, la van a desarrollar; lo que nos lleva a pensar en que existe algún factor genético determinante.

Se sabe ampliamente la relación que tiene la expresión de diferentes miRNAs en procesos inflamatorios y neoplásicos. Recientemente, se ha documentado una asociación entre el SNP rs2910164G/C del miRNA 146a con reestenosis intra-stent

en pacientes caucásicos. Sin embargo, es importante evaluar esta misma variante en nuestra población para determinar la frecuencia de genotípica y alélica y su participación en esta patología.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar si el SNP rs2910164G/C del gen *microRNA-146a* está asociado con susceptibilidad a desarrollar reestenosis intra-stent en pacientes con EAC que tengan al menos un implante de stent previo en una muestra mexicana.

Objetivos específicos

- Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del gen *microRNA-146a* en nuestra población de estudio.
- Determinar si el SNP del gen antes mencionado, confieren riesgo de desarrollar reestenosis intra-stent.

HIPÓTESIS

La variante genética rs2910614G/C del gen *microRNA-146a* se encuentra en mayor frecuencia en pacientes con reestenosis intra-stent en comparación con los individuos que no presentan esta enfermedad en una muestra de pacientes mexicanos.

DISEÑO DEL ESTUDIO:

Estudio observacional, prospectivo, transversal, comparativo (casos-contróles) y abierto.

POBLACIÓN DE ESTUDIO

Este proyecto incluyó pacientes con EAC del Instituto Nacional de Cardiología implantados con al menos un stent.

Criterios de inclusión de los casos:

- 1) Pacientes que acudieron al Hospital Juárez con alguno de los siguientes diagnósticos:
 - a) Síndrome isquémico coronario agudo tipo infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST (SICA-IAMCESST).
 - b) Síndrome isquémico coronario agudo tipo infarto agudo de miocardio sin elevación del segmento ST (SICA-IAMSESST).
 - c) Síndrome isquémico coronario agudo tipo angina inestable (SICA- AI).
En periodo de ventana (12 horas desde el inicio de los síntomas) para realizar angioplastía coronaria transluminal percutánea (ACTP) nacidos en México.

- 2) Se realizaron las angioplastías coronarias transluminales percutáneas en el Hospital Juárez de México y se colocó al menos un stent (medicado o no) al menos en una arteria coronaria.

- 3) Con al menos 3 de los siguientes factores de riesgo cardiovascular: hipertensión arterial sistémica (HAS), diabetes mellitus (DM), dislipidemia, tabaquismo, obesidad, sedentarismo.
- 4) Con una edad entre 35 y 75 años de edad.
- 5) Que se les pudiera realizar coronariografía de control 6 meses después de la intervención.
- 6) Que hayan aceptado participar en el proyecto y firmaron la carta de consentimiento informado.

Criterios de exclusión de los casos:

- 1) Pacientes que no cumplieron con los criterios de inclusión.
- 2) Pacientes que tenían algún tipo de infección viral (hepatitis B, hepatitis C, VIH).
- 3) Que decidieron retirarse del estudio.

Criterios de eliminación de los casos:

- 1) Pacientes transfundidos en los últimos 3 meses.
- 2) Muestras de pacientes que no fueron aptas para su estudio (coaguladas)

Criterios de inclusión de controles:

- 1) Individuos con enfermedad arterial coronaria, pero que no hubieran presentado reestenosis intra-stent previamente.
- 2) Con una edad entre 35 y 75 años de edad.

- 3) Individuos sanos que aceptaron participar en el proyecto y que firmaron la carta de consentimiento informado.

Criterios de exclusión de los controles:

- 1) Individuos sanos que tuvieron algún tipo de infección viral (hepatitis B, hepatitis C, VIH).
- 2) Que decidieron retirarse del estudio.

Criterios de eliminación de controles:

- 1) Controles transfundidos en los últimos 3 meses.
- 2) Muestras de controles que no hayan sido aptas para su estudio (coaguladas).

METODOLOGÍA

Toma de muestras

Antes de la toma de muestra de cada paciente (casos; individuos implantados con stent que desarrollaron reestenosis intra-stent, y controles; pacientes que no desarrollaron reestenosis intra-stent), se les explicó el proyecto, así como sus objetivos, inmediatamente a esto y si decidieron las pacientes participar en este estudio, se procedió a firmar el consentimiento informado y posteriormente, a la toma de 5 ml de sangre periférica, en tubos vacutainer que contenían EDTA como anticoagulante.

Extracción de ADN

1. Las muestras de sangre periférica de los pacientes contenidas en los tubos con EDTA fueron centrifugadas a 3000 r.p.m., durante 10 minutos.
2. Se tomó la capa de leucocitos y se colocó en un tubo limpio de 15 ml para iniciar el procedimiento de extracción del DNA.
3. Se le agregó a cada tubo de 15 ml, 6 ml de buffer de lavado.
4. Se volvió a centrifugar la muestra durante 5 minutos a 3500 r.p.m.
5. Se decantó el sobrenadante.
6. Se agregó 6 ml de buffer de lisis de células.
7. Se decantó el sobrenadante y se colocó buffer y proteinasa K (30 microlitros) a la muestra, posteriormente, se incubó la muestra con la mezcla de reactivos durante 10 minutos a temperatura ambiente.
8. Se agregó isopropanol (3 ml) a la mezcla de reacción, posteriormente se centrifugó la muestra a 3500 r.p.m. durante 5 minutos.
9. Posteriormente se decantó el sobrenadante y se agregaron 3 ml de alcohol etílico al 70%, posteriormente se volvió a centrifugar a 3500 r.p.m. durante 5 minutos.
10. Se volvió a decantar el sobrenadante y se dejó secar el DNA a temperatura ambiente por 5 minutos.
11. Finalmente se agregó buffer de elusión de DNA (600 microlitros), se cuantificó el DNA y se hicieron diluciones a 5 ng/microlitro.

Genotipificación del SNP rs2910164G/C del miRNA-146a

Los genotipos del SNP rs2910164 del miRNA 146a fueron evaluados mediante la técnica de 5' exonucleasa "TaqMan". El vial contiene un par de sondas para identificar cada uno de los alelos (G o C). Cada sonda en su extremo 5' contiene un fluoróforo, en una de ellas tiene a VIC o FAM, que se excitan y emiten fluorescencia a diferente longitud de onda, la cual es detectada por un software y traducida en colores en un plot de discriminación alélica.

1. De cada paciente se emplearon 2 microlitros de reacción (cada microlitro contuvo 5 ng).
2. Los 2 microlitros se colocaron en lugares específicos de una placa de 96 pozos.
3. Posteriormente a esto se le agregaron 5 microlitros de reacción (cada 5 microlitros contuvo lo siguiente; 2.5 microlitros de master mix 2X, 2.465 de agua y 0.035 microlitros de sonda).
4. Las placas fueron colocadas posteriormente en un equipo de PCR en tiempo real de BioRad durante 35 ciclos, cada ciclo de PCR consistió en 15 segundos a 95°C y 1 minuto a 60°C.
5. Después de 2 horas, los resultados fueron visualizados en la pantalla del equipo.
6. Finalmente, se hizo la discriminación alélica por el SNP rs2910164 del miRNA 146a.

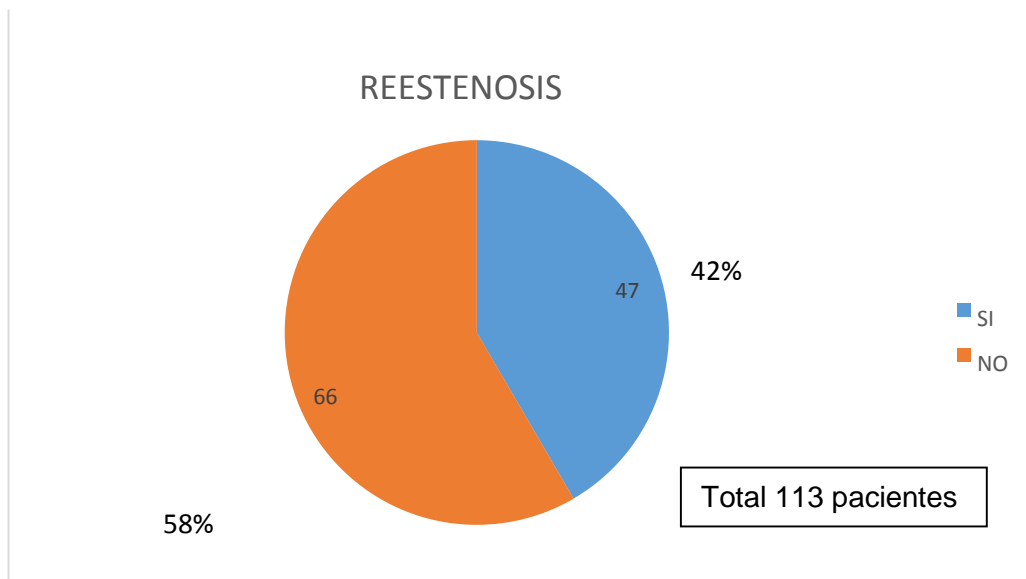
Análisis estadístico

Los genotipos se cuantificaron por conteo directo. La prueba estadística empleada en este estudio fue la X^2 . El valor de OR, IC 95% y el valor de p se obtuvo con el programa FINETTI, el cual además evalúa el equilibrio de Hardy-Weinberg entre genotipos del SNP rs2910614G/C del miRNA-146a.

RESULTADOS

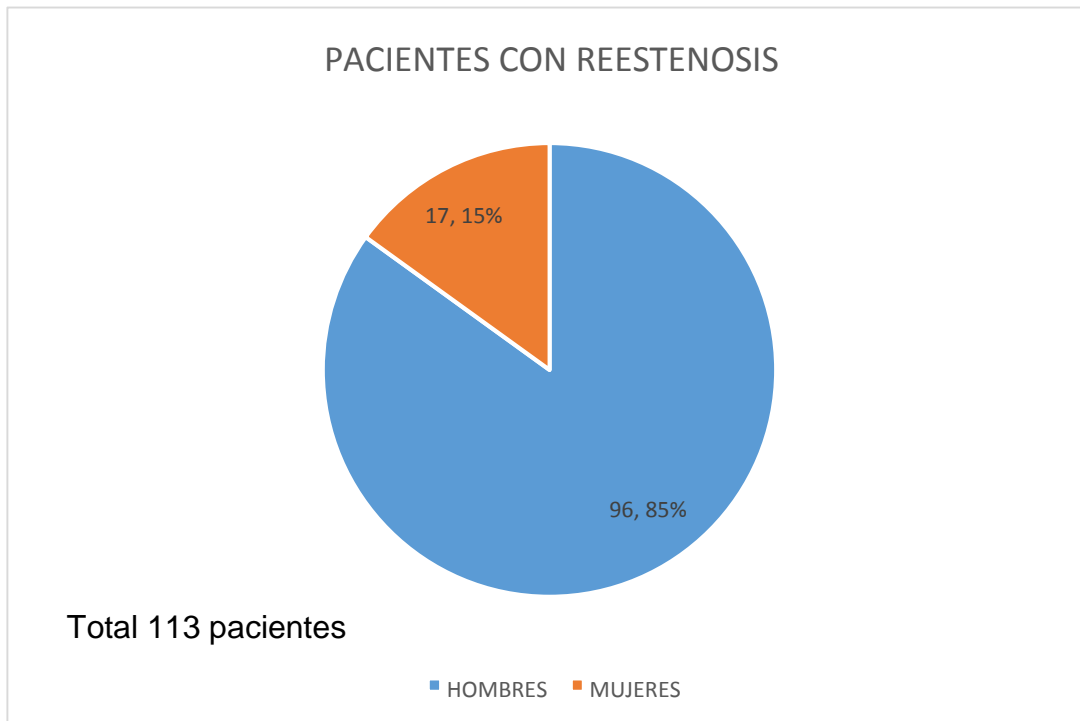
El número de pacientes con EAC implantados con stent coronarios obtenidos de los servicios de Hemodinamia del Instituto Nacional de Cardiología y del Hospital Juárez de México fue de 113 (Gráfica 1). Del número total de pacientes incluidos en este estudio, 47 desarrollaron reestenosis (42%), mientras 66 (58%) no desarrollaron reestenosis intra-stent (Gráfica 1).

Gráfica 1: Total de pacientes estudiados divididos en aquellos que presentaron reestenosis intra-stent y aquellos que no la presentaron



En la gráfica 2 se muestra la proporción de varones-mujeres incluidos en este estudio.

Gráfica 2: Total de pacientes que presentaron reestenosis, divididos por género:



Los datos de genotipificación indicaron que el SNP rs2910164G/C del *miRNA146a* está en equilibrio de Hardy-Weinberg (Información no mostrada). La frecuencia del SNP, tanto de genotipos como de alelos es mostrada en la tabla 5. Los datos indicaron que este SNP no está asociado con reestenosis coronaria intrastent en nuestra población de estudio.

Tabla 5 : Distribución de los genotipos y alelos de los polimorfismos del gen *miRNA-146a* en pacientes con reestenosis intra-stent y controles:

	Reestenosis n=47(n(%))	Controles n=66(n(%))	OR	IC 95%	p
<i>miRNA-146a(rs2910164)</i>					
Genotipo GG	24(51)	39(59)	—		
GC	19(40)	21(32)	—		
CC	4 (9)	6 (9)	1.08	0.27-4.24	0.91
Alelo G	67(71)	99(75)			
C	27(29)	33(25)	1.21	0.67-2.20	0.53

DISCUSIÓN

Se realizó un estudio observacional, transversal, comparativo (casoscontroles) y abierto, en el cual se buscó establecer la relación entre la variante genética rs2910164G/C del gen *microRNA-146a* y reestenosis coronaria intra-stent en Mexicanos. Se obtuvo un total de 113 muestras de pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión anteriormente mencionados, de los cuales, 47 presentaron reestenosis y 66 no la presentaron. En cuanto a los genotipos, se observó que el genotipo GG fue el más común, tanto en el grupo de los casos como en el de los controles, seguido del genotipo GC y al final el CC.

De acuerdo a los resultados obtenidos en nuestro estudio, en cuanto a la relación entre la variante genética rs2910614G/C del gen *miRNA-146a* y la reestenosis intra-stent, se mostró que este SNP no confiere susceptibilidad a desarrollar dicha patología en población Mexicana. Sin embargo, es necesario continuar el estudio, debido a que el tamaño de muestra evaluado en este estudio es muy bajo y no alcanza el poder estadístico mínimo requerido para tener un dato confiable.

Existe un solo estudio reportado en la literatura mundial que habla acerca de la relación de este mismo gen (*microRNA-146a*) con la reestenosis intra-stent, en la cual sí encontraron asociación con esta patología, sin embargo, ese estudio se llevó a cabo en pacientes caucásicos y ahí podría radicar la diferencia con nuestro estudio, ya que es posible que en la población mexicana, la existencia de esta variante en el gen estudiado, no represente relación con susceptibilidad a desarrollar reestenosis intra-stent. Aunque el SNP rs2910614G/C del *miRNA-146a* tiene un efecto funcional en el pre-miRNA 146a y afecta su procesamiento, en este estudio este gen no mostró asociación con reestenosis intra-stent. Desafortunadamente, el número de muestras obtenidas del servicio de hemodinamia del Hospital Juárez de México fue de aproximadamente 35 implantados con stent, sin embargo, de ellos sólo 10 desarrollaron reestenosis intra-stent, y debido a que se descompuso el equipo que evalúa el grado de reestenosis no se pudo determinar si los 25 pacientes con EAC implantados con stent no desarrollaron reestenosis intra-stent. Por otro lado, debido a que el tamaño de muestra fue bajo, se procedió a obtener muestras del Instituto Nacional de Cardiología, sin embargo, no pudimos obtener los datos

clínicos de los pacientes, por lo cual no se pudo evaluar los rasgos clínicos de los pacientes y su relación con los genotipos del SNP rs2910164G/C del *miRNA-146a*.

CONCLUSIÓN

De este estudio podemos concluir varias cosas. En primer lugar, es más frecuente la EAC y la reestenosis intra-stent en el sexo masculino que en el femenino. Conocimos la frecuencia de los genotipos y alelos en casos y controles. Por otro lado, este estudio no mostró asociación genética entre el polimorfismo rs2910614G/C y reestenosis coronaria intra-stent. Sin embargo, es necesario ampliar el número de muestra para obtener resultados más fidedignos y poder establecer si realmente en la población mexicana no existe asociación entre la variante genética del gen *microRNA-146a* y reestenosis intra-stent, lo que hablaría de una diferencia en relación a lo reportado en la población caucásica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Amant C, Bauters C, Bodart JC, Lablanche JM, Grollier G, Danchin N et al. D Allele of the angiotensin I-converting enzyme is a major risk factor for reestenosis after coronary stenting. *Circulation* 1997; 96: 56-60.
2. Ambros V. MicroRNA pathways in flies and worms: growth, death, fat, stress, and timing. *Cell* 2003 Jun 13;113(6):673-6.
3. Bartel DP, Chen CZ. Micromanagers of gene expression: the potentially widespread influence of metazoan microRNA. *Nat Rev Genet.* 2004 May;5(5):396-400.
4. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004 Jan 23;116(2):281-97.
5. Bauters C, Banos JL, Van Belle E, Mc Fadden EP, Lablanche JM, Bertrand ME. Six-month angiographic outcome after successful repeat percutaneous intervention for in-stent reestenosis. *Circulation* 1998; 97: 318-321.
6. Bauters C, Hubert E, Prat A, Bougrimi K, Van Belle E, Bertrand M et al. Predictors of reestenosis after coronary stent implantation. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31:

1.291-1.298.

7. Bentwich I, Avniel A, Karov Y, Aharonov R, Gilad S, Barad O, Barzilai A, Einat P, Einav U, Meiri E, Sharon E, Spector Y, Bentwich Z. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs. *Nat Genet.* 2005 Jul;37(7):766-70.
8. Cequier A, Mauri J, Gómez-Hospital JA, Sabaté M, Jara F, Esplugas E. Stent intracoronario en el tratamiento de las complicaciones de la angioplastia. *Rev Esp Cardiol* 1997; 50 (Supl 2): 21- 30.
9. Colombo A, Hall P, Nakamura S, Almagor Y, Maiello L, Tobis JM et al. Intracoronary stenting without anticoagulation accomplished with intravascular guidance. *Circulation* 1995; 91: 1.676- 1.688.
10. Dauerman HL, Baim DS, Cutlip DE, Sparano AM, Gibson CM, Cohen DJ et al. Mechanical debulking versus balloon angioplasty for the treatment of diffuse intra-stent reestenosis. *Am J Cardiol* 1998; 82: 277-284.
11. Eltchaninoff H, Koning R, Tron C, Gupta V, Cribier A. Balloon angioplasty for the treatment of coronary in-stent reestenosis: immediate results and 6-month angiographic recurrent reestenosis rate. *J Am Coll* 1998; 32: 980-984.

12. Eulalio A, Rehwinkel J, Stricker M, Huntzinger E, Yang SF, Doerks T, Dorner S, Bork P, Boutros M, Izaurralde E. Target-specific requirements for enhancers of decapping in miRNA-mediated gene silencing. *Genes Dev.* 2007 Oct 15;21(20):2558-70.
13. Glasser V. Tapping miRNA-Regulated Pathways. *Genetic Eng Biotech News* Mar 1 2008 (Vol. 28, No. 5).
14. Hamann L, Glaeser C, Schulz S, Gross M, Franke A, Nöthlings U et al. A micro146a polymorphism is associated with coronary restenosis. *Int J Immunogenet* 2014; 41: 393-6.
15. Head SJ, Holmes DR Jr., Mack MJ, Serruys PW, Mohr FW, Morice MC, Colombo A, Kappetein AP, Investigators S. Risk profile and 3-year outcomes from the SYNTAX percutaneous coronary intervention and coronary artery bypass grafting nested registries. *JACC Cardiovasc Interv* 2012; 5: 618–25.
16. Head SJ, Kieser TM, Falk V, Huysmans HA, Kappetein AP. Coronary artery bypass grafting: Part 1:the evolution over the first 50 years. *Eur Heart J* 2013; 34: 2862– 72.
17. He L, Thomson JM, Hemann MT, Hernando-Monge E, Mu D, Goodson S, Powers S, Cordon-Cardo C, Lowe SW, Hannon GJ, Hammond SM. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature* 2005 Jun 9;435(7043):828-33.

18. Kalon KL, Senerchia C, Rodriguez O, Chauhan MS, Kuntz R. Predictors of angiographic reestenosis after stenting: pooled analysis of 1197 patients with protocol-mandated angiographic followup from 5 randomized stent trials [resumen]. *Circulation* 1998; 98 (Supl 1): 234.
19. Kasaoka S, Tobis JM, Mauri J, Akiyama T, Reimers B, Di Mario C, Colombo A et al. Angiographic and intravascular ultrasound predictors of in-stent reestenosis. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 1.630-1.635.
20. Kastrati A, Schöming A, Seyfarth M, Koch W, Elezi S, Böttiger C et al. PIA Polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risk of reestenosis after coronary stent placement. *Circulation* 1999; 99: 1.005-1.010.
21. Kozak M. (2008). «Faulty old ideas about translational regulation paved the way for current confusion about how microRNAs function.». *Gene*. Jul 22 (Epub ahead of print).
22. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V (1993). «The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*.». *Cell* 75: 843–854.

23. Lee SG, Lee CW, Cheong SS, Hong MK, Kim JJ, Park SJ et al. Immediate and long-term outcomes of rotational atherectomy versus balloon angioplasty alone for treatment of diffuse in-stent reestenosis. *Am J Cardiol* 1998; 82: 140-143.
24. Lu C, Tej SS, Luo S, Haudenschild CD, Meyers BC, Green PJ. Elucidation of the small RNA component of the transcriptome. *Science* 2005 Sep 2;309(5740):1567-9.
25. Mehran R, Dangas G, Minz G, Waksman R, Hong M, Leon M et al. In-stent reestenosis: «The great equalizer» Disappointing clinical outcomes with all interventional strategies [resumen]. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33 (Supl A): 63A.
26. Mehran R, Mintz GS, Satler LF, Pichard AD, Kent KM, Leon MB et al. Treatment of in-stent reestenosis with excimer laser coronary angioplasty: mechanisms and results compared with PTCA alone. *Circulation* 1997; 96: 2.183-2.189.
27. Leon MB, Baim DS, Popma JJ, Gordon PC, Cutlip DE, Kunz M et al. A clinical trial comparing three antithrombotic-drug regimens after coronary-artery stenting. *N Engl J Med* 1998; 339: 1.665-1.671.
28. Mintz GS, Hoffmann R, Mehran R, Pichard AD, Kent KM, Leon MB et al. Instent reestenosis: the Washington Hospital Center experience. *Am J Cardiol* 1998; 81: 7E-13E.
29. Nofrerias E, Gómez-Hospital JA, Cequier A, Iràculis E, García del Blanco B,

- García Fortea C et al. Factors predictius de l'aparició de reestenosi postimplantació d'stents intracoronaris. Rev Soc Cat Cardiol 1998; 3: 13.
30. O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, Dang CV, Mendell JT. c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. Nature 2005 Jun 9;435(7043):839-43.
31. Pillai RS. MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA? RNA 2005 Dec;11(12):1753-6.
32. Reimbers B, Moussa I, Akiyama T, Tucci G, Di Mario C, Colombo A et al. Longterm clinical follow-up after successful repeat percutaneous intervention for stent reestenosis. J Am Coll Cardiol 1997; 30: 186-192.
33. Ribichini F, Steffenino G, Dellavalle A, Mantullo G, Colajanni E, Camilla T et al. Plasma activity and insertion/deletion polymorphism of angiotensin I-converting enzyme: a major risk factor and a marker of risk for coronary stent reestenosis. Circulation 1998; 97: 147-154.
34. Ruvkun, G. (Oct 26 de 2001). «Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world.». Science 294 (5543): 797–9.
35. Saumet A, Lecellier CH (2006). «Anti-viral RNA silencing: do we look like plants?». Retrovirology 3 (3): 3.

36. Samarjit Das, Marc K. Halushka. Extracellular vesicle micro RNA transfer in cardiovascular disease, *Cardiovascular Pathology* 24 (2015) 199-206.
37. Sharma SK, Duvvuri S, Dangas G, Kini A, Vidhun R, Venu K, Marmur JD et al. Rotational atherectomy for in-stent reestenosis: acute and long-term results of the first 100 cases. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 1.358-1.365.
38. Shiran A, Mintz GS, Waksman R, Mehran R, Abizaid A, Leon MB et al. Early lumen loss after treatment of in-stent reestenosis: an intravascular ultrasound study. *Circulation* 1998; 98: 200-203.
39. Sigwart U, Puel J, Mirkovitch V, Joffre F, Kappenberger L. Intravascular stents to prevent occlusion and reestenosis after transluminal angioplasty. *N Engl J Med* 1987; 316: 701-6.
40. Stefanini GG, Holmes DR Jr. Drug-eluting coronary-artery stents. *N Engl J Med* 2013; 368: 254–65.
41. Vasudevan S, Tong Y, Steitz JA. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science* 2007 Dec 21;318(5858):1931-4.
42. Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell* 1993

Dec 3;75(5):855-62.

43. Zhao Y, Samal E, Srivastava D. Serum response factor regulates a musclespecific microRNA that targets Hand2 during cardiogenesis. *Nature* 2005 Jul 14;436(7048):214-20.
44. Zueco J, Bethencourt A, Pasalodos J, Cequier A, Gómez-Recio M, Augé JM, Mauri J et al. Implantación electiva de stent versus angioplastia con balón en el tratamiento de la reestenosis intra-stent. Diseño y datos preliminares de un estudio multicéntrico y randomizado (RIBS). *Rev Esp Cardiol* 1998; 51 (Supl 5): 16.
45. Jeffrey J.W. Verschuren, Stella Trompet, M. Lourdes Sampietro, Bastiaan T. Heijmans, Werner Koch, Adnan Kastrali, Jeanine J. Houwing-Duistermaat, P. Eline Slagboom, Paul H. A. Quax, J. Wouter Jukema; Pathway analysis using genome wide association study data for coronary reestenosis, *PLoS ONE* 8(8):e70676.
46. Li-Jing Chen, She Hong Lim, Yi-Ting Yeh, Sheng-Chien Lieh, Jeng-Jiann Chiu; Roles of microRNAs in atherosclerosis and reestenosis, *Journal of Biomedical Science* 2012, 19:79.

