



Universidad Nacional Autónoma de México.

División de Estudios de Posgrado.

Facultad de Medicina.

Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez.

"Estudio de los polimorfismos genéticos del trans-activador del complejo mayor de histocompatibilidad clase II(TACMHC2) asociados al desarrollo de reestenosis intrastent."

Tesis de Posgrado para Obtener el Título de Especialista en Cardiología.

Presenta.

Dr. Omar Gómez Monterrosas

Director de Enseñanza

Dr. José Fernando Guadalajara Boo.

Asesores.

Dr. Marco Antonio Martínez Ríos

Dr. Gilberto Vargas Alarcón

Dra. Hilda Elosia Delgadillo Rodríguez

Dr. José Manuel Frago

México Distrito Federal, julio 2010.



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.

Índice.

	Páginas
Introducción	3
Marco Teórico	4
Justificación	9
Pregunta de Investigación	9
Hipótesis	9
Objetivos	10
Material y Métodos	10
Análisis estadístico	13
Resultados	13
Discusión	21
Conclusiones	22
Bibliografía	23

ESTUDIO DE LOS POLIMORFISMOS GENETICOS DEL TRANS-ACTIVADOR DEL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD CLASE II (TACMHC2) ASOCIADOS AL DESARROLLO DE RE-ESTENOSIS INTRASTENT.

Introducción

Desde el siglo XX la enfermedad aterosclerosa cardiovascular (EAC) se ha considerado como la mayor causa de morbilidad y mortalidad en el mundo, según datos estadísticos de la Organización Mundial de la Salud y de la Secretaría de Salud de la República Mexicana ^(1,2). En los Estados Unidos causa 1 de cada 3 muertes en los 13 millones de estadounidenses que padecen EAC ⁽³⁾.

Anteriormente se pensaba que éste padecimiento era debido a un proceso relacionado con el envejecimiento de las arterias por lo que era privativo de los individuos de edad avanzada. Actualmente se sabe que desde etapas tempranas de la vida es posible encontrar, depósitos de lípidos en el interior de las arterias, caracterizados como “estrías grasas” y como precursores del proceso ateroscleroso.^(4,5). En espectro de manifestaciones clínicas de la EAC como son la angina estable y los síndromes coronarios agudos, la angioplastia coronaria transluminal percutánea con balón (ACTP), realizada por primera vez en 1977 por Andreas Gruentzing revolucionó su tratamiento ^(1,6). Desde entonces la cardiología intervencionista ha sido testigo de los avances técnicos para eliminar algunas de las limitaciones de la angioplastia con Balón ^(5,6). Durante los años noventa las estrategias para el tratamiento de esta enfermedad se enfocaban básicamente en la cirugía de revascularización coronaria y el intervencionismo coronario percutáneo (ICP). A finales de de esta década surgen como tratamiento los stent intracoronarios, que vinieron a revolucionar los métodos convencionales convirtiéndose en la mejor herramienta para el tratamiento de este padecimiento ⁽¹⁾.

Los stents intracoronarios reducen la tasa de reestenosis clínica y angiográfica, así como el infarto al miocardio periprocedimiento comparado con la angiografía coronaria transluminal percutánea únicamente. Como resultado los stents han sido ampliamente utilizados, sin embargo una de las complicaciones que se ha estudiado ampliamente en los últimos años es la reestenosis intrastent (REIS), la cual se presenta en el 30% al 60% de los pacientes en los primeros seis meses posterior a la ICP⁽⁷⁻⁸⁾. Se define como reestenosis el estrechamiento del vaso mayor al 50% de diámetro luminal obtenido con el ICP⁽⁸⁾. El mecanismo de reestenosis está relacionado a la respuesta arterial ante el daño que comprende el retroceso elástico vascular, proliferación de la neoíntima y remodelación negativa^(6,10,11). Existen factores específicos como la respuesta inflamatoria

local posterior a ICP, en el cual están involucradas varios compuestos como factores de adhesión e interleucinas, que se han relacionado en estudios genéticos a la expresión de diversos polimorfismos⁽¹²⁾.

Marco Teórico.

La EAC se caracteriza por una interrupción del flujo arterial coronario, generalmente relacionada con fenómenos trombóticos agudos asociados con lesiones coronarias por placas de aterosclerosis. De acuerdo al tiempo de duración de la obstrucción trombótica y a la pérdida de irrigación miocárdica se desencadenará una serie de alteraciones, inicialmente a nivel de los miocitos, y promoverán un franco deterioro con desastrosas consecuencias a nivel de la anatomía regional y parietal cardiaca con desarreglos hemodinámicos e interacciones compensadoras a nivel neurohormonal^(5,13).

Aunque ya han transcurrido más de 30 años desde que se propusiera por primera vez el concepto de implantación de un *stent*⁽¹⁴⁾, continua siendo objeto de estudio la respuesta vascular al intervencionismo y sus complicaciones como la REIS.

Existen dos estudios publicados en 1994, STRESS y Benestentm los cuales evaluaron la primera generación de stents Palmaz-Schatz^(8,15).

La tasa de reestenosis angiográfica a los seis meses después de la colocación exitosa de los mismos fue significativamente menor que ACTP únicamente (32 vs 42 % y 22 vs 32 % respectivamente). Sin embargo el tipo de lesiones que fueron estudiadas fueron focales, estenosis simples en vasos de más de 3 mm, como se observó posteriormente existen mayores tasas de reestenosis en otros tipos de lesiones como en vasos de mayor diámetro o pequeños vasos, o con la colocación de stents en lesiones múltiples. Un análisis subsecuente de 6186 pacientes de seis ensayos clínicos evaluaron la segunda generación de stents. La frecuencia de la reestenosis clínica fue establecida como la lesión blanco o el vaso blanco revascularizado mas allá de los 30 días, muerte, infarto del miocardio en el territorio del vaso blanco⁽¹⁶⁾. Este estudio incluyó la postdilatación a alta presión, la terapia antiplaquetaria con aspirina y por cuatro semanas ticlopidina. Se llevó a cabo la revascularización de la lesión blanco en el 12 % y la revascularización del vaso blanco en el 14%; estos valores fueron superiores en más de dos tercios de los primeros a los 6 meses (6,9 y 8 %), demostrando un mayor retraso en la presentación.

La reestenosis angiográfica no fue equivalente a la clínica. La reestenosis clínicamente relevante se presenta en solo la mitad de los pacientes con reestenosis angiográfica

(definida como más del 50% del diámetro del stent), esto es porque la mayoría de las reestenosis angiográficas de entre el 50 y 70%, es improbable causen síntomas.

La incidencia de revascularización de la lesión blanco fue mucho más alta con más del 70% de diámetro de estenosis (73 vs 26% para menos del 60 % de diámetro de estenosis). Los predictores para estenosis clínica y angiográfica fueron los mismos, diámetro luminal menor postratamiento, largo del stent y diabetes mellitus.

Clínicamente la reestenosis significativa con los stents de segunda generación es un evento relativamente temprano, que a menudo se vuelve evidente en los 6 a 12 meses después del procedimiento⁽¹⁷⁾. Lo más común es que la isquemia recurrente después de un año se deba a la progresión de la enfermedad en algún otro territorio en lugar de la reestenosis. La magnitud de esta diferencia fue ilustrada en una revisión de 1228 pacientes que fueron seguidos durante 5 años⁽¹⁸⁾. Después de un año el riesgo relativo fue de 1.7% para eventos de lesiones blanco comparado con el 6,3% para eventos de otras lesiones.

Diversos estudios han demostrado que los stents liberadores de sirulimus y el paclitaxel reducen significativamente la incidencia de reestenosis intrastent y la tasa de revascularización de lesión blanco en un 75%. Un metanálisis del 2006 incluyó 19 estudios con 7060 pacientes comparando stents liberadores de fármaco y stents metálicos siendo los tres más grandes los de SIRIUS, TAXUS IV, and TAXUS V⁽¹⁹⁾. Se observó que no hubo diferencia en todas las causas de mortalidad (odds ratio [OR] 1.02, 95% CI 0.64-1.64). Se documentó una reducción significativa de la reestenosis angiográfica (10.5 % vs 31.7 %, odds ratio 0.25, 95% IC 0.22-0.29). Una reducción significativa en la revascularización de la lesión blanco (6.2% vs 16.6%, OR 0.36, 95% IC 0.31-0.41) y una reducción significativa en los eventos cardíacos mayores (10.1% vs 19.9%), la cual es enteramente debida a la reducción en la revascularización de la lesión blanco. Por lo anterior en la mayoría de los hospitales, los stents liberadores de fármaco han sido utilizados en lugar de stents metálicos

La reestenosis se produce por la reducción en el diámetro luminal posterior a la implantación del stent, como resultado del daño arterial con la subsecuente proliferación de la íntima. Generalmente la proliferación de la íntima se distribuye uniformemente a lo largo del stent⁽²⁰⁻²²⁾, pero también puede ser relativamente focal. Ésta proliferación se presenta asociada a la acumulación de macrófagos y neovascularización extensa, sugiriendo su participación en la organización del trombo mural⁽²³⁾. Sin embargo continúa habiendo controversia sobre si se produce o no un remodelado alrededor del *stent* tras la

implantación de stent metálico no recubierto (SMNR). En tres estudios retrospectivos, con un total de 121 pacientes⁽²⁴⁻²⁶⁾, diversos grupos independientes señalaron que no se producía un remodelado. En cambio, otros tres grupos (Tanabe et al⁽²⁷⁾, Hoffmann et al⁽²⁸⁾ y Nakamura et al⁽²⁹⁾) describieron la presencia de este tipo de remodelado. Incluso en estos 3 estudios existen discrepancias respecto a si hay relación entre el remodelado alrededor del *stent* y la proliferación neointimal intrastent. En un análisis de 152 pacientes tratados con SMNR, Tanabe et al llegaron a la conclusión de que se produce un remodelado alrededor del *stent* sin que haya una correlación significativa con la neointima en su interior⁽²⁷⁾. En cambio, Nakamura et al describieron una correlación inversa⁽²⁹⁾, mientras que Hoffmann et al observaron una correlación directa⁽²⁸⁾.

Consistente con esta hipótesis son los hallazgos patológicos en 55 stents en 35 arterias coronarias de pacientes fallecidos, a quienes se les había realizado cirugía de revascularización cardiaca o que se les había transplantado; el tiempo medio después de la implantación del stent fue de 39 días⁽³⁰⁾. Se documentaron las siguientes anomalías

- Fibrina, plaquetas y neutrófilos, indicando la formación de trombo e inflamación aguda han sido demostrados en el soporte de la estructura metálica del stent evaluados a los ≤ 11 días después de la colocación. La inflamación fue más pronunciada en el soporte de aquellos que fueron embebidos en un núcleo de lípidos y en aquellos que estaban en contacto con la capa media dañada.
- Los stents evaluados posteriormente mostraron crecimiento de la neointima, la cual se incrementaba tanto como el radio del stent en referencia al incremento del lumen. El incremento de la neointima fue mayor para el soporte de stent asociado con el daño de la media que por aquellos en contacto con la placa. Con el tiempo la acumulación extracelular puede jugar un gran papel más que la proliferación celular en el engrosamiento de la neointima⁽³¹⁾.

Aunque hay un incremento de la neointima con la subsecuente reducción en el diámetro luminal mínimo durante los primeros seis meses después de la colocación de un stent, puede no haber mayor reducción del diámetro luminal o incluso regresión al año y un incremento posterior tiempo después⁽³²⁻³⁴⁾. La angiografía seriada y la angioscopia encontraron la siguiente secuencia de cambios. Había un engrosamiento inicial de la neointima, la cual se convertía en no transparente a los seis meses, después la neointima se adegazaba y se tornaba transparente, en la mayoría de los stents fue visible, esto correlacionado con un incremento del diámetro luminal⁽³³⁾.

Diversos tratamientos intravasculares, como la aterectomía direccional (ADC) y la braquiterapia, se habían asociado a complicaciones bien definidas, como consecuencia de su efecto directo en el vaso sanguíneo^(35,36). Por dicho motivo, la respuesta vascular tras la implantación de (stent liberador de fármaco) SLF ha sido evaluada detalladamente mediante exámenes seriados de ultrasonido intravascular (IVUS por sus siglas en inglés), que han puesto claramente de manifiesto que diferentes SLF originan distintas respuestas vasculares, parece haber múltiples factores que intervienen en el desarrollo del remodelado vascular tras el ICP.

- Factores relacionados con el dispositivo, como son el fármaco, el material del *stent* y el diseño, y la interacción con el tratamiento adyuvante, como la aterectomía coronaria direccional o la braquiterapia intracoronaria^(35,36). Dado que los SLF son una opción importante en la estrategia de tratamiento para los pacientes con enfermedades coronarias, es probable que la elección del fármaco y la cinética de liberación sean los componentes más importantes y determinantes del tipo y la evolución de la respuesta vascular. Aunque los resultados de los *stents* Taxus de LM pusieron de manifiesto una respuesta inflamatoria moderada sin signos de aumento de la cantidad de depósito de fibrina y con una endotelización casi completa, el aumento de la dosis de paclitaxel produjo un aumento significativo del área luminal, que se debía, en parte, a la necrosis de la pared medial con pérdida de células de músculo liso. Aunque todavía hay controversia respecto a si el grado de hiperplasia de la neoíntima puede afectar al remodelado vascular tras la implantación del *stent*, una menor lesión arterial puede provocar un menor remodelado.
- El segundo grupo es el de los factores relacionados con la intervención. Los estudios de IVUS han mostrado de manera uniforme la posible relación entre el corte profundo en la pared vascular y la ulterior dilatación del vaso tras la angioplastia con balón, el balón de corte y la ADC^(37,38).
- El tercer grupo es el de factores específicos del paciente o de la lesión, como los factores de riesgo coronario, el remodelado vascular preexistente, la presencia de angina, las características de la placa, la actividad inflamatoria local y las tensiones tangenciales. Por ejemplo, tal como revisan García-García et al⁽³⁹⁾, la morfología de la placa subyacente puede afectar a la rapidez de la cicatrización cuando los puntales del *stent* penetran profundamente en el núcleo necrótico y no están en contacto con áreas celulares. Dado que sirolimus y paclitaxel son sustancias altamente lipófilas, teóricamente, la retención histórica prolongada de estos fármacos en placas ricas en lípidos podría causar un mayor retraso en la cicatrización, que comporte una menor endotelización. Sin embargo, no hay

datos claros que demuestren la relación entre la presencia de un núcleo necrótico y el remodelado vascular tras la implantación de SLF.

Básicamente, los resultados del análisis de IVUS (ultrasonida intravascular por sus siglas en inglés) son homogéneos; sin embargo, las placas coronarias humanas son de histología muy compleja. Por ejemplo, cada placa se clasifica según uno de estos componentes con las siguientes definiciones:

- a) placa fibrosa, formada por colágeno densamente agrupado
- b) placa fibroadiposa, formada por colágeno y lípidos entremezclados
- c) placa necrótica calcificada que incluye hendiduras de colesterol, células espumosas y microcalcificaciones.
- d) placa calcificada sin necrosis adyacente⁽⁴⁰⁾.

Esto significa que la IVUS no detecta compuestos químicos específicos como lípidos o colágeno, sino la mezcla de compuestos que constituye uno de los cuatro tipos de tejido. Como ya se mencionó la reestenosis se caracteriza por una inflamación aguda y la formación temprana de trombos, seguida de una hiperplasia neo-intima (síntesis de matriz extracelular y proliferación de músculo liso), incrementando la evidencia del papel inflamatorio en la EAC^(23,41,42).

No se tiene bien demostrado como actúa el transactivador del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II (TACMHC2) en la re-estenosis, sin embargo, se sabe que este gen suprime o activa la transcripción de varios genes como la colágena, metaloproteinasa-9 de matriz, IL-4, IL-10, la catepsina E y el Fas ligando, que están íntimamente relacionados con la remodelación vascular y la síntesis de matriz extracelular⁽⁴³⁾. Ya que este gen actúa como un andamio que sirve como ensamble de algunos factores de transcripción que regulan la expresión de estos genes⁽⁴⁴⁻⁴⁸⁾.

Por otro lado, este gen también participa en la diferenciación de la respuesta de células T ayudadoras (Th1 y Th2), estudios in vitro han demostrado que en ratones transgénicos deficientes de TACMHC2 intensifican el nivel de interleucina 4 (IL-4) y otro tipo de citocinas de respuesta Th2⁽⁴⁹⁾.

Así mismo, se tiene evidencia que el gen del TACMHC2 regula la expresión de moléculas que tienen un papel importante en la inmunidad adaptativa y la presentación de antígenos a células T CD4⁺, promotoras de la proliferación, maduración y función inmunitaria de otros tipos celulares como las citocinas que pueden regular las actividades de las células B, macrófagos y células del sistema inmunitario que pudieran participar en el desarrollo de reestenosis⁽⁵⁰⁻⁵²⁾.

Justificación.

La re-estenosis es una de las principales complicaciones de ICP, siendo uno de los problemas más importantes incluso en la era de los SLF. Datos en poblaciones caucásicas registraron que entre el 15 y el 25% de los pacientes que reciben un stent intracoronario desarrollan reestenosis²⁶⁻⁵³. Este padecimiento es de origen multifactorial y dada la fisiopatología de este padecimiento, se sugiere la participación de polimorfismos de genes, como el que codifica el trans-activador del complejo mayor de histocompatibilidad tipo 2 (TACMHCII), el cual puede ser candidato importante de estudio. Resultados previos en enfermedades multifactoriales como la aterosclerosis y la artritis reumatoide han detectado asociaciones de los polimorfismos del gen TACMHC2 en el desarrollo de una inflamación aguda. Si la reestenosis se caracteriza por una inflamación aguda y la formación temprana de trombos, seguida de una hiperplasia neointima (síntesis de matriz extracelular y proliferación de músculo liso), estos polimorfismos pueden estar involucrados en el desarrollo de una inflamación aguda como la de reestenosis. No existen datos aplicables a nuestra población, por lo que es importante realizar el presente estudio con el fin de detectar marcadores genéticos de susceptibilidad para el desarrollo de reestenosis en nuestra población. Estos estudios permitirán en un futuro cercano definir mejores tratamientos preventivos, considerando las características genéticas individuales.

Pregunta de Investigación.

Están los polimorfismos del gen TACMHC2 asociados con el desarrollo de reestenosis en pacientes tras el implante de stent coronario?.

Hipótesis.

El gen del TACMHC2 participa en la regulación del proceso inflamatorio que conlleva al desarrollo de una inflamación aguda y por tanto al desarrollo de reestenosis, los sitios polimórficos que regulan su producción pueden funcionar como marcadores de susceptibilidad o resistencia para este padecimiento.

Hipótesis nula

No existe asociación entre la expresión de polimorfismos del gen TACMHC2 con el desarrollo de reestenosis intrastent.

Hipótesis alterna

Existe asociación entre la expresión de polimorfismos del gen TACMHC2 con el desarrollo de reestenosis intrastent.

Objetivos.

Objetivo Primario

Establecer la participación de los polimorfismos del gen TACMHC2 en el desarrollo de reestenosis intrastent en un grupo de pacientes pertenecientes a la población mexicana.

Objetivo secundario.

Establecer si existen diferencias en la expresión de polimorfismo del gen TACMHC2 de acuerdo al tipo de stent implantado.

Material y Métodos.

El estudio fue realizado en los departamentos de Hemodinámica y Biología Molecular del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez durante enero 2009 a junio 2010.

Diseño de estudio: prospectivo, descriptivo y longitudinal.

Población de estudio.

Pacientes pertenecientes a la población Mexicana, que se definen como aquellos con historia de tres generaciones previas nacidas en territorio mexicano⁽⁵⁴⁾, con enfermedad arterial coronaria sintomática, quienes fueron sometidos a angioplastia coronaria transpercutánea con implantación de uno o mas stents y que tuvieron al menos un estudio angiográfico de seguimiento.

Criterios de inclusión:

- Pacientes mayores de edad mexicanos.
- Antecedente de implantación de uno o mas stents en un vaso nativo coronario en el Instituto Nacional de Cardiología.
- Coronariografía de control al menos 6 meses después de la intervención.
- Expediente clínico completo y de los estudios angiográficos..

- Firma de consentimiento informado por parte de paciente.

Criterios de exclusión:

- Pacientes extranjeros
- Muestreo incompleto.
- Incapacidad de comparación de las coronariografías.

Criterios de eliminación.

- Pacientes en los cuales no haya sido posible obtener los datos en forma confiable.
- Muestra sanguínea para estudio de polimorfismo insuficiente o inadecuada.
- Calidad o cantidad de DNA extraído inadecuada.

Maniobra

Se revalidaron los estudios angiográficos del intervencionismo y control para determinar presencia de reestenosis, por un médico adjunto al servicio de hemodinámica de este instituto, que no participó en los cateterismos del enfermo.

Se determinó como estenosis mayor al 50 % dentro o 2 mm adyacentes a los bordes externos de un stent. Pérdida mayor al 50 % del lumen obtenido durante la intervención. Asimismo se clasificó el tipo de lesiones y si existía progresión de las mismas. (ver anexo 1)

Extracción de ADN

A partir de esta muestra se extraerá el DNA genómico por medio de técnicas convencionales⁽⁵⁵⁾ descritas a continuación:

- 1.- Se recolectó muestra de sangre en tubo Vacutainer (tapa violeta), conteniendo 100 ul de EDTA al 15%
- 2.- Se transfirió 5 ml de sangre a un tubo de 15 ml para centrifugar y agregar 5 ml de sal "buffer" que contiene 10 mM Tris.HCl, 10 mm KCl, 10 mM MgCl₂ y 2 mM EDTA (TKMI).
- 3.- Se agregó 125 uL de Nonidet P-40 (NP-40, Sigma) a las células.
- 4.- Se centrifugó a 2200 RPM por 10 minutos a temperatura ambiente (RT) en una cámara Beckman (modelo TJ-6).
- 5.- Se extrajo el sobrenadante excepto el aditamento principal. Lavar el aditamento en 5 ml de buffer TKMI y centrifugar como el anterior.

- 6.- Se suspendió el aditamento en 0.8 ml de sal "buffer" que contenga 10 mM Tris HCl pH de 7.6, 10 mM KCl, 10 mM MgCl₂, 0.4 M NaCl y 2 mM EDTA (TKM2).
- 7.- Se agregó 50 ul de SDS al 10% a través de una pipeta e incubándose por 10 mins a 55°C.
- 8.- Se agregó 0.30 ml de 6 M NaCl en el tubo.
- 9.- Centrifugando a 12000 RPM por 5 minutos, en microcentrifugadora.
- 10.- Se conservó el sobrenadante que contiene DNA y se descartó la proteína precipitada.
- 11.- Se agregó 2 volúmenes de etanol al 100% a temperatura ambiente hasta precipitar el DNA.
- 12.- Retirando el precipitado de de DNA en un tubo de microcentrifugación que contenga 1 ml de etanol al 70% a muy baja temperatura (frío).
- 13.- Microcentrifugando por 5 minutos a 12000 RPM a 4°C.
- 14.- Se extrajo el precipitado en una Speed-vac y suspender el DNA en 0.5 ml de 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0 a 65°C por 15 minutos.
- 15.- Se debe medir la concentración de DNA tomando A260 y A280 así como checar la calidad del DNA a través de electroforesis en gel de agarosa.

Sitios polimórficos analizados.

De acuerdo a los reportes previamente publicados de asociación entre polimorfismos del gen MHC2TA y aterosclerosis en otras poblaciones, determinamos estudiar los siguientes 3 polimorfismos:

MHC2TA: Polimorfismos MHC2TA -168 A>G (rs3087456), ubicado en la región promotora del correspondiente gen.

En la región codificante: MHC2TA 1614 C>G (rs4774) y MHC2TA 2536 G>A (rs2229320).

Determinación de los polimorfismos.

De acuerdo a la experiencia del departamento de Biología molecular se utilizó PCR en tiempo real, ya que es el estándar de oro para genotipificación y la discriminación alélica. Utilizando parejas de iniciadores y sondas TaqMan previamente reportados⁽⁵⁰⁾. Para tal efecto, la identificación de los polimorfismos de un solo nucleótido en el DNA genómico se realizó usando ensayos TaqMan 5' exonucleasa y se analizara en un 7900HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystem, foster City, CA, USA).

Análisis estadístico

Las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos del gen TACMHC2 analizados se obtuvieron por conteo directo. En cada grupo de estudio se evaluó el equilibrio de Hardy-Weinberg por medio de la prueba de chi-cuadrada (X^2). Las diferencias entre grupos se determinaron usando la prueba de X^2 de Mantel-Haenzel, la cual combina tablas de contingencia de 2x2 usando el programa estadístico EPIINFO (V. 5.0; USD Incorporated 1990, Stone Mountain, GA, USA). Cuando el número comparado en alguna celda sea menor a 5, se utilizó la prueba Exacta de Fisher. El valor de p fue corregido (pC) multiplicando su valor por el número de comparaciones realizadas en cada locus, con nivel de significancia establecido como $pC < 0.05$. El riesgo relativo con intervalo de confianza del 95% (IC) fue evaluado como razón de momios (RM) utilizando el método de Woolf⁽⁵⁶⁾. Las variables potencialmente confusoras (factores de riesgo clásicos para reestenosis) fueron evaluadas utilizando la prueba de chi-cuadrada para obtener un estimador ajustado por los estratos considerados en el análisis. El ajuste de riesgo considerando las variables confusoras se realizó con regresión logística no condicionada. El análisis de haplotipos y desequilibrio de ligamiento se realizó utilizando el programa Haploview 4.1 (Broad Institute of Massachusetts Institute of Technology and Harvard University, Cambridge, MA, USA).

Resultados.

Del mes de enero del 2009 a junio del 2010 se estudiaron 202 pacientes, de los cuales 79 (39.1%) fueron mujeres y 123 (60.89%) fueron hombres con una edad promedio de 60.07 ± 10.6 y 59.08 ± 10.7 respectivamente. Los antecedentes de los pacientes se muestran comparativamente en la tabla 1.

Características de la muestra.

De acuerdo a las características de los pacientes incluidos en este estudio que se presentan en la tabla 1. No existe diferencias significativas entre los pacientes con y sin reestenosis intrastent respecto a la edad, hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo 2, tabaquismo, dislipidemia o tratamiento con estatinas, sin embargo se puede observar que existe mayor reestenosis en hombres respecto a mujeres 84.8% y 15.7 % respectivamente, siendo superior en pacientes mayores de 60 años de edad y en aquellos sin tratamiento con estatinas (tabla 1).

Tabla 1. Características de los pacientes y presencia de REIS.

	Con REIS (n=79)	Sin REIS (n=123)	Valor de p
Edad (años) Media mas derivación estándar	60.7±10.6	59±10.7	0.52
Hombre n(%)	67 (84.8)	91 (74)	0.81
Mujer n(%)	12 (15.7)	32 (126)	0.81
Hipertensión arterial sistémica n(%)	44 (55.7)	66 (53.7)	0.885
Diabetes mellitus 2 n(%)	32 (40.5)	40 (32.5)	0.29
Tabaquismo n(%)	46 (58.2)	80 (65)	0.37
Dislipidemia n(%)	42 (53.2)	73 (59.3)	0.46
Tratamiento con estatinas n(%)	68 (86.1)	109 (88.6)	0.66
Infarto agudo del miocardio n(%)	30 (38)	44 (35.8)	0.76
Síndrome Coronario Agudo n(%)	61 (77.2)	84 (68.3)	0.20

REIS reestenosis intrastent

Se identificaron 327 lesiones en 202 pacientes, como era de esperarse de acuerdo a la revisión de la literatura existe mayor reestenosis en aquellas lesiones tratadas con stent metálico no recubierto (SMNR) que en aquellos con stent liberador de fármaco (SLF) ⁽¹⁸⁻²⁰⁾ (p<0.01). La longitud media en las lesiones con REIS fue de 21.02±6.5 sin ser significativo (p=0.768). No fue significativo oclusión total, bifurcación, lesión ostial, trombo o calcio. El vaso con más reestenosis en proporción al número de lesiones del mismo fue la descendente anterior, coronaria derecha y circunfleja respectivamente. Las lesiones mas complejas presentaron como se esperaba mayor proporción de REIS sin ser significativo. (ver tabla 2).

Tabla 2 características angiográficas (N=327 lesiones)

	Con REIS (n=95)	Sin REIS (n=232)	P
SMNR n(%)	70 (73.7%)	98 (42.2%)	<0.01
SLF n(%)	25 (26.3%)	134 (57.8%)	
Diámetro (mm) media± desviación estándar	2.92±0.49	3.04±0.49	0.92
Longitud (mm) media± desviación estándar	21.02±6.5	20.33±6.58	0.768
Oclusión total n(%)	16 (16.8%)	48 (20.7%)	0.539

Lesión ostial n(%)	11 (11.7%)	29 (12.8%)	0.855
Bifurcación n(%)	29 (30.5%)	45 (19.6%)	0.041
Trombo n(%)	10 (10.5%)	37 (16.1%)	0.227
Calcio n(%)	10 (10.9%)	28 (12.3%)	0.849
Vaso tratado			
Tronco	0 (0%)	9(3.9%)	0.227
DA n(%)	45 (47.9%)	109(47%)	
CX n(%)	18 (19.1%)	49 (21.1%)	
CD n(%)	31 (33%)	65 (28%)	
Tipo de lesión			
A n(%)	9 (9.6%)	21 (9.1%)	0.981
B n(%)	37 (39.4%)	89 (38.7%)	
C n(%)	48 (51.1%)	120 (52.2%)	

SMNR stent metálico no recubierto, SLF stent liberador de fármaco. DA arteria descendente anterior, CD coronaria derecha, CX circunfleja.

Alelos y frecuencias de genotipos

Excepto por el SNP (rs4774) del MHC2TA 1614 C>G, el cual significativamente desvía el equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE por sus isglas en inglés) en pacientes con reestenosis, el resto de los SNP fueron consistentes con HWE. La distribución de de los polimorfismos de *MHC2TA* -168 A>G (rs3087456), *MHC2TA* 1614 C>G (rs4774) y *MHC2TA* 2536 G>A (rs2229320) fue similar en pacientes con y sin reestenosis intrastent Asimismo los polimorfismos MHC2TA analizados en el presente estudio muestran un fuerte desequilibrio entre los polimorfismos rs4774 (MHC2TA 1614 C>G) y rs2229320 (MHC2TA 2536 G>A) con una $D' = 0.87$. Sin embargo la distribución de los diferentes haplotipos encontrados fue similar en los pacientes. **Figura 1**

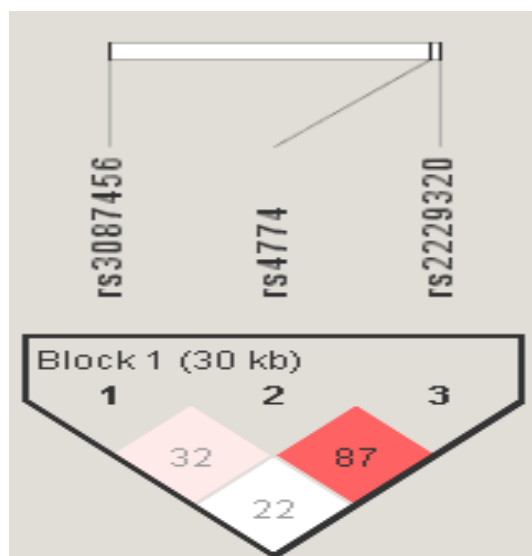


Figura1. muestra el desequilibrio entre los sitios polimórficos rs4774

(MHC2TA 1614 C>G) y rs2229320 (MHC2TA 2536 G>A) con una $D' = 0.87$.

De acuerdo al número de pacientes y de lesiones a mayor tasa de eventos adversos cardiacos y progresión de la enfermedad se presentó mayor reestenosis intrastent (p 0.005 y <0.001 respectivamente), no se obtuvo resultados significativos en la expresión de los polimorfismos del TACMHC2. (ver Tablas 3 y 4). Como se esperaba⁽¹⁵⁻¹⁹⁾ se presentó mayor REIS en vasos tratados con SMNR, en lesiones con bifurcación y diámetro mayor de 2.5mm (ver Tabla 4).

Tabla 3. Análisis univariado por número de pacientes (202 pacientes con 327 lesiones).

	Con REIS n (79)	Sin REIS n(123)	Razón de momios	Intervalo de confianza (95%)	Valor de p
Pacientes					
Hombre	67 (84.8%)	91 (74%)	1.9	0,94-4.09	0.081
Edad (≥65 años)	26 (32.9%)	34 (27.6%)	1.28	0.69-2.37	0.435
DM2	32 (40.5%)	40 (32.5%)	1.4	0.78-2.54	0.292
HAS	44 (55.7%)	66 (53.7%)	1.08	0.61-1.91	0.885
Hipercolesterolemia	42 (53.2%)	73 (59.3%)	0.77	0.44-1.37	0,467
Tabaquismo	46(58.2%)	80 (65%)	0.74	0,41-1.33	0.373
ASA	74 (93.7%)	120 (97.6%)	0.370	0.08-1.59	0.267
SICA	61 (77.2%)	84 (68.3%)	1.57	0.82-3.01	0.201
Clopidogrel	46 (58.2%)	81 (65.9%)	0.72	0.40-1.29	0.298
Tratamiento con Estatinas	68 (86.1%)	109 (88.6%)	0.79	0.34-1.85	0.663
Progresión de enfermedad	56 (70.9%)	62 (50.4%)	2.39	1.31-4.36	0.005
MACE	60 (75.9%)	42 (34.1%)	6.09	3.22-11.5	<0.001
CIITA-168A>G					
AG	32 (40.5%)	61 (49.6%)	0.69	0.39-1.22	0.248
AA	9 (11.4%)	12 (9.8%)	1.18	0.47-2.96	0.814
GG	38 (48.1%)	50 (40.7%)	1.35	0.76-2.39	0.312
CIITA 2536A>G					
AG	9 (11.4%)	14 (11.4%)	1.001	0.411-2,437	1.0
GG	61 (77.2%)	88 (71.5%)	1.34	0.70-2.59	0.415
AA	1 (1.3%)	3 (2.4%)	0.51	0.05-5.01	1.0
GA	8 (10.1%)	18 (14.6%)	0.65	0.27-1.59	0.396
CIITA 1614C>G					

CG	30 (38%)	56 (45.5%)	0.73	0.41-1.3	0.310
CC	22 (27.8%)	26 (21.1%)	1.44	0.74-2.77	0.311
GG	27 (34.2%)	41 (33.3%)	1.03	0.57-1.88	1.0

MACE tasa de eventos adversos cardiacos mayores por sus siglas en inglés.

Tabla 4. Análisis univariado por lesiones (total de lesiones 327 en 202 pacientes)

	Con REIS n=(95)	Sin REIS n=(232)	Razón de momios	Intervalo de confianza (95%)	Valor de p
Stent liberador de fármaco	25 (26.3%)	134 (57.8%)	0.26	0.14-0.44	<0.01
Diámetro 2.5mm o menor	32 (34%)	53 (22.8%)	1.74	1.03-2.94	0.051
Lesión residual	13 (14.3%)	19 (8.5%)	1.79	0.84-3.81	0.149
Empalme	22 (23.2%)	59 (25%)	0.9	0.51-1.58	0.778
Bifurcación	29 (30.5%)	45 (19.6%)	1.8	1.04-3.11	0.041
CIITA-168A>G					
AG	38 (40%)	110 (47.4%)	0.73	0.45-1.2	0.271
AA	11 (11.6%)	28 (12.1%)	0.95	0.45-2.00	1.0
GG	46 (48.4%)	94 (40.5%)	1.37	0,85-2.22	0.219
CIITA 2536A>G					
AG	11 (11.6%)	19 (8.2%)	1.46	0.67-3.21	0.398
GG	73 (76.8%)	178 (76.7%)	1.0	0.57-1.77	1.0
AA	1 (1.1%)	6 (2.6%)	0.40	0.04-3.37	0.678
GA	10 (10.5%)	29 (12.5%)	0.82	0.38-1.76	0.709
CIITA 1614C>G					
CG	35 (36.8%)	99 (42.7%)	0.78	0.47-1.28	0.386
CC	24 (25.3%)	58 (25%)	1.0	0.58-1.75	1.0
GG	36 (37.9%)	75 (32.3%)	1.27	0.77-2.10	0.369
Progresión enfermedad	44 (68.8%)	74 (53.6%)	1.9	1.01-3.55	0.047
MACE	48 (75%)	54 (39.1%)	4.6	2.4-2.903	<0.01

MACE tasa de eventos adversos cardiacos mayores por sus siglas en inglés.

En el análisis univariado por subgrupo de lesiones los genotipos del polimorfismo CIITA-168A>G presentaron la mayor tendencia con p 0.061 (ver tabla 5).

Tabla 5. Subgrupo de análisis por tipo de Stent.

Tipo de Stent	Características	Con REIS	Sin REIS	Razón de momios	Intervalo confianza	Valor P
Stent desnudo	SICA (n=135)	55 (78.6%)	80 (81.6%)	0.82	0.38-1.77	0.695
	Angina estable (n=21)	5 (7.1%)	16 (16.3%)	0.39	0.13-1.13	0.098
	Bifurcación (n=35)	21 (30%)	14 (14.4%)	2.54	1.18-5.44	0.020
	Diámetro menor de 2.5mm (n=38)	20 (29%)	18 (18.4%)	1.8	0,87-3.76	0.134
	Lesión residual (n=16)	10 (14.9%)	6 (6.5%)	2,54	0.87-7.38	0.108
	MACE (n=61)	37 (77.1%)	24 (47.1%)	3.78	1.58-9.02	0.004
	Progresión de la lesión (n=61)	32 (66.7%)	29 (47.5%)	1.51	0.67-3.43	0.409
	Sin estatinas (n=27)	13 (18.6%)	14 (14.3%)	0.73	0.32-1.67	0.525
	Oclusión total (n=40)	11 (15,7%)	29 (29.6%)	0.44	0.20-0.96	0.044
	CIITA-168A>G					
	AG (n=77)	26 (37.1%)	52 (52%)	0.54	0.29-1.01	0.061
	AA (n=17)	7 (10%)	10 (10.2%)	0.97	0.35-2.70	1.0
	GG (n=74)	37 (52.9%)	37 (37.8%)	1.8	0.99-3.44	0.060
	CIITA 2536A>G					
	AG (n=17)	8 (11.4%)	9 (9.2%)	1.27	0.46-3.49	0.796
	GG (n=131)	54 (77.1%)	77 (78.6%)	0.92	0.44-1.92	0.852
	AA (n=1)	0 (0%)	1 (1%)	0.58	0.51-0.66	1.0
	GA (n=19)	8 (11.4%)	11 (11.2%)	1.0	0.38-2.68	1.0
	CIITA					

	1614C>G					
	CG (n=58)	24 (34.3%)	34 (34.7%)	0.98	0.51-1.87	1.0
	CC (n=51)	22 (31.4%)	29 (29.6%)	1.0	0.56-2.12	0.865
	GG (n=59)	24 (34.3%)	35 (35.7%)	0.93	0.49-1.78	0.871
	SICA (n=99)	19 (76%)	80 (59.7%)	2.13	0.80-5.69	0.177
Stent liberador de fármaco	Angina estable (n=120)	5 (20%)	34 (25.4%)	0.73	0.25-2.11	0.800
	Sin estatinas (n=15)	1 (4%)	14 (10.4%)	2.8	0.35-22.31	0.469
	Oclusión total (n=24)	5(20%)	19 (14.2%)	1.5	0.5-4.51	0.541
	Bifurcación (n=39)	8 (32%)	31 (23.3%)	1.54	0.61-3.93	0.448
	Diámetro <2.5mm (n=47%)	12 (48%)	35 (26.1%)	2.61	1.08-6.25	0.034
	Lesión residual (n=16)	3 (12.5%)	13 (9.9%)	1.29	0.34-4.94	0.703
	MACE (n=41)	11 (68.8%)	30 (34.5%)	4.18	1.32-13.4	0.013
	Progresión enfermedad (n=57)	12 (75%)	45 (51.7%)	2.8	0.83-9.36	0.105
	CIITA-168A>G					
	AG (n=71)	12 (48%)	59 (44%)	1.17	0.49-2.76	0.827
	AA (n=22)	4 (16%)	18 (13.4%)	1.22	0.37-3.99	0.754
	GG (n=66)	9 (36%)	57 (42.5%)	0.76	0.31-1.84	0.660
	CIITA 2536A>G					
	AG (n=13)	3 (12%)	10 (7.5%)	1.69	0.43-6.63	0.432
	GG (n=120)	19 (76%)	101 (75.4%)	1.03	0.38-2.8	1.0
	AA (n=6)	24 (96%)	129 (96.3%)	1.0	0.7-1.45	1.0
	GA (n=20)	2 (8%)	18 (13.4%)	0.56	0.12-2.58	0.742
	CIITA 1614C>G					
	CG (n=76)	11 (44%)	65 (48.5%)	0.83	0.35-1.97	0.828
	CC (n=31)	2 (8%)	29 (21.6%)	0.31	0.07-1.41	0.168
GG (n=52)	12 (48%)	40 (29.9%)	2.16	0.91-5.16	0.103	

Las variables que presentaron $p \leq 0.1$ en el análisis univariado fueron utilizadas en un modelo de regresión logística con inclusiones progresivas de variables. Después del ajuste multivariado, no hubo predictores de reestenosis. (ver tabla 6)

Tabla 6. Análisis multivariado

	Valor P	Intervalo de confianza	Coefficiente beta
CTTA1618A>G GG	0.140	-0.032-0.226	0.104
Tipo de stent	<0.001	-0.434—0.182	0.332
Diámetro stent <2.5mm	0.018	0.030-0.316	0.158
Progresión enfermedad	0.187	-0.017-0.243	0.120

Discusión.

Aunque los stents consiguieron una reducción de la incidencia de las reestenosis hasta alrededor de un 20%, este efecto beneficioso se obtenía a costa de un aumento de la hiperplasia neointimal que causa la reestenosis⁽⁷⁾. La estrategia de «cuanto más grande mejor» ha sido útil para reducir la incidencia de reestenosis en los stents metálicos no recubiertos⁽²⁷⁾. Sin embargo, el avance más notable para hacer frente a este fenómeno surgió con la aparición de los stents liberadores de fármaco^(27,57). Como parte de los factores relacionados a REIS específicos del paciente o de la lesión, se encuentran los de riesgo coronario, el remodelado vascular preexistente, la presencia de angina, las características de la placa, la actividad inflamatoria local. La gravedad del daño arterial durante la colocación de un stent correlaciona con el incremento de la inflamación y crecimiento neointimal⁽⁸⁻¹⁰⁾. Existe evidencia reciente de la participación de los polimorfismos del gen de CMHCII que se relacionan con inflamación aguda⁽⁴⁴⁻⁴⁹⁾ y por sus funciones en este estudio se determinó estudiar si existe relación de la expresión de sus alelos en la aparición de reestenosis. Se estudiaron 202 pacientes, de los cuales 79 (39.1%) fueron mujeres y 123 (60.89%) fueron hombres con una edad promedio de 60.07±10.6 y 59.08±10.7 respectivamente. No existe diferencias significativas entre los pacientes con y sin reestenosis intrastent respecto a la edad, hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo 2, tabaquismo, dislipidemia o tratamiento con estatinas, sin embargo se puede observar que existe mayor reestenosis en hombres respecto a mujeres 84.8% y 15.7 % respectivamente, siendo superior en pacientes mayores de 60 años de edad y en aquellos sin tratamiento con estatinas. En cuanto a la expresión de los polimorfismos de TACMHC2 solo se observó ligera tendencia significativa en la expresión del polimorfismo MHC2TA 1614 C>G (rs4774).

En resumen el presente estudio no sugiere que los polimorfismos del TACMHC2 tengan un papel importante en el riesgo de desarrollo de reestenosis intrastent, se observaron los valores esperados de acuerdo a literatura^(7,15-20) de acuerdo a los factores predisponentes como la gravedad de la lesión, bifurcación, MACE (tasa de eventos cardíacos mayores por sus siglas en inglés) y progresión de la enfermedad⁽⁵⁷⁾, así como el mayor número de reestenosis intrastent en pacientes con intervencionismo con colocación de stents metálicos no recubiertos que con stents liberadores de fármaco⁽²⁷⁾. Tabla 2,3,4.

Sin embargo estos resultados son preliminares y se requieren estudios adicionales con un mayor número de pacientes y en otras poblaciones puede ayudar a definir el verdadero papel de estos marcadores de riesgo para el desarrollo de la reestenosis intrastent.

Conclusiones

1. No se observó correlación entre la expresión de polimorfismos del gen del TACMHC2 y la aparición de reestenosis intrastent.
2. De acuerdo al tipo de stent implantado se observó mayor reestenosis intrastent en lesiones tratadas con stent metálico no recubierto que en stent liberador de fármaco, sin embargo no hubo significancia estadística entre la expresión de los polimorfismos del TACMHC2 y estos.
3. Se requiere mayores variaciones en la expresión de los polimorfismos de TACMHC2 en un tamaño muestral mayor para observar dicha correlación con la reestenosis intrastent.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Libby P: Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 2001 104:365
- 2 Página electrónica de la Secretaría de Salud de México
- 3 American Heart association. Heart and Stroke facts: 1996 Statistical Supplement. Dallas, American Heart Association 1996, 1-23.
- 4 Berenson GS, et al: Atherosclerosis of the aorta and coronary risk factors in persons aged 6 to 30 years and studied at necropsy (The Bagalusa Study) *Am J Cardiol* 70:852, 1992.
- 5 Fuster V, Badimon L, Badimo JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndrome (2) *N Engl J Med* 1992; 326: 310-318.
- 6 Lowe HC, Oesterle SN, Khachigian LM. Coronary in-stent restenosis: current status and future strategies. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:183-193.
- 7 Smith, SC Jr, Feldman, TE, Hirshfeld, JW Jr, et al. ACC/AHA/SCAI 2005 guideline update for percutaneous coronary intervention a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/SCAI Writing Committee to Update the 2001 Guidelines for Percutaneous Coronary Intervention). *J Am Coll Cardiol* 2006; 47:e1
- 8 Fischman, DL, Leon, MB, Baim, DS, et al. A randomized comparison of coronary–stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. *N Engl J Med* 1994; 331:496.
- 9 Holmes, DR Jr, Teirstein, P, Satler, L, et al. Sirolimus-eluting stents vs vascular brachytherapy for in-stent restenosis within bare-metal stents: the SISR randomized trial. *JAMA* 2006; 295:1264
- 10 Shwartz RS. Animal models of human coronary restenosis. En. Topol EJ, ed. *Textbook of Interventional Cardiology*. 2nd ed. Philadelphia. WB Saunders; 1994:356-381.
- 11 Mintz GS, Popma JJ, Phicard AD, et al. 1996. Arterial remodeling after coronary angioplasty : a serial intravascular ultrasound study. *Circulation.* 94. 35-43
- 12 Akihiro Hirashiki, MD*, Yoshiji Yamada, MD, PhD^{†*}, Yosuke Murase, MD. Association of gene polymorphisms with coronary artery disease in low or high-risk subjects defined by conventional risk factors. *Heart J* 2006;152:1109215
- 13 Fuster V, Fayad ZA, Badomin JJ Acute coronary syndromes: biology *Lancet* 1999; 353 Suppl 2: S115-119.
- 14 Dotter CT. Transluminally-placed coilspring endarterial tube grafts. Long-term patency in canine popliteal artery. *Invest Radiol.* 1969;4:329-32.
- 15 Serruys, PW, de Jaegere, P, Kiemeneij, F, et al. A comparison of balloon–expandable–stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1994; 331:489.
- 16 Cutlip, DE, Chauhan, MS, Baim, DS, et al. Clinical restenosis after coronary stenting: perspectives from multicenter clinical trials. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40:2082.
- 17 Cutlip, DE, Chhabra, AG, Baim, DS, et al. Beyond restenosis: five-year clinical outcomes from second-generation coronary stent trials. *Circulation* 2004; 110:1226.
- 18 Roiron, C, Sanchez, P, Bouzamondo, A, et al. Drug eluting stents: an updated meta-analysis of randomised controlled trials. *Heart* 2006; 92:641
- 19 Moses, JW, Leon, MB, Popma, JL. Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery. *N Engl J Med* 2003; 349:1315.
- 20 Kearney, M, Pieczek, A, Haley, L, et al. Histopathology of in-stent restenosis in patients with peripheral artery disease. *Circulation* 1997; 95:1998.
- 21 Kornowski, R, Hong, MK, Tio, F, et al. In-stent restenosis: Contributions of inflammatory responses and arterial injury to neointimal hyperplasia. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31:224.
- 22 Komatsu, R, Ueda, M, Naruko, T, et al. Neointimal tissue response at sites of coronary stenting in humans: Macroscopic, histological, and immunohistochemical analyses. *Circulation* 1998; 98:224.
- 23 Farb, A, Sangiorgi, G, Carter, AJ, et al. Pathology of acute and chronic coronary stenting in humans. *Circulation* 1999; 99:44
- 24 Mudra H, Regar E, Klauss V, Werner F, Henneke KH, Sbarouni E, et al. Serial follow-up after optimized ultrasound-guided deployment of Palmaz-Schatz stents. In-stent neointimal proliferation without significant reference segment response. *Circulation.* 1997;95:363-70.

- 25 Koyama J, Owa M, Sakurai S, Shimada H, Hikita H, Higashikata T, et al. Relation between vascular morphologic changes during stent implantation and the magnitude of in-stent neointimal hyperplasia. *Am J Cardiol.* 2000;86:753-8.
- 26 König A, Schiele TM, Rieber J, Theisen K, Mudra H, Klauss V. Stent design-related coronary artery remodeling and patterns of neointima formation following self-expanding and balloonexpandable stent implantation. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2002;56:478-86.
- 27 Tanabe K, Serruys PW, Degertekin M, Guagliumi G, Grube E, Chan C, et al. Chronic arterial responses to polymer-controlled paclitaxel-eluting stents: comparison with bare metal stents by serial intravascular ultrasound analyses: data from the randomized TAXUS-III trial. *Circulation.* 2004;109:196-200.
- 28 Hoffmann R, Mintz GS, Popma JJ, Satler LF, Pichard AD, Kent KM, et al. Chronic arterial responses to stent implantation: a serial intravascular ultrasound analysis of Palmaz-Schatz stents in native coronary arteries. *J Am Coll Cardiol.* 1996;28:1134-9.
- 29 Nakamura M, Yock PG, Bonneau HN, Kitamura K, Aizawa T, Tamai H, et al. Impact of peri-stent remodeling on restenosis: a volumetric intravascular ultrasound study. *Circulation.* 2001;103:2130-2
- 30 Chung IM, Gold HK, Schwartz SM, et al. Enhanced extracellular matrix accumulation in restenosis of coronary arteries after stent deployment. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40:2072.
- 31 Kimura R, Yokoi H, Nakagawa Y, et al. Three-year follow-up after implantation of metallic coronary-artery stents. *N Engl J Med* 1996; 334:561.
- 32 Asakura M, Ueda Y, Nanto S, et al. Remodeling of in-stent neointima, which became thinner and transparent over 3 years: Serial angiographic and angioscopic follow-up. *Circulation* 1998; 97:2003.
- 33 Kuroda N, Kobayashi Y, Nameki M, et al. Intimal hyperplasia regression from 6 to 12 months after stenting. *Am J Cardiol* 2002; 89:869.
- 34 Mehran R, Dangas G, Abizaid AS, et al. Angiographic patterns of In-stent restenosis: classification and implications for long-term outcome. *Circulation* 1999; 100:1872.
- 35 Bell MR, Garratt KN, Bresnahan JF, Edwards WD, Holmes DR Jr. Relation of deep arterial resection and coronary artery aneurysms after directional coronary atherectomy. *J Am Coll Cardiol.* 1992;20:1474-81.
- 36 Okura H, Lee DP, Lo S, Yeung AC, Honda Y, Waksman R, et al. Late incomplete apposition with excessive remodeling of the stented coronary artery following intravascular brachytherapy. *Am J Cardiol.* 2003;92:587-90.
- 37 Okura H, Shimodozono S, Hayase M, Bonneau HN, Yock PG, Fitzgerald PJ. Impact of deep vessel wall injury and vessel stretching on subsequent arterial remodeling after balloon angioplasty: a serial intravascular ultrasound study. *Am Heart J.* 2002;144:323-8.
- 38 Nakamura M, Yock PG, Kataoka T, Bonneau HN, Suzuki T, Yamaguchi T, et al. Impact of deep vessel wall injury on acute response and remodeling of coronary artery segments after cutting balloon angioplasty. *Am J Cardiol.* 2003;91:6-11.
- 39 García-García HM, Gonzalo N, Tanimoto S, Religa E, De Jaegere P, Serruys PW. Caracterización de los efectos tisulares en los segmentos adyacentes a los *stents* liberadores de paclitaxel según el análisis de datos de radiofrecuencia procedentes de ecocardiografía intravascular seriada: Estudio BETAX (BEside TAXus). *Rev Esp Cardiol.* 2008;61:1013-9.
- 40 Nissen SE, Gurley JC, Grines CL, Booth DC, McClure R, Berk M, et al. Intravascular ultrasound assessment of lumen size and wall morphology in normal subjects and patients with coronary artery disease. *Circulation.* 1991;84:1087-99.
- 41 Mintz GS, Popma JJ, Phicard AD, et al. 1996. Arterial remodeling after coronary angioplasty : a serial intravascular ultrasound study. *Circulation.* 94. 35-43
- 42 Kooemider M. 1997. Coronary stent implantation results in patients treated with ticlopidine and aspirin. *Med Sci Monit.*3(6). 821-25
- 43 Kim TW, Park HJ, Chol EY, Jung KC. 2006. Overexpression of CIITA in T Cells Aggravates Th2-Mediated Colitis in Mice. *J Korean Med Sci.* 21:877-882
- 44 Krawczyk M, Seguin-Estévez Q, Leimgruber E, et al. 2008. Identification of CIITA Regulated Genetic Module Dedicated for Antigen Presentation. *Plos Genet.* 4:e1000058.
- 45 Zhu XS, Linhoff MW, Li G, et al. 2000. Transcriptional scaffold: CIITA interacts with NF- κ B, RFX and CREB to cause stereospecific regulation of the class II major histocompatibility complex promoter. *Mol Cell Biol.* 20:6051-6061.
- 46 Masternak K, Barras E, Zufferey M et al. 1998. A gene encoding a novel RFX-associated transactivator is mutated in the majority of MHC class II deficiency patients. *Nat genet.* 20:273-277.

- 47 Yee CS, Yao Y, Li P, Blum JS, et al. 2004. Cathepsin E: a novel target for regulation by class II transactivator. *J Immunol.* 172: 5528-5534.
- 48 Yee CS, Yao Y, Xu Q, MaCarthy B, et al. 2005. Enhanced production of IL-10 by dendritic cells deficient in CIITA. *J Immunol.* 174: 1222-1229.
- 49 Otten LA, Tacchini-Cottier F, Lohoff M, Annunziato F, Cosmi L, et al. 2003. Deregulated MHC Class II Transactivator Expression Leads to Strong Th2 Bias in CD4* T Lymphocytes. *J Immunol.* 170: 1150-1157
- 50 Swanberg Maria, Lidman O, Padyukov L, et al. 2005. MHC2TA is associated with differential MHC molecule expression and susceptibility to rheumatoid arthritis, multiple sclerosis and myocardial infarction. *Nat Genet.* 37:486-494
- 51 Flugel A, et al. 2001. Migratory activity and functional changes of green fluorescent effector cells before and during experimental autoimmune encephalomyelitis. *Immunity.* 14: 547-560.
- 52 Buttice G, Millar J, Wang L, Smith BD. 2006. Interferon- γ Induces Major Histocompatibility Class II Transactivator (CIITA), which Mediates Collagen Repression and Major Histocompatibility Class II Activation By Human Aortic smooth Muscle Cells. *Circ Res.* 98:472-479.
- 53 Di Mario C, Marsico F, Adamian M, et al. 2000. New recipes for in-stent restenosis: cut, grate, roast, or sandwich the neointima? *Heart.* 84:471-475
- 54 R. Lisker, R. Peérez-Briceño, J. Granados, V. Babinsky, J. de Rubens, S. Armendares, L. Buentello, Gene frequencies and admixture estimates in a Mexico City population, *Am. J. Phys. Anthropol.* 71 (1986) 203–207.
- 55 Miller A. 1988. A single salting out procedure for extraction DNA from human nucleated cell. *Nucleic Acid Res* 16:1215-1217.
- 56 Woolf B. 1995. On estimating the relation between blood group and disease. *Ann Hum Genet.* 19:251-253
- 57 Agustín Albarrán, Josepa Mauri, Eduardo Pinar y José Antonio Baz. *Rev Esp Cardiol.* 2010;63 (Supl 1):86-100