



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO.
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
“DR. IGNACIO CHÁVEZ.”
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**ESTUDIO DE CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES Y
BIOMARCADORES DE ACTIVACIÓN PLAQUETARIA Y DAÑO ENDOTELIAL
EN PACIENTES CON ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR ISQUÉMICA.**

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS DE LA SALUD**

**PRESENTA:
LINDSEY ARACELI RENTERIA POMPA
MÉDICA CIRUJANA Y PARTERA**

DIRECTORA DE TESIS
Doctora en Ciencias
Martha Eva Viveros Sandoval.

CO- DIRECTOR DE TESIS:
Cardiólogo Intervencionista
Carlos Arturo Areán Martínez.

MORELIA, MICHOACÁN, AGOSTO DE 2014

AGRADECIMIENTOS

A mis maestros D.C Martha Eva Viveros Sandoval, Dr. Carlos Arturo Areán Martínez, D. C. Sergio Gutiérrez Castellanos, M.C. Humberto Ruiz Vega, D.C. Jesús Alveano Hernández, por todo el apoyo, enseñanza, paciencia y aportaciones para que este trabajo se pudiera llevar a cabo, no solo aprendí de ustedes académicamente, también aprendí lo que es ser una persona excelente en todos los aspectos de la vida.

A mis padres: Octavio Rentería Bermúdez y Nieves Araceli Pompa, por todo su apoyo, su cariño, por estar ahí siempre que los necesito, por su ejemplo, por mi formación, por que sin ustedes, esta meta no habría sido posible.

A mis amigas y compañeras del laboratorio de Hemostasia y Biología Vascular: Nallely García, Carolina Torres, Sandra López, Laura Tovar por todo el apoyo y ayuda que siempre me brindaron, por todo lo que me enseñaron, por su compañía en momentos difíciles y también en los momentos de éxito. ¡Muchísimas gracias por siempre estar ahí!

A mis amigos y compañeros Anahí Reyes, Yazmin Hernández, Liliana Reyes, Nora Vences, Adrián Gómez, David Cuevas, Paola Jiménez, Jorge González, gracias por el apoyo que siempre me brindaron, porque de cada uno aprendí mucho, gracias por compartir estos casi 3 años juntos de esta excelente experiencia que a todos nos ayudó a ser mejores personas tanto dentro como fuera de las aulas y laboratorios, por que mejores compañeros no pude tener.

Muchas gracias a mis pacientes, al Hospital General Dr. Miguel Silva, al HGR No.1 IMSS, al Dr. Javier Mota, Dr. Rubén Solorio, a la enfermera Lupita y a todos los que colaboraron para que este trabajo se pudiera realizar exitosamente.

Gracias a todos los Doctores y compañeros que forman parte de la división de estudios de posgrado, por que todos colaboraron en mi formación.

LUGAR Y DIRECCIÓN DE TESIS

Este trabajo se llevó a cabo en el servicio de Cardiología, el laboratorio de análisis clínicos y la unidad de investigación “Dr. Mario Alvizouri” del Hospital General “Dr. Miguel Silva”, en el laboratorio de Hemostasia y Biología Vascular de la división de estudios de posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” y el laboratorio de Citopatología Molecular del Hospital General No. 1 del IMSS, bajo la tutoría de la D. C. Martha Eva Viveros Sandoval, el Dr. Carlos Arturo Areán Martínez y el D. C. Sergio Gutiérrez Castellanos.

COMITÉ TUTORAL

D. en C. Sergio Gutiérrez Castellanos.

M. en C. Humberto Ruiz Vega.

D. en C. Jesús Alveano Hernández.

INDICE

INDICE DE FIGURAS	6
INDICE DE TABLAS	7
INDICE DE GRÁFICAS	9
ABREVIATURAS	10
1. RESUMEN /ABSTRACT	11
2. INTRODUCCIÓN	13
3. MARCO TEÓRICO	15
3.1 CARDIOPATÍA ISQUÉMICA	15
3.1.1 ANGINA CRÓNICA ESTABLE (ANGOR ESTABLE O DE ESFUERZO):	16
3.1.2 ANGINA INESTABLE:	17
3.1.3 INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO	17
3.2 ATEROSCLEROSIS	19
3.2.1 FORMACIÓN DE LA PLACA ATEROMATOSA	20
3.2.1.1 LESION ENDOTELIAL:	20
3.2.1.2 INICIO DE LA ATEROSCLEROSIS:	20
3.2.1.3 FORMACIÓN DE LAS CÉLULAS ESPUMOSAS:	20
3.2.1.4 FORMACIÓN DE LA PLACA DE ATEROMA:	21
3.2.1.5 PROGRESIÓN DE LA PLACA ATEROSCLEROSA:	21
3.2.1.6 PLACA ATEROSCLEROSA VULNERABLE:	21
3.2.1.7 PLACA ATEROSCLEROSA ESTABLE:	22
3.3 ATEROTROMBOSIS	22
3.4 ACTIVACIÓN PLAQUETARIA	22
3.5 BIOMARCADORES PROTROMBÓTICOS Y DE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL	24
3.5.1 Proteína C Reactiva:	24
3.5.2 Lipoproteínas:	25
3.5.3 Sistema CD40/LCD40:	25
3.5.4 Factor de von Willebrand (FvW):	26
3.5.5 Inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1):	26
3.5.6 P-Selectina:	27
3.5.7 Adiponectina:	27
3.5.8 Volumen plaquetario medio:	27
3.6 CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES	28
4. JUSTIFICACIÓN	31
5. HIPÓTESIS	32
6. OBJETIVOS	33

6.1 OBJETIVO GENERAL	33
6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
7. MATERIAL Y MÉTODOS	34
7.1 SITIO DEL ESTUDIO	34
7.2 MUESTRA	34
7.3 GRUPO CONTROL	34
7.4 DISEÑO EXPERIMENTAL	35
7.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN	35
7.6 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	35
7.7 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	35
7.8 PROCEDIMIENTOS	35
7.8.1 HISTORIA CLÍNICA	36
7.8.2 INMUNOFENOTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CPE POR CITOMETRÍA DE FLUJO	38
7.8.3 ENSAYO ELISA	40
7.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	46
7.10 CONSIDERACIONES ÉTICAS	47
8. RESULTADOS:	48
9. DISCUSIÓN	70
10. CONCLUSIONES:	75
11. PERSPECTIVAS:	76
12. REFERENCIAS:	77
ANEXO I.	80

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de los síndromes coronarios.	19
Figura 2. Activación plaquetaria.	23
Figura 3. Movilización de CPE	29
Figura 5. Tablas para determinar el grado de riesgo cardiovascular utilizando la escala de Framingham	37
Figura 6. Procedimiento para inmunofenotificación de células progenitoras endoteliales:	38
Figura 7. Cuantificación de CPE en citómetro de flujo.	39
Figura 8. Análisis citométrico para la cuantificación de CPE.	39
Figura 9. Ensayo ELISA tipo Sandwich.	40
Figura 10. Técnica de ELISA para determinación de sCD40L	41
Figura 11. Técnica de ELISA para determinación de PAI-1	42
Figura 12. Técnica de ELISA para determinación de FvW	43
Figura 13. Técnica de ELISA para determinación de P-Selectina	44
Figura 14. Técnica de ELISA para determinación de Adiponectina.	45

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cambios electrocardiográficos en cardiopatía isquémica _____	18
Tabla 2. Clasificación funcional de la New York Heart Association _____	35
Tabla 3. Escala de Canadian Cardiovascular Society para la graducación de la angina _____	35
Tabla 4. Distribución de edad y género en los grupos de estudio. _____	48
Tabla 5. Medias y DE de medidas demográficas y antropométricas por grupos y significancia estadística : _____	49
Tabla 6. Resultados de laboratorio y significancia estadística entre el grupo control y los pacientes con cardiopatía isquémica. _____	50
Tabla 7. Factores de riesgo cardiovascular. _____	51
Tabla 8. Cantidad de CPE y los niveles de los biomarcadores. _____	51
Tabla 9. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov CPE. _____	52
Tabla 10. Estadística descriptiva CPE de acuerdo al grupo de estudio. _____	52
Tabla 11. ANOVA de cantidad de CPE en relación al grupo de estudio. _____	53
Tabla 12. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov células CD34. _____	54
Tabla 13. Estadística descriptiva cantidad de Células CD34 de acuerdo al grupo de estudio. _____	54
Tabla 14. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov de niveles PAI-1. _____	55
Tabla 15. Estadística descriptiva y significancia estadística de niveles de PAI-1 _____	55
Tabla 16. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov de niveles de sCD40L. _____	56
Tabla 17. Estadística descriptiva y significancia estadística de niveles de sCD40L. _____	56
Tabla 18. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov de los niveles de adiponectina. _____	57
Tabla 19. Estadística descriptiva y significancia estadística de niveles de adiponectina. _	57
Tabla 20. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov de niveles de FvW. _____	58
Tabla 21. Estadística descriptiva y significancia estadística de niveles de FvW. _____	58
Tabla 22. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov de niveles de P-Selectina. ____	59
Tabla 23. Estadística descriptiva y significancia estadística de niveles de P-Selectina. __	59
Tabla 24. Estadística descriptiva y significancia estadística de biomarcadores en relación al género. _____	60
Tabla 25. Estadística descriptiva y ANOVA de cantidad de CPE y niveles de biomarcadores en relación al grupo etario. _____	61
Tabla 26. ANOVA de cantidad de CPE y niveles de biomarcadores en relación a DM. __	64

Tabla 27. ANOVA de CPE y biomarcadores en relación al tipo de Stent _____	66
Tabla 28. Estadística descriptiva, cantidad de CPE en relación al tipo de Stent. _____	67
Tabla 29. Estadística descriptiva, cantidad de CPE en relación al tipo de Stent _____	67
Tabla 30. ANOVA de niveles de CPE y biomarcadores en relación al RCV de Framingham en pacientes con Cardiopatía isquémica. _____	68
TABLA 31. ANOVA de CPE y biomarcadores en relación al peso (Normal, sobrepeso u obesidad) _____	69

INDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Grupos de estudio _____	48
Gráfica 2. Distribución de género en cada grupo de estudio. _____	48
Gráfica 3. CPE en grupos de estudio _____	52
Gráfica 4. Cantidad de CPE en relación a los grupos de estudio _____	53
Gráfica 5. Células CD34+ en grupos de estudio _____	54
Gráfica 6. Niveles de PAI-1 en grupos de estudio _____	55
Gráfica 7. Niveles de sCD40L en grupos de estudio _____	56
Gráfica 8. Niveles de Adiponectina en grupos de estudio _____	57
Gráfica 9. Niveles de FvW en grupos de estudio _____	58
Gráfica 10. Niveles de P- selectina en grupos de estudio _____	59
Gráfica 11. Adiponectina en relación al género _____	60
Gráfica 12. Cantidad de CPE en relación al grupo etario. _____	62
Gráfica 13. Niveles de PAI-1 en relación al grupo etario. _____	62
Gráfica 14. Niveles de Adiponectina en relación al grupo etario. _____	63
Tabla 26. ANOVA de cantidad de CPE y niveles de biomarcadores en relación a DM. ___	64
Gráfica 15. Cantidad de CPE en relación a DM _____	65
Gráfica 16. Niveles de P-Selectina en relación a DM _____	65
Gráfica 17. CPE de acuerdo al tipo de Stent _____	67
Gráfica 18. Adiponectina de acuerdo al tipo de Stent _____	67
Gráfica 19. Niveles de PAI-1 en relación al peso _____	69

ABREVIATURAS

ADP	Adenosin difosfato
AE	Angina Estable
ARA II	Antagonistas de los Receptores de Angiotensina II
CI	Cardiopatía Isquémica
CPE	Células Progenitoras Endoteliales
DE	Disfunción endotelial
DLP	Dislipidemia
DM	Diabetes Mellitus
ECV	Enfermedad Cardiovascular
FC	Frecuencia Cardiaca
FT	Factor tisular
FvW	Factor de Von Willebrand
GC	Grupo Control
Gp	Glucoproteínas
HAS	Hipertensión Arterial Sistémica
HDL	Lipoproteínas de Alta Densidad
HGF	Factor de Crecimiento Hepatocitario
IAMCEST	Infarto Agudo de Miocardio Sin Elevación del segmento ST
IAMSEST	Infarto Agudo de Miocardio Con Elevación del segmento ST
ICAM-1	Molécula de adhesión intercelular-1
IECAs	Inhibidores de la hormona convertidora de Angiotensina
IL- 1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de Masa Corporal
LDL	Lipoproteínas de Baja Densidad
PAI-1	Inhibidor del Activador del Plasminógeno 1
PAF	Factor Activador del Plasminógeno
PCR	Proteína C Reactiva
RCV	Riesgo Cardiovascular
SCA	Síndrome Coronario Agudo
sCD40L	Ligando CD40 soluble
TAD	Tensión Arterial Diastólica
TAS	Tensión Arterial Sistólica
TNF- α	Factor de Necrosis Tumoral alfa
t-PA	Activador Tisular del Plasminógeno
VCAM-1	Molécula de citoadhesión vascular-1
VEGF	Factor de Crecimiento Vascular Endotelial
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
VPM	Volumen Plaquetario Medio

1. RESUMEN /ABSTRACT

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN: La enfermedad cardiovascular isquémica es la primera causa de muerte en el mundo y la segunda en México, la aterosclerosis y la aterotrombosis coronaria son el principal sustrato fisiopatológico de la cardiopatía isquémica. La isquemia secundaria desencadena liberación de factores de crecimiento que estimulan a la médula ósea para la liberación de células progenitoras endoteliales. Estas células participan en la neoangiogénesis y el rejuvenecimiento del endotelio, además de que hay una estrecha interacción entre dichas células y los factores de riesgo cardiovascular, por lo que es de suma importancia su estudio como un nuevo marcador diagnóstico y pronóstico en esta patología, relacionándolo con la cuantificación de otros biomarcadores, así como con las características clínicas de los pacientes.

OBJETIVO: Correlacionar la cantidad de células progenitoras endoteliales circulantes con los niveles plasmáticos de biomarcadores protrombóticos de daño endotelial en pacientes con enfermedad cardiovascular isquémica.

METODOLOGÍA: Se cuantificaron células progenitoras endoteliales mediante citometría de flujo, se determinarán biomarcadores protrombóticos (FvW, P-Selectina, LCD40, PAI-1, Adiponectina) por técnica de ELISA, los cuales se correlacionarán entre sí y con parámetros clínicos de los pacientes.

RESULTADOS: Se incluyeron en el estudio un total de 88 pacientes, 69 con diagnóstico de cardiopatía isquémica: 22 pacientes incluidos en el grupo de angina estable, 24 en el de IAMSEST y 23 en el de IAMCEST además de 19 sujetos sanos. Encontrando niveles elevados de PAI-1 en los pacientes con cardiopatía isquémica a diferencia del grupo control, que la cantidad de CPE está disminuida en pacientes con Angina estable, en diabéticos descontrolados, en mujeres y en pacientes de edad avanzada, además de que la adiponectina se encuentra elevada en pacientes con mejor riesgo cardiovascular de Framingham y en pacientes con cifras mayores de HDL.

CONCLUSIONES: La cantidad de CPE se encuentra disminuida en pacientes con Angina estable y diabéticos descontrolados, lo cual es un reflejo de la disfunción endotelial crónica que presentan estos pacientes. La adiponectina es un biomarcador útil que se correlaciona inversamente al riesgo cardiovascular de los pacientes

Palabras clave: Cardiopatía isquémica, células progenitoras endoteliales, riesgo cardiovascular, adiponectina.

ABSTRACT:

INTRODUCTION: Ischemic cardiovascular disease is the leading cause of death worldwide and the second in Mexico, atherosclerosis and coronary atherosclerosis are the main pathophysiological substrate of ischemic heart disease. Secondary ischemia triggers release of growth factors that stimulate the bone marrow to release endothelial progenitor cells. These cells are involved in neoangiogenesis and rejuvenation of the endothelium, plus there is a close interaction between these cells and cardiovascular risk factors, so it is very important study as a new diagnostic and prognostic marker in this disease, relating quantifying with other biomarkers, as well as the clinical features of patients.

OBJECTIVE: To correlate the number of circulating endothelial progenitor cells with plasma levels of prothrombotic biomarkers of endothelial damage in patients with ischemic cardiovascular disease.

METHODOLOGY: endothelial progenitor cells were quantified by flow cytometry, are determined prothrombotic biomarkers (vWF, P-selectin, LCD40, PAI-1, adiponectin) by ELISA, which are correlated with each other and clinical parameters of the patients.

RESULTS: A total of 88 patients, 69 were included in the study with a diagnosis of ischemic heart disease: 22 patients in the stable angina group, 24 in the NSTEMI and STEMI 23 in addition to 19 healthy subjects. Finding elevated levels of PAI-1 in patients with ischemic heart disease unlike the control group, the number of EPCs is reduced in patients with stable angina, in uncontrolled diabetes, in women and in elderly patients, in addition to adiponectin is elevated in patients with better cardiovascular Framingham risk and patients with higher numbers of HDL.

CONCLUSIONS: The amount of CPE is decreased in patients with stable angina and uncontrolled diabetes, which is a reflection of chronic endothelial dysfunction in these patients. Adiponectin is a useful biomarker that correlates inversely with cardiovascular risk patients

Keywords: Ischemic heart disease, endothelial progenitor cells, cardiovascular risk, adiponectin.

2. INTRODUCCIÓN:

Las enfermedades cardiovasculares (ECV), es decir, del corazón y de los vasos sanguíneos, son la principal causa de muerte en todo el mundo. (OMS, 2011); la cardiopatía isquémica es una patología importante dentro de este grupo, la cual es la enfermedad miocárdica consecutiva a isquemia por el déficit del riego coronario, siendo el sustrato fisiopatológico la aterosclerosis coronaria, que puede tener complicaciones tromboticas con la ruptura de la placa inestable o vulnerable, desarrollandose la aterotrombosis, donde la disfunción endotelial y la agregación plaquetaria juegan un papel importante.

La obesidad, resistencia insulínica, diabetes mellitus tipo 2, las dislipidemias, la carga genética, la edad y el género constituyen factores de riesgo importantes para la cardiopatía isquémica, ya que promueven la disfunción endotelial. (Harrison, 2007)

El término disfunción endotelial (DE) se refiere a una alteración en la capacidad del endotelio para mantener apropiadamente la homeostasis vascular, que incluye también un aumento en la producción de vasoconstrictores, alteraciones en la regulación de la inflamación, trombosis, angiogénesis y aumento del nivel plasmático de otros productos endoteliales (Widlansky, et al. 2003; Tabit, et al. 2010).

La búsqueda de marcadores bioquímicos de disfunción endotelial y predicción del riesgo de accidentes cardiovasculares ha concentrado la investigación de varios grupos, la confluencia de algunas de sus hipótesis destacan la activación de factores relacionados con la inflamación, trombosis y alteración endotelial. Las formas solubles de estas moléculas pueden ser detectadas en sangre periférica, sus niveles elevados se interpretan como marcadores de disfunción endotelial que revelan el inicio y/o progresión de cambios arterioscleróticos de la pared vascular.

Estudios experimentales y clínicos sugieren que existe una evolución del papel de las células progenitoras endoteliales en neoangiogénesis y el rejuvenecimiento del endotelio, además de que hay una estrecha interacción entre dichas células y los factores de riesgo cardiovascular; sin embargo, la función exacta de éstas en la patogénesis de la enfermedad arterial coronaria aún no se conoce, y su papel como un marcador pronóstico no está claro, por lo que es de suma importancia el estudio de estas células como un nuevo marcador

diagnóstico y pronóstico, relacionándolo con la cuantificación de otros biomarcadores, así como con las características clínicas de los pacientes.

Por lo tanto, en este trabajo nos enfocaremos a la medición de biomarcadores protrombóticos (Factor de Von Willebrand (FvW), Inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1), Complejo CD40/LCD40, Adiponectina y P- Selectina) mediante la técnica de ELISA, así como medición de PCR y Volumen plaquetario medio, los cuales se correlacionarán con la cantidad de Células Progenitoras Endoteliales (CPE) cuantificadas por citometría de flujo y los parámetros clínicos que presentan los pacientes mediante la realización de historias clínicas, para determinar si estos biomarcadores pudieran tener un valor diagnóstico y pronóstico para enfermedad cardiovascular isquémica.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 CARDIOPATÍA ISQUÉMICA

La cardiopatía isquémica constituye un síndrome caracterizado por una disminución del aporte de sangre oxigenada al miocardio que, desde un punto de vista estructural y funcional, afecta el libre flujo de sangre de una o más arterias coronarias epicárdicas o de la microcirculación coronaria. Su principal sustrato fisiopatológico lo constituye la aterosclerosis coronaria, definida como un complejo proceso inflamatorio y progresivo en donde intervienen numerosos mecanismos como la disfunción endotelial, la peroxidación lipídica, la sobre expresión de moléculas de adhesión celular, la trombosis intravascular entre otros. (IMSS, 2009).

La cardiopatía isquémica es la enfermedad miocárdica consecutiva a isquemia por el déficit del riego coronario. La isquemia miocárdica se inicia en el momento que la cantidad de oxígeno que llega a la miofibrilla es insuficiente para permitir un metabolismo celular aeróbico y este se convierte en anaeróbico. (Guadalajara, 2006).

Dentro de su etiología podemos encontrar alteraciones anatómicas como: la aterosclerosis coronaria, trombosis coronaria, embolia coronaria y arteritis coronaria; dentro de las causas funcionales: espasmo coronario, siendo la aterosclerosis la principal causa. (Guadalajara, 2006).

Así la cardiopatía isquémica se va a clasificar en angina crónica estable y síndromes coronarios agudos, los cuales se subdividen en angina inestable /Infarto agudo de miocardio sin elevación del segmento ST y en Infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST. (Kumar , 2009). La angina crónica estable se debe a la formación de una placa de ateroma estable, mientras que los síndromes coronarios agudos (SCA) son secundario a estenosis coronaria crítica debida a una ruptura de la placa de ateroma inestable con la formación de un trombo suboclusivo; en ambos casos se produce desequilibrio entre la demanda y el aporte de oxígeno al miocardio, desencadenando así el cuadro clínico característico (Kumar, 2009).

- Factores de riesgo Coronario:

Los principales factores de riesgo para cardiopatía isquémica crónica son: La diabetes mellitus (DM), la hipertensión arterial sistémica (HAS), el tabaquismo, la dislipidemia (DLP), la obesidad, la carga genética, el género y la edad. Estos factores de riesgo pueden ser modificables: Dieta, tabaquismo, ejercicio, alcohol; y no modificables: Edad, género, herencia. (Topol, 2004) (Guía española de hipertensión arterial, 2005).

3.1.1 ANGINA CRÓNICA ESTABLE (ANGOR ESTABLE O DE ESFUERZO):

Es la obstrucción anatómica de una o varias arteria coronarias, que puede producir un déficit de aporte sanguíneo cuando aumentan los requerimientos metabólicos del miocardio al realizar un ejercicio, esto es, se establece un desequilibrio aporte – demanda de oxígeno en el territorio miocárdico que es tributario de la arteria obstruida, con la consecuente isquemia y disminución contráctil del segmento afectado. Estas alteraciones son reversibles con reposo. (Guadalajara, 2006)

- Cuadro Clínico:

La angina crónica estable se manifiesta con dolor retroesternal opresivo, variable en intensidad (desde sensación de opresión hasta dolor muy intenso), difuso, cuyas irradiaciones cuando existen son hacia hombro izquierdo (a veces hacia uno o ambos hombros), al cuello, al maxilar inferior, hacia uno o ambos codos, raramente se refiere a espalda, esto acompañado de sensación de muerte; se relaciona con el esfuerzo y este desaparece con el reposo en un tiempo no mayor de 30 minutos y el síntoma es aliviado casi de inmediato con vasodilatadores de acción rápida (nitroglicerina o dinitrato de isosorbide por vía sublingual). (Guadalajara, 2006).

Este cuadro está aunado a fenómenos adrenérgicos (diaforesis) y vagales (nausea, vómito, eructos, sensación de defecación o de micción), síntomas que ceden con el reposo. (INCMNSZ, 2006).

3.1.2 ANGINA INESTABLE:

Cuadro producido por insuficiencia coronaria aguda y grave, también se le ha llamado angina inminente, angina preinfarto, síndrome preinfarto, la cual es causada por la obstrucción de uno o varios troncos coronarios que se ha complicado con la fractura de la placa de ateroma y ésta, a su vez, ha desencadenado la cascada de coagulación con la formación de trombo in situ, la obstrucción anatómica total o casi total intermitente por el trombo recién formado, la cual puede culminar con el infarto agudo al miocardio. (Guadalajara, 2006)

- Cuadro clínico:

Este tipo de angina se caracteriza por dolor anginoso de inicio en reposo.

3.1.3 INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO:

Se caracteriza por la oclusión parcial o completa de una arteria coronaria epicárdica debido a la ruptura o erosión de placas vulnerables, acompañada de un proceso trombótico que disminuye la perfusión de la microcirculación por la reducción del flujo de la arteria coronaria. (White, 2008).

- Cuadro Clínico:

Se presenta dolor precordial opresivo, aparece durante el reposo o el esfuerzo, irradia hacia ambos hombros, brazo izquierdo, maxilar inferior, de gran intensidad y puede llegar a ser intolerable, con duración mayor de 30 minutos, no cede con el reposo ni con vasodilatadores coronarios, acompañado por manifestaciones de reacción adrenérgica (diaforesis fría y palidez) o vagal (náusea y vómito). El infarto “indoloro” es más frecuente en los pacientes diabéticos, ancianos y mujeres. (Kumar, 2009)

- **Diagnóstico:**

Se realiza mediante la exploración física y el cuadro clínico: Se encuentra al paciente con intenso dolor precordial, angustia y signos de reacción adrenérgica (taquicardia, diaforesis fría, pálido y en ocasiones con elevación de presión arterial), se puede observar disnea, además en ocasiones puede presentar signos de bajo gasto cardiaco: hipotensión arterial y oliguria; que si están acompañados de bradicardia, sialorrea, broncoconstricción y vómito se establece el diagnóstico de reacción vagal. (Guadalajara, 2006)

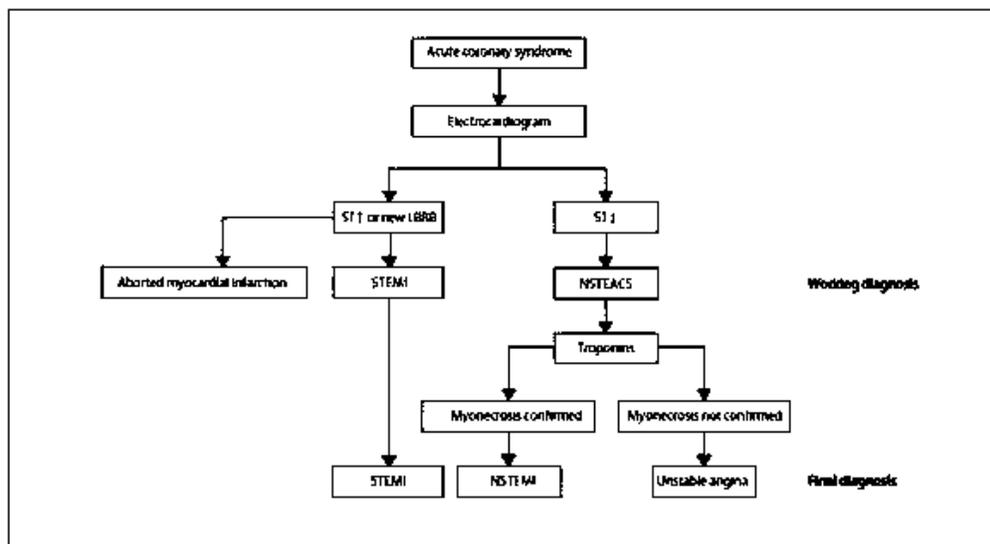
- **Electrocardiograma:** Donde se observan cambios en onda T y segmento ST.

Onda T	Onda T positiva acuminada y simétrica en derivaciones unipolares.	Isquemia Subendocárdica
	Onda T negativa y simétrica en derivaciones unipolares.	Isquemia subepicárdica.
Segmento ST	Supradesnivel del segmento ST (desnivel positivo)	Lesión subepicárdica.
	Infradesnivel del segmento ST (desnivel negativo)	Lesión subendocárdica.
Onda Q	Presencia de ondas Q anormales (más profundas de 1 mm y más anchas de 0,04")	Necrosis miocárdica.

Tabla 1. Cambios electrocardiográficos en cardiopatía isquémica.

- **Enzimas cardiacas:** Troponina T e I (Son las enzimas más sensibles y específicas para necrosis miocárdica), CPK, CPK-MB. (White, 2008)

Figura 1. Clasificación de los síndromes coronarios.



STEMI—ST-elevation myocardial infarction. NSTEMACS—non-ST-elevation acute coronary syndromes. NSTEMI—non-ST-elevation myocardial infarction. LBBB—left bundle branch block.

White, 2008

Pudiendo así realizar el diagnóstico de Infarto agudo de miocardio con Elevación del segmento ST (IAMCEST) si existe elevación de enzimas cardíacas y elevación del segmento ST en el electrocardiograma; Infarto agudo de miocardio sin elevación del segmento ST (IAMSEST) si existe elevación de enzimas cardíacas sin cambios en el electrocardiograma o depresión del segmento ST; o Angina inestable si no existe elevación de enzimas cardíacas y existe depresión del segmento ST o ausencia de cambios electrocardiográficos (Figura 1).

3.2 ATEROSCLEROSIS

La aterosclerosis es una enfermedad vascular de evolución crónica, dinámica y evolutiva que aparece por el concurso de tres factores principales: Disfunción endotelial, inflamación y trombosis. Se caracteriza por la oclusión progresiva de las arterias por placas de ateroma que pueden llegar a producir insuficiencia arterial crónica (angina de pecho, isquemia cerebral transitoria o angina mesentérica) o bien déficit agudo de la circulación por trombosis oclusiva (infarto de miocardio, cerebral o mesentérica). (Guadalajara, 2006). La aterosclerosis y los procesos trombóticos asociados a la rotura de placas vulnerables son la principal causa de eventos cardiovasculares. (Badimón, 2009).

3.2.1 FORMACIÓN DE LA PLACA ATEROMATOSA

3.2.1.1 LESION ENDOTELIAL:

Cuando por cualquier razón (estrés de cizallamiento, inflamación, sustancias proteolíticas, etc.) hay denudación del endotelio, las plaqueta se adhieren a la colágena contenida en la íntima a través de sus receptores Ia/Ib a este fenómeno se le denomina adhesión plaquetaria en un intento de reparar la lesión endotelial, lo cual es seguido de agregación plaquetaria o sea, se forman conglomerados de plaquetas que se fijan a otras a través de redes de fibrina que se unen a los receptores IIb/IIIa de las plaquetas. De esta manera se forma el “trombo blanco” que repara la denudación endotelial. Así, cuando se presenta denudación endotelial la adhesión y la agregación plaquetaria restauran la integridad del endotelio, cabe mencionar que en la lesión endotelial juegan un papel primordial las células progenitoras endoteliales que se movilizan rápidamente hacia el sitio lesionado para lograr su restauración. (Guadalajara, 2006) (Martínez- Murillo 2008).

3.2.1.2 INICIO DE LA ATEROSCLEROSIS:

El aumento de colesterol plasmático favorece que estas moléculas traspasen el endotelio, cuando existen moléculas de colesterol en el subendotelio, se inicia el acúmulo de monocitos en los sitios predispuestos del endotelio arterial, la adhesión está mediada por moléculas de adhesión leucocitaria al endotelio (ELAMs) y por secreción de citocinas adhesivas como la interleucina 1-B y el factor estimulante de colonias de monocitos. Ya adheridas, emigran al espacio subendoelial guiadas por una sustancia llamada factor quimiotáctico derivado de las células del músculo liso (MCP-1), la oxidación de las LDL aumenta su producción favoreciendo la acumulación de monocitos en el endotelio vascular. (Topol, 2004).

3.2.1.3 FORMACIÓN DE LAS CÉLULAS ESPUMOSAS:

Cuando los monocitos alcanzan el subendotelio, se transforman en macrófagos y fagocitan los esteres de colesterol depositados. Los macrófagos cargados de esteres de colesterol se denominan células espumosas.

3.2.1.4 FORMACIÓN DE LA PLACA DE ATEROMA:

Las células espumosas y los esteres de colesterol contenidos en el subendotelio forman el núcleo lipídico de la placa aterosclerosa. Los radicales superóxidos producidos oxidan las lipoproteínas de baja densidad contenidas en el núcleo lipídico generando un intenso proceso inflamatorio que promueve la migración de células del músculo liso, síntesis de colágena y atracción de linfocitos T, con el fin de formar una membrana fibrosa que aisle el proceso inflamatorio del resto de la pared arterial. Así la placa aterosclerosa queda formada por el núcleo lipídico y por la membrana fibrosa. (Guadalajara, 2006).

3.2.1.5 PROGRESIÓN DE LA PLACA ATEROSCLEROSA:

Ya formada la placa aterosclerosa, sigue penetrando colesterol y monocitos al subendotelio. El intenso proceso inflamatorio producido por la placa aterosclerosa en el subendotelio es capaz de producir denudación endotelial que de inmediato intenta ser separado por adhesión plaquetaria, activadas por trombina, tromboxano A₂, adenosin difosfato (ADP) los cuales favorecen la expresión de los receptores plaquetario IIIb/IIIa y así la activación plaquetaria. Así la erosión endotelial promueve la presencia del trombo blanco (agregación plaquetaria) y el trombo rojo (microtrombosis), formándose una placa ateromatosa que primero protruye levemente en la íntima arterial y después obstruye la luz arterial de forma progresiva. Cuando la placa aterosclerosa ya está formada, puede tener dos complicaciones: la trombosis vascular aguda o la obstrucción vascular progresiva. (Guadalajara, 2006)

3.2.1.6 PLACA ATEROSCLEROSA VULNERABLE:

Placa aterosclerosa que tiene un gran núcleo lipídico, una membrana fibrosa delgada, un gran proceso inflamatorio y está expuesta a estrés de cizallamiento, esta se encuentra susceptible para romper su placa fibrosa y producir trombosis arterial aguda oclusiva o suboclusiva. (Guadalajara, 2006). Estas placas una vez rotas son las más trombogénicas, el grado de rotura de la placa de ateroma es clave para determinar la trombogenicidad local de la arteria. Estas complicaciones trombóticas y estados hipercoagulables están asociadas a factores de riesgo cardiovascular como DM, hiperlipidemia y tabaco, concretamente en pacientes con SCA, las cifras elevadas de lípidos

predisponen a la rotura de placas vulnerables, mientras que el tabaquismo predispone a la trombosis aguda.(Sambola, 2003).

La placa vulnerable está en relación con los síndromes coronarios agudos: angina inestable o infarto de miocardio.

3.2.1.7 PLACA ATEROSCLEROSA ESTABLE:

Es la que tiene un núcleo lipídico pequeño y una membrana fibrosa gruesa, esta causa reducción considerable de la luz arterial, produciendo déficit del riego tisular, por lo que están en relación con la angina de pecho estable.

3.3 ATEROTROMBOSIS

La patogenia de la enfermedad coronaria implica dos procesos interdependientes: la aterosclerosis y la trombosis. De ahí que se emplee el término de aterotrombosis, que es un proceso crónico dinámico de la pared vascular en el cual, durante las fases de inflamación y actividad trombótica, subyace la presentación de los síndromes coronarios agudos. (Sambola, 2003). También es definido como un proceso arterial progresivo y difuso caracterizado por una imprevisible y repentina ruptura de una placa aterosclerótica que lleva a la activación plaquetaria y a la formación de trombos con consecuencias potencialmente mortales tales como infarto de miocardio, evento cerebral vascular isquémico y muerte por causa vascular. (Topol, 2004).

3.4 ACTIVACIÓN PLAQUETARIA

Las plaquetas además de su función en la trombosis y la hemostasis, contribuyen a la activación endotelial y modulan respuestas inflamatorias, con lo que favorecen el inicio y la formación de lesiones ateroscleróticas y sus posteriores complicaciones trombóticas. (Badimón, 2009).

Al existir daño endotelial, la colágena queda expuesta y se inician los mecanismos de interacción entre subendotelio y las plaquetas con la adhesión al unirse la colágena con las plaquetas a través de glucorreceptores o glucoproteínas (Gp) localizadas en la superficie

de las plaquetas, posteriormente el FvW sintetizado y liberado del endotelio participa en la adhesión plaquetaria al formar un puente entre el subendotelio y las plaquetas a través de la unión a otras glucoproteínas. La fibronectina, vitronectina y la laminina son otras proteínas adhesivas que fortalecen la unión entre las plaquetas y el vaso sanguíneo. El factor activador plaquetario (PAF) favorece la activación intraplaquetaria generando interacción plaqueta con plaqueta para formar un tapón hemostático. (Martínez- Murillo, 2008). Una vez activadas las plaquetas sufren un cambio conformacional, originando los procesos de activación plaquetaria: Degranulación plaquetaria (Exocitosis del contenido de los gránulos alfa (PAI-1, FvW, P-selectina, etc) y densos (ADP, Serotonina, etc) que son clave en la función plaquetaria y el reclutamiento de nuevas plaquetas); Síntesis de eicosanoides (prostaglandinas y tromboxano A2); Expresión de proteínas de adhesión (P-Selectina, FvW, etc, que amplifican y perpetúan la adhesión plaquetaria); Exposición de una superficie plaquetaria procoagulante (Cambio de la morfología plaquetaria a una esfera que favorece la exposición en la membrana, hecho por lo que es importante la medición del volumen plaquetario medio). (Badimón, 2009) (Martínez- Murillo 2008)

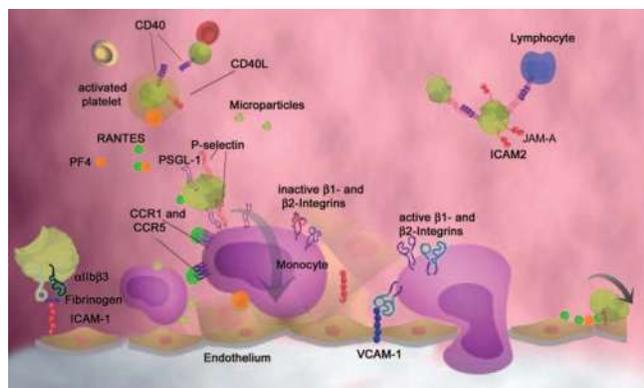


Figura 2. Activación plaquetaria.

La agregación plaquetaria se iniciará por la expresión de los receptores IIb/IIIa, que serán interligados por el fibrinógeno, estableciéndose la interacción plaqueta-plaqueta, formando el trombo plaquetario. Cuando la ruptura de la capa fibrosa de la placa aterosclerótica deja expuesto el material lipídico del ateroma junto a la expresión del factor

tisular (FT), potente pro-coagulante, activará el factor VII, desencadenando la formación del trombo por la activación del factor X y de la trombina. (Toros-Xavier, 2005).

3.5 BIOMARCADORES PROTROMBÓTICOS Y DE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

La búsqueda de marcadores bioquímicos de Disfunción endotelial y predicción del riesgo de accidentes cardiovasculares ha concentrado la investigación de varios grupos, la confluencia de algunas de sus hipótesis destacan la activación de factores relacionados con la inflamación, trombosis y alteración endotelial. Formas solubles de estas moléculas pueden ser detectadas en sangre periférica, sus niveles elevados se interpretan como marcadores de disfunción endotelial que revelan el inicio y/o progresión de cambios ateroscleróticos de la pared vascular. En este trabajo nos enfocaremos a la medición de biomarcadores protrombóticos (FvW, PAI-1, sCD40L, P- Selectina), Adiponectina y CPE, los cuales se correlacionarán con la PCR y niveles de lipoproteínas.

3.5.1 Proteína C Reactiva:

La inflamación se ha identificado como un elemento primordial en el proceso de la aterosclerosis, esto ha llevado a los cardiólogos a identificar los marcadores de inflamación como predictores de episodios en individuos sin antecedentes y de complicaciones tras un síndrome coronario agudo. A partir de un foco inflamatorio (placa inestable, lesión miocárdica, tejido adiposo) se liberan citocinas (interleucina [IL] 1 y 6 o factor de necrosis tumoral alfa [TNF- α]) que estimulan al hígado para producir reactantes de fase aguda (PCR, fibrinógeno, sustancia amiloide); una mayor inflamación provocará una mayor liberación de reactantes, por lo que se considera que la PCR tiene un importante papel predictor en el síndrome coronario agudo. (Bodí, 2002).

La PCR es un reactante de fase aguda que sirve como marcador inflamatorio, se produce fundamentalmente en el hígado en respuesta a la interleucina 6 y puede ser un marcador de aterosclerosis subclínica ya que su concentración se correlaciona con el grosor íntima-media y con el grado de calcificación de las arterias coronarias y predice el riesgo de un nuevo evento, tanto en sujetos con enfermedad coronaria estable como en sujetos con

síndrome coronario agudo. El tratamiento con estatinas reduce la PCR y hay una mejor evolución clínica cuanto más baja sea la concentración de PCR alcanzada. (Lahoz, 2007).

La concentración elevada de PCR es un factor pronóstico independiente en pacientes con síndromes coronarios agudos y angina estable, así como en pacientes con enfermedad vascular periférica, demostrándose en diversos estudios la existencia de una asociación significativa entre la PCR y el riesgo cardiovascular, encontrándose que los pacientes con eventos isquémicos tenía una PCR más elevada que los pacientes sin eventos. Por lo que la PCR es un potente predictor de mortalidad precoz en pacientes con síndromes coronarios agudos. (García-Moll, 2000).

3.5.2 Lipoproteínas:

Son estructuras compuestas de proteínas y fosfolípidos que facilitan el transporte de lípidos en el torrente circulatorio (Badimón, 2009), se clasifican de acuerdo a su densidad en lipoproteínas de baja densidad (LDL): la retención de LDL en la íntima arterial es un proceso clave en el inicio de la progresión de la lesión aterosclerótica ya que dispara un proceso inflamatorio local; lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) las cuales son producidas en el hígado y cuando sus niveles séricos están aumentados se correlacionan con mayores concentraciones de fibrinógeno, mayor expresión del PAI-1 y activación del factor VII; y lipoproteínas de alta densidad (HDL), las cuales están relacionadas con un enorme poder antiteratogénico, representado por el transporte reverso del colesterol de los tejidos periféricos al hígado, acciones antiinflamatorias y antioxidantes del plasma y la pared arterial. (Toros-Xavier, 2005).

3.5.3 Sistema CD40/LCD40:

El sistema CD40/LCD40 son glicoproteínas transmembranales de 39-kD, relacionada estructuralmente con el TNF- α . Se expresan principalmente en los monocitos/macrófagos, células endoteliales, células del músculo liso y plaquetas (Tedgui, 2005). La interacción de este sistema en estas células provoca una serie de eventos que ocurren en la pared vascular y en la circulación durante la respuesta inflamatoria en curso, los cuales se identifican en un fenotipo inflamatorio y protrombótico observado tanto en los estadios tempranos como tardíos de aterosclerosis (Santilli et al, 2007). Al unirse el LCD40 sobre las células endoteliales y las células del músculo liso induce la expresión de

moléculas de adhesión tales como VCAM-1, ICAM-1 y P-selectina, las cuales promueven el reclutamiento y extravasación de monocitos y linfocitos en el sitio de la lesión vascular. Este es también promovido por la secreción inducida por LCD40 de citocinas como la IL-1, IL-6 y TNF- α por varias células. Finalmente las señales de CD40 inducen la expresión del Factor tisular, el cual promueve la coagulación sanguínea (Santilli et al, 2007). En conjunto todos estos eventos contribuyen al desarrollo de aterosclerosis. Por lo que el sCD40L es considerado un marcador clínico de eventos cardiovasculares y predictor de riesgo cardiovascular.

3.5.4 Factor de von Willebrand (FvW):

El FvW es una glicoproteína multimérica con un tamaño de 500 a 20,000 kDa y tiene 3 funciones biológicas principales: acarreador y protector del factor procoagulante VIII, mediador de la adhesión plaquetaria a la matriz sub-endotelial de los vasos sanguíneos dañados y mediador de la agregación plaquetaria. Actúa como puente de unión entre las glicoproteínas Ib (vía clásica) o IIb-IIIa (vía alternativa) expresadas en la superficie plaquetaria. Es sintetizado por las células endoteliales y los megacariocitos. Se almacena en los cuerpos de Weibel-Palade de las células endoteliales y en los gránulos alfa plaquetarios; la regulación de su liberación de estos sitios no se conoce completamente, se sabe que inductores de fase aguda como las citocinas proinflamatorias promueven su liberación. Los niveles plasmáticos de esta proteína han sido relacionados a DE en varios desórdenes vasculares (Virgós-señor et al, 2008) y DM2 (Ouviña et al, 2004)

3.5.5 Inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1):

En condiciones normales las células endoteliales producen activador tisular del plasminógeno (t-PA) para la formación de plasmina a partir del plasminógeno, actúa en unión a la trombina en el proceso de fibrinólisis. Sin embargo, el endotelio "activado" o disfuncional genera tanto tPA como uPA (activador tipo urikonasa) en presencia de trombina, disminuye su síntesis en respuesta a la IL-1 o TNF- α . Simultáneamente, las células endoteliales producen inhibidores del activador del plasminógeno (PAI-1 y PAI-2), enzimas tipo serín-proteasas capaces de unirse e inactivar a los tPA y uPA, alterando la fibrinólisis. La trombina, IL-1 y TNF- α aumentan los niveles de PAI-1, potenciando, los mecanismos de aterogénesis al favorecer el depósito de fibrina en la pared arterial. Las

causas desencadenantes de esta hiperproducción de inhibidores de la fibrinólisis permanecen inciertas, la insulina parece regular sus niveles plasmáticos, por lo que la resistencia a la insulina altera los niveles de PAI-1 (Pandolfi , 2005; Tedgui, 2005).

3.5.6 P-Selectina:

La P-selectina es una proteína transmembranal que se expresa en la superficie de plaquetas activadas. Es una proteína de adhesión para neutrófilos, monocitos y células T, aunque la P-selectina soluble está presente en sujetos normales, se encuentra elevada en pacientes con glomerulonefritis proliferativa, problemas trombóticos, preeclampsia-eclampsia y diabetes mellitus insulino-dependiente autoinmune. (Salazar-Exaire, 2004). Es un importante marcador de enfermedad vascular, dado que se ha demostrado que las plaquetas aumentan la expresión de esta proteína en su superficie a medida que evoluciona la formación de lesiones ateroscleróticas. (Badimón, 2009).

3.5.7 Adiponectina:

La adiponectina es una proteína constituida por 244 aminoácidos producida en los adipocitos, su concentración en sangre guarda una relación inversa al índice de masa corporal y al grado de resistencia a la insulina; aumenta la expresión de moléculas que participan en el transporte de ácidos grasos, la oxidación de ácidos grasos y el gasto energético, reduce en el hígado la producción de moléculas que participan en la gluconeogénesis, por lo que favorece a la disminución de los niveles de glucosa sanguínea y el aumento de la sensibilidad a la insulina, además que inhibe de manera importante la formación de moléculas de adhesión. Su concentración es particularmente baja en pacientes con DM2, enfermedad coronaria aterosclerosa e hipertensión. (Domínguez- Reyes 2007). Se ha sugerido que la adiponectina protege contra la aterosclerosis y disminuye los riesgos de infarto de miocardio, además de que protege algunas subpoblaciones CPE contra la apoptosis y , por tanto, podría modular la capacidad de las CPE para inducir la reparación del daño vascular . (Levoie, 2011).

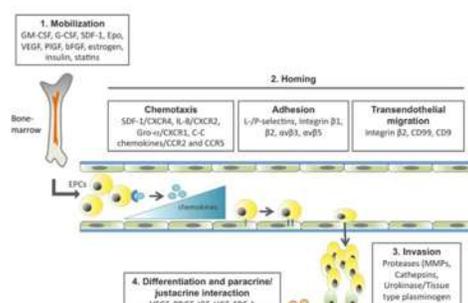
3.5.8 Volumen plaquetario medio:

Las plaquetas tienen un papel predominante en la patogenia de los síndromes coronarios agudos: angina inestable, infarto de miocardio y muerte súbita. En la actualidad se admite que el tamaño de las plaquetas es un indicador sensible de su reactividad y que la

magnitud de ésta es un factor determinante en la formación del trombo intracoronario en presencia de rotura de la placa aterosclerótica. Estudios han demostrado un volumen plaquetario medio más alto en pacientes con infarto agudo de miocardio que en aquellos ingresados por dolor torácico, pero sin evidencia de infarto de miocardio. Se ha sugerido que un tamaño plaquetario elevado está presente antes de que el infarto de miocardio suceda, reflejando un estado protrombótico que podría desempeñar un papel importante en la patogenia del episodio coronario agudo. Se ha demostrado que un volumen plaquetario aumentado en la fase crónica del infarto de miocardio se asocia con un incremento significativo del riesgo de muerte y de sucesos isquémicos, fatales y no fatales, en los dos años siguientes al episodio coronario. (Pabón-Osuna, 1998).

3.6 CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES:

Las células progenitoras endoteliales son células inmaduras circulantes producidas en la médula ósea con la capacidad de diferenciarse en endotelio maduro y formar parte del mecanismo de neoangiogénesis (Asahara et al, 1997), además han sido implicados en la neoangiogénesis después de que la isquemia del tejido se ha producido, por lo que son capaces de proliferar y diferenciarse en células endoteliales. (Werner et al, 2005), contribuyendo a la reparación de vasos sanguíneos lesionados principalmente a través del mecanismo de vasculogénesis. (Murasawa, 2005). Las CPE circulan en la sangre periférica humana adulta y se movilizan desde la médula ósea por citoquinas, factores de crecimiento (factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el factor de crecimiento hepatocitario (HGF), como resultado de la lesión endotelial) y las condiciones isquémicas. (Murasawa, 2005). Existen dos linajes: las hematopoyéticas y las endoteliales, (Fadini et al, 2005) que pueden mobilizarse a sangre periférica en respuesta a varios estímulos (Aicher et al, 2005) como la isquemia tisular, factores de crecimiento y citocinas. Así la regulación adecuada de la señalización existente entre la médula ósea, la circulación periférica y el miocardio infartado es de gran importancia para la organización del proceso de movilización, alojamiento (homing), incorporación, supervivencia, proliferación y



diferenciación de las células madre que conduce a la regeneración del miocardio (Jiménez-Navarro, 2011).

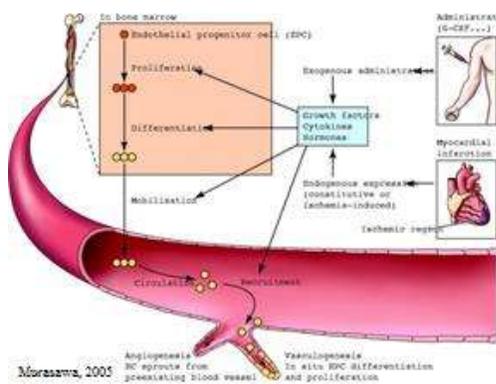


Figura 3. Movilización de CPE

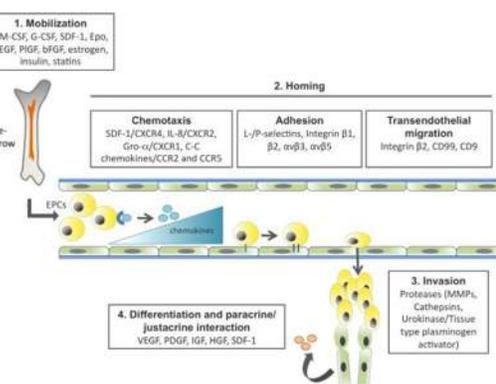


Figura 4. Integrinas y CPE

Las CPE fueron descritas desde 1997 por Asahara y cols, en 1994, Rafii demostró la existencia de células progenitoras endoteliales derivadas de médula ósea en el adulto. En 2003, Hill y cols, observaron relación inversa entre el número de CPE circulantes y los factores de riesgo cardiovascular medidos por el Score de Framingham. Así se estableció que las CPE mejoran la angiogénesis, promueven la reparación vascular, mejora la función endotelial, inhibe la aterosclerosis e incrementa la función ventricular luego del infarto. (Gagliardi, 2007).

La cantidad de CPE circulantes está actualmente considerada como un reflejo de la salud cardiovascular (Fadin, 2007). Prácticamente todos los factores de riesgo para aterosclerosis han sido asociados con disminución y/o disfunción de las CPE circulantes (Werner y Nickenig, 2006), así como un aumento de las CPE circulantes está asociada a una disminución de la mortalidad cardiovascular (Werner, 2005).

Las CPE circulantes pueden ser cuantificadas *ex-vivo* usando citometría de flujo, que es considerada el estándar de oro para este propósito (Rustemeyer et al, 2006); los antígenos de superficie típicos identificados en las CPE son CD34, CD133 y KDR. Recientemente se han definido las CPE fenotípicamente con el empleo de un marcador de membrana adicional, el CD45+. (Jiménez-Navarro, 2011). Las características funcionales son examinadas *in vitro* utilizando protocolos estandarizados (Urbich y Dimmeler, 2004).

Se ha demostrado que el número de CPE circulantes en sujetos sanos es relativamente baja y que el ejercicio físico programado podría determinar un aumento de la producción y circulación de CPE. (Gagliardi, 2007), los pacientes diabéticos tipo 1 y Tipo 2 tienen menos CPE circulantes comparados con sujetos sanos.(Fadini , 2005; Loomans, 2004). En el caso de pacientes con enfermedad cardiovascular, la acumulación de factores de riesgo cardiovascular o de un mayor riesgo general se asocia con disfunción y la disminución del número de células progenitoras endoteliales, por lo que predice la ocurrencia de eventos cardiovasculares y muerte por causas cardiovasculares y puede ayudar a identificar pacientes con riesgo cardiovascular elevado. (Werner et al, 2005).

En la enfermedad coronaria se observó un número menor de CPE circulantes, los pacientes con angina inestable tienen niveles mayores de CPE que los pacientes con angina estable. En los procesos isquémicos agudos el número de CPE aumenta pero parece que la presencia de múltiples factores de riesgo las reduce (Gagliardi, 2007).se ha encontrado mayor número de CPE en sangre periférica en los pacientes con infarto y enfermedad monovaso, en comparación con infarto y enfermedad multivaso. (Jiménez-Navarro, 2011). La extensión del IM se correlaciona con el número de células movilizadas. (Dominguez-Franco, 2011).Los fumadores presentan niveles reducidos de CPE y células CD34-/KDR. Una historia familiar positiva de enfermedad coronaria se asocia con reducción de las células CD34-/KDR. La hipertensión es un predictor importante para la alteración de la migración de EPC. Los pacientes con enfermedad arterial coronaria presentan niveles reducidos y deterioro funcional de CPE, que se correlaciona con la consiguiente vascularización alterada en estos pacientes. (Vasa, 2001).Se ha encontrado que la reducción del número de CPE se asocia con una incidencia significativamente mayor de eventos cardiovasculares, siendo su reducción predictor significativo e independiente de mal pronóstico (Schmidt-Lucke, 2005).El número CPE disminuye con la edad observándose disminución del número CPE con la edad avanzada y varía de acuerdo al género, siendo significativamente menor en las mujeres y mayor en los sujetos en tratamiento con estatinas, IECAs y ARAII. Se ha correlacionado positivamente con el consumo moderado de alcohol. Aumenta con el riesgo cardiovascular estimado por la Puntuación de riesgo de Framingham y se ha demostrado una asociación inversa significativa entre el número CPE y la extensión de la aterosclerosis carotídea. (Xiao, 2007).

4. JUSTIFICACIÓN:

La enfermedad cardiovascular isquémica es la primer causa de muerte en el mundo, actualmente estudios experimentales y clínicos sugieren que existe una evolución del papel de las células progenitoras endoteliales en neoangiogénesis y el rejuvenecimiento del endotelio, además de que hay una estrecha interacción entre dichas células y los factores de riesgo cardiovascular; sin embargo, la función exacta de éstas en la patogénesis de la enfermedad arterial coronaria aún no se conoce, y su papel como un marcador pronóstico no está claro.(Werner et al, 2005), por lo que es de suma importancia el estudio de estas células como un nuevo marcador diagnóstico y pronóstico, relacionándolo con la cuantificación de otros biomarcadores de disfunción endotelial, así como con las características clínicas de los pacientes.

5. HIPÓTESIS:

La cantidad de células progenitoras endoteliales circulantes se encuentran disminuida en pacientes con enfermedad cardiovascular isquémica y presentan correlación negativa con los biomarcadores protrombóticos.

6. OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO GENERAL:

Correlacionar la cantidad de células progenitoras endoteliales circulantes con los niveles plasmáticos de biomarcadores protrombóticos de daño endotelial en pacientes con enfermedad cardiovascular isquémica.

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Medir el porcentaje de Células Progenitoras Endoteliales Circulantes (EPC) así como el número de células CD34+
- Determinar los niveles plasmáticos de FvW, LCD40s, PAI-1, P-selectina y Adiponectina por el método de ELISA.
- Correlación de biomarcadores y EPC con diferentes factores de riesgo y tratamiento en los pacientes.
- Correlación con pacientes sometidos a ICP con stent coronario.
- Correlación con la evolución clínica y presencia de eventos cerebro cardio vasculares mayores (ECCVM) de los enfermos a 30 días y 6 meses.
- Determinar variaciones relacionadas con tratamientos establecidos.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 SITIO DEL ESTUDIO

- Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez”
 - Laboratorio de Hemostasia y Biología Vascular
- Hospital General de Morelia “Dr. Miguel Silva”
 - Servicio de Cardiología
- **Pacientes.** Se incluyeron en el estudio pacientes con diagnóstico de Cardiopatía isquémica que acuden a la consulta del Servicio de Cardiología del Hospital General de Morelia, del 1 de Marzo de 2013 al 31 de Diciembre de 2013.

7.2 MUESTRA

Se incluyeron en el estudio a todos los pacientes con Cardiopatía Isquémica que acudieron a la consulta de Cardiología y/o servicio de Hemodinamia en el periodo comprendido entre Marzo de 2013 a Diciembre de 2013, que aceptaron participar en el estudio y firmaron carta de consentimiento informado.

Se formó un grupo de 69 pacientes con diagnóstico de cardiopatía isquémica:

- 22 pacientes con el diagnóstico de Angina estable
- 24 pacientes con el diagnóstico de Infarto agudo de miocardio sin elevación del segmento ST (IAMSEST)/ angina inestable
- 23 pacientes con el diagnóstico de Infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST (IAMCEST)

7.3 GRUPO CONTROL

Se integró un grupo de individuos sanos pareados por edad y género (± 2 años) con los pacientes del grupo de estudio. (19 sujetos).

Completando una muestra de 88 pacientes.

7.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

- **Tipo de estudio. Estudio de cohorte y casos y controles.** Prospectivo, comparativo, Longitudinal.
- **Periodo del estudio:** Marzo 2013- Enero 2014

7.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes de entre 40 y 85 años de edad.
 - Pacientes con diagnóstico de angina de esfuerzo o cardiopatía isquémica demostrada por métodos no invasivos.
 - Pacientes con diagnóstico de SCA con y sin elevación del Segmento ST.

7.6 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes en los que se descarte cardiopatía isquémica por angiografía coronaria o métodos no invasivos.
- Pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas agregadas, Fibrilación auricular, Insuficiencia Renal Crónica grave, Síndromes mielodisplásicos, etc.

7.7 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Pacientes cuyas muestras biológicas no hayan sido procesadas/almacenadas en las condiciones idóneas y por lo tanto no aseguren su calidad biológica.
- Pacientes cuyas muestras sanguíneas resulten lipémicas o hemolizadas.
- Pacientes que no estén dispuestos a participar ni a firmar el consentimiento informado.

7.8 PROCEDIMIENTOS

- El estudio se realizó en el Hospital General “Dr. Miguel Silva” en la consulta externa del Servicio de Cardiología. Los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, se les invitó a participar, después de firmar la carta de consentimiento informado.

- En todos los participantes se realizó:

7.8.1 HISTORIA CLÍNICA

Con énfasis en el interrogatorio de factores de riesgo cardiovascular y la medición de presión arterial, peso, talla, índice de masa corporal, circunferencia abdominal. A partir del interrogatorio se determinó grado de insuficiencia cardíaca y grado de angina de acuerdo a las escalas que se muestran en las tablas 2 y 3 (Villar, 2010), así como la determinación del grado de riesgo cardiovascular utilizando la escala de Framingham que se muestra en la figura 5 (Meco, 2002).

Se realizó toma de muestra de sangre periférica mediante venopunción de antebrazo con sistema vacutainer de recolección al vacío para realizar: Biometría Hemática (Volumen plaquetario medio), Glucosa, Urea, Creatinina, Ácido úrico, perfil de lípidos, PCR, en el laboratorio del H. General “Dr. Miguel Silva”. Además se obtuvo suero y plasma por centrifugación, mismos que se congelaron para la posterior realización de ensayos ELISA, y una muestra con EDTA se utilizó para la inmunofenotificación y cuantificación de Células progenitoras endoteliales por citometría de flujo.

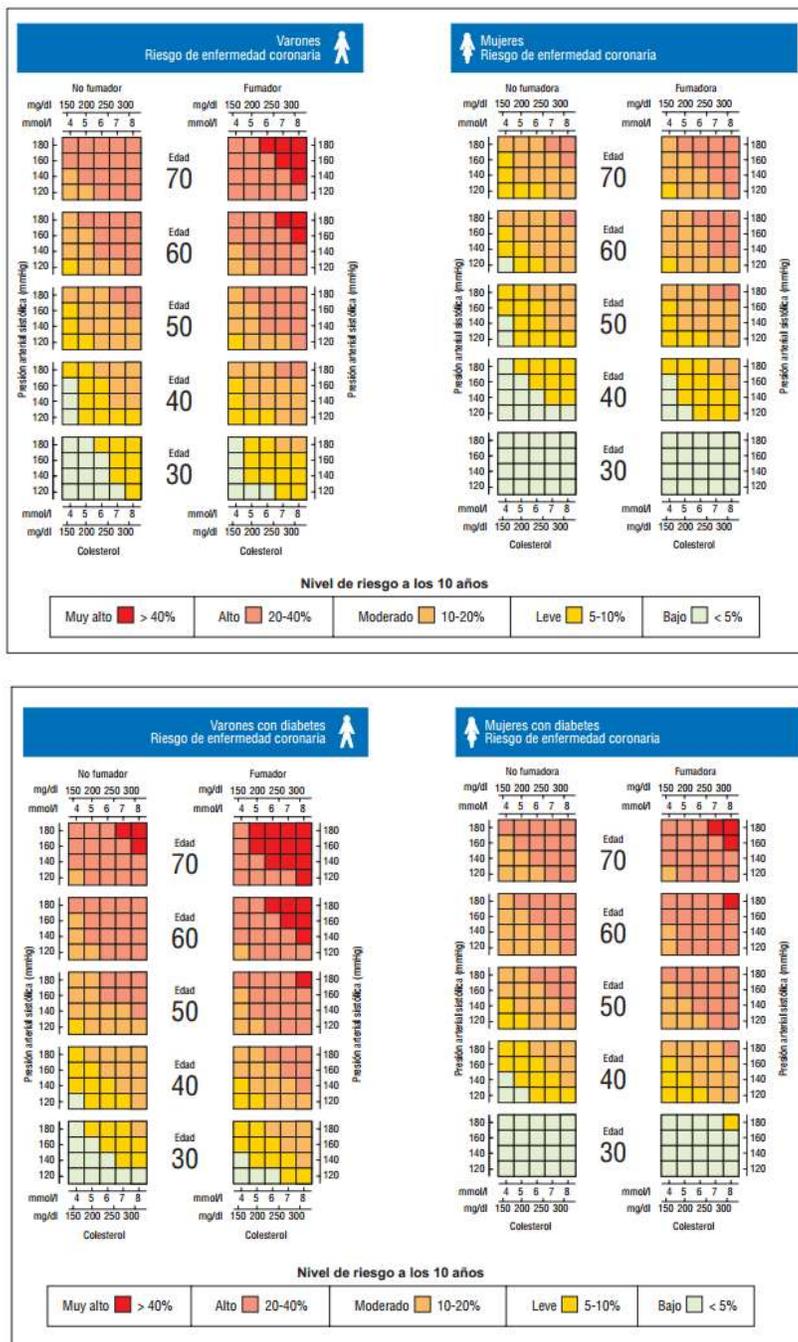
Tabla 2 Clasificación funcional de la New York Heart Association²

Clase I	No limitación de la actividad física. La actividad ordinaria no ocasiona excesiva fatiga, palpitaciones, disnea o dolor anginoso.
Clase II	Ligera limitación de la actividad física. Confortables en reposo. La actividad ordinaria ocasiona fatiga, palpitaciones, disnea o dolor anginoso.
Clase III	Marcada limitación de la actividad física. Confortables en reposo. Una actividad física menor que la ordinaria ocasiona fatiga, palpitaciones, disnea o dolor anginoso.]
Clase IV	Incapacidad para llevar a cabo cualquier actividad física sin discomfort. Los síntomas de insuficiencia cardíaca o de síndrome anginoso pueden estar presentes incluso en reposo. Si se realiza cualquier actividad física, el discomfort aumenta.

Tabla 3 Escala de la Canadian Cardiovascular Society para la graduación de la angina¹

Clase I	La actividad física ordinaria, como caminar o subir escaleras, no causa angina. La angina aparece ante esfuerzos extenuantes, rápidos o prolongados en el trabajo o tiempo libre.
Clase II	Ligera limitación de la actividad física ordinaria. La angina aparece al caminar o subir escaleras rápido, subir cuevas o escaleras después de las comidas, o con frío o viento, o bajo estrés emocional o sólo en las horas siguientes a levantarse por la mañana. Puede caminar más de 2 manzanas y subir un piso de escaleras a un ritmo y condiciones normales.
Clase III	Marcada limitación de la actividad física ordinaria. La angina aparece al caminar 1 ó 2 manzanas y al subir un piso de escaleras a un ritmo y condiciones normales.
Clase IV	Incapacidad para realizar ninguna actividad sin discomfort. La angina puede aparecer en reposo.

Figura 5. Tablas para determinar el grado de riesgo cardiovascular utilizando la escala de Framingham.



7.8.2 INMUNOFENOTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CPE POR CITOMETRÍA DE FLUJO

La citometría de flujo es una técnica de análisis celular que implica medir las características de dispersión de luz y fluorescencia que poseen las células conforme se las hace pasar a través de un rayo de luz.

- Se realizó cuantificación de células progenitoras endoteliales utilizando el citómetro de flujo FacsCalibur de la marca Becton Dickinson del laboratorio del HGR No. 1 del IMSS. Se teñeron 1,000,000 células de sangre periférica con los anticuerpos monoclonales específicos CD45, CD34 y KDR durante 30 minutos a en frío, se lavaron 2 veces con PBS, centrifugándose posteriormente a 1500 rpm durante 5 minutos, se lisaron los eritrocitos con cloruro de amonio incubándolos a 4 °C por 30 minutos, posteriormente se lavaron 2 veces con PBS y nuevamente se centrifugaron a 1500rpm durante 5 minutos, el botón celular se resuspendió en 1 mL de PBS al 1% de formaldehído. Se cuantificaron 750,000 eventos en el citómetro de flujo y se determinó el porcentaje de células positivas con el software Cell Quest Pro.

Figura 6. Procedimiento para inmunofenotificación de células progenitoras endoteliales:

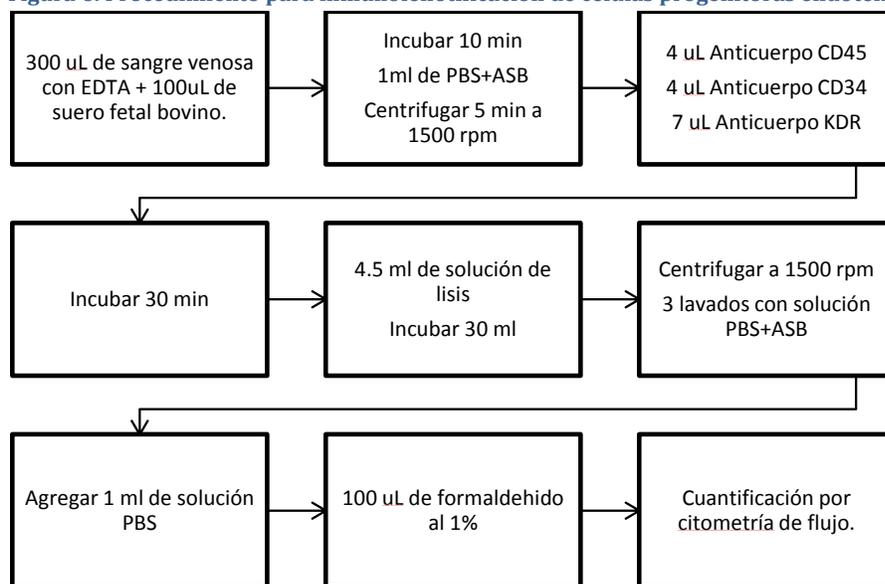


Figura 7. Cuantificación de CPE en citómetro de flujo.

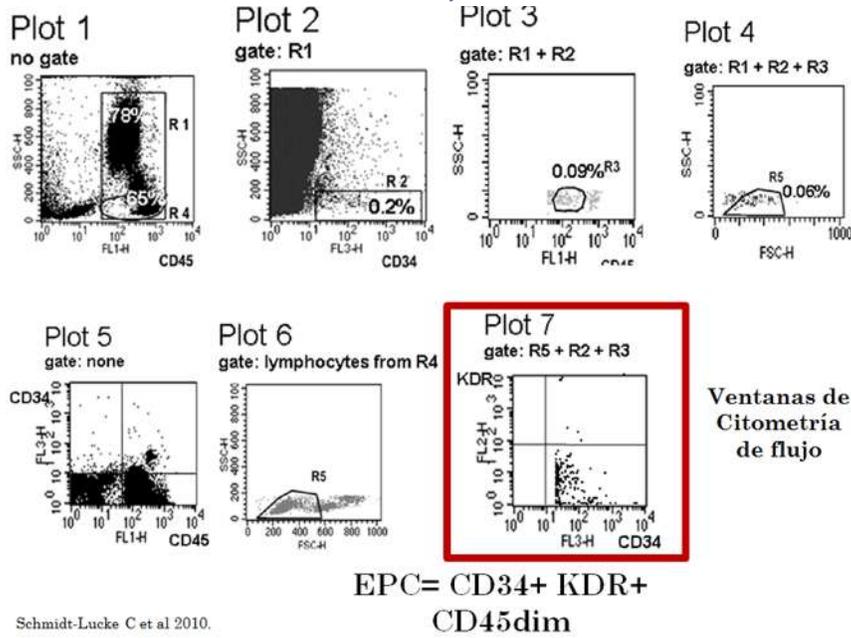
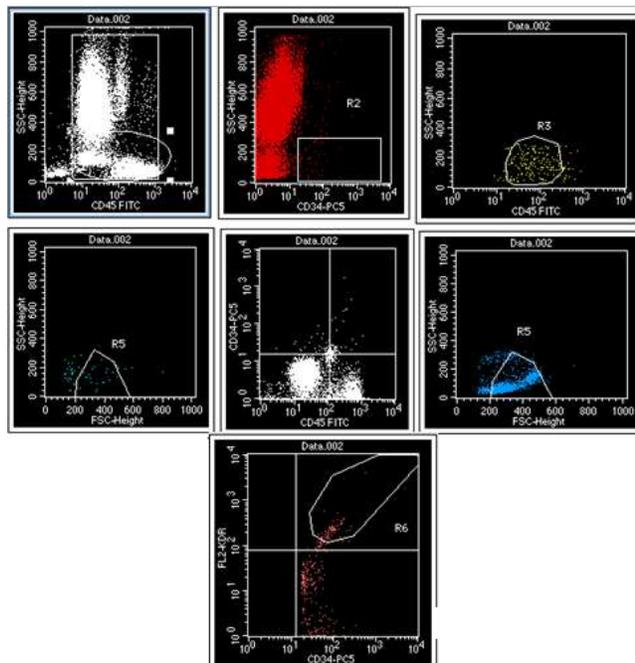


Figura 8. Análisis citométrico para la cuantificación de CPE.



7.8.3 ENSAYO ELISA

El método ELISA (Enzyme Linked Immuno absorbent Assay) directo tipo “Sándwich” que se basa en la detección de antígenos inmovilizados sobre una fase sólida, mediante anticuerpos, que posteriormente al agregar a la reacción un segundo anticuerpo, que se une a un sustrato producen una reacción colorimétrica cuyo producto se mide por espectrofotometría. Mediante este método se determinaron PAI-1, FvW, sCD40L, P-Selectina y adiponectina.

-Se congelaron las muestras de suero y plasma sanguíneo a -70°C para evitar variación interanalítica y posteriormente determinar por técnica de ELISA las concentraciones de: PAI-1, FvW, L-CD40, Adiponectina y P-selectina; en el laboratorio de Hemostasia y Biología Vascular de la división de posgrado de la facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez”.



Figura 9. Ensayo ELISA tipo Sandwich.

Ensayo ELISA de sCD40L

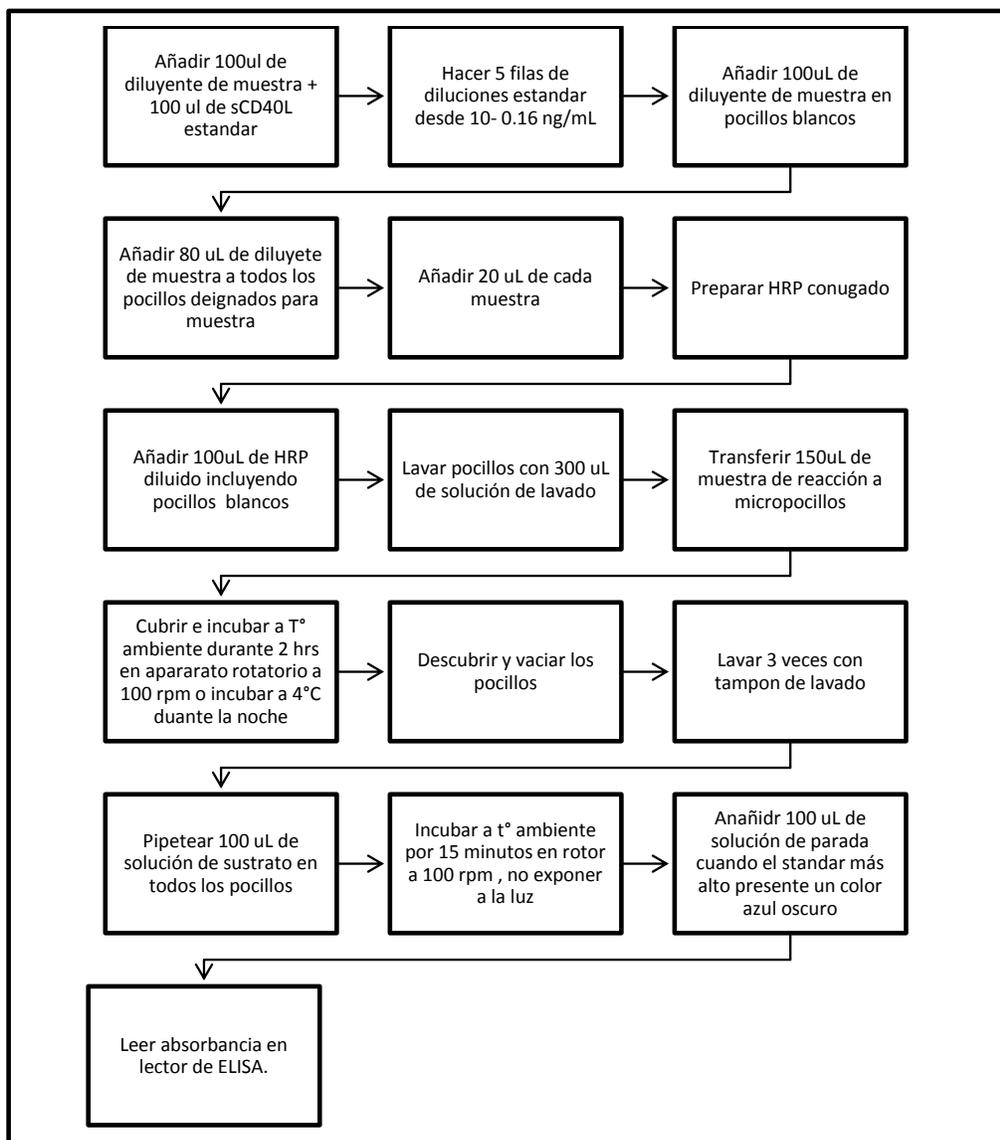


Figura 10. Técnica de ELISA para determinación de sCD40L

Ensayo ELISA de PAI-1

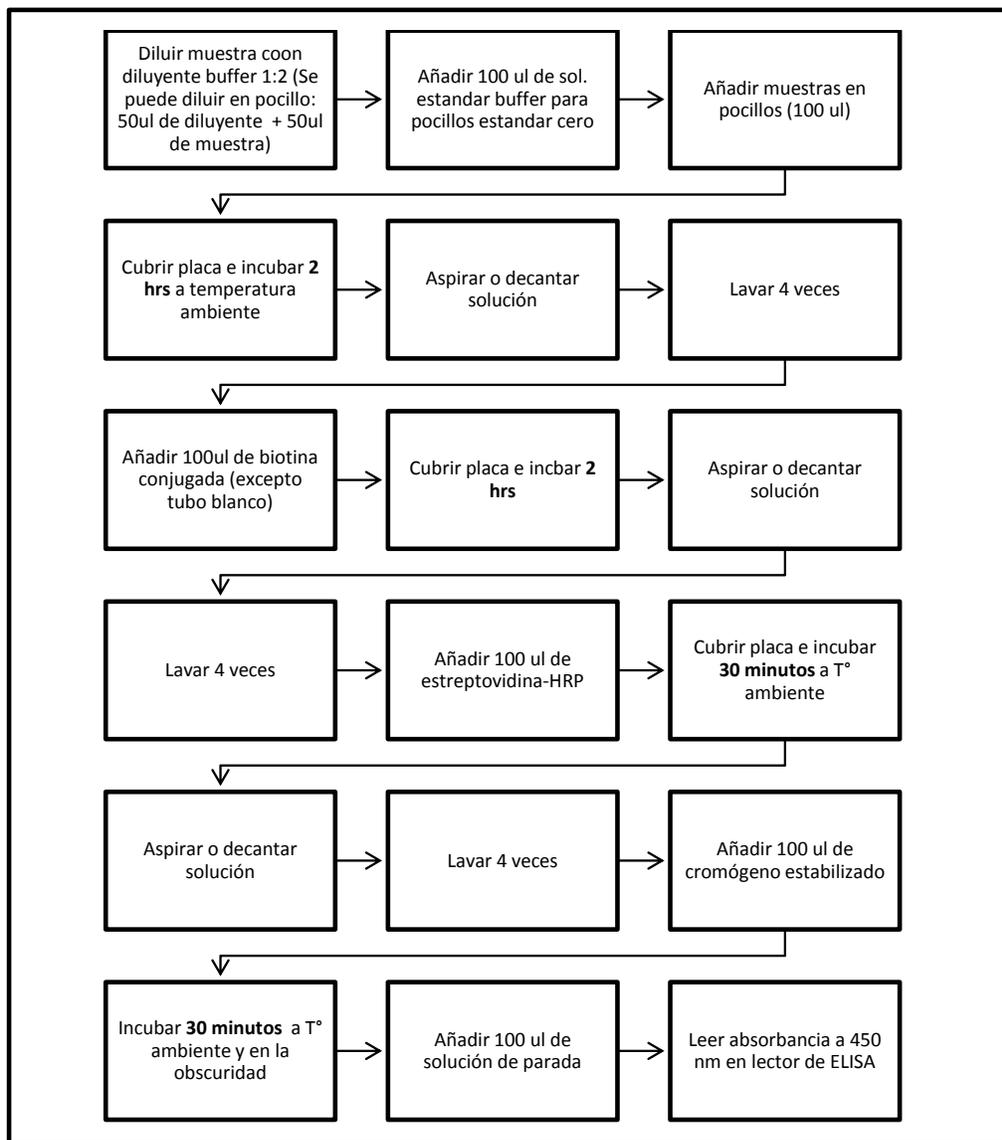


Figura 11. Técnica de ELISA para determinación de PAI-1

Ensayo ELISA de FvW

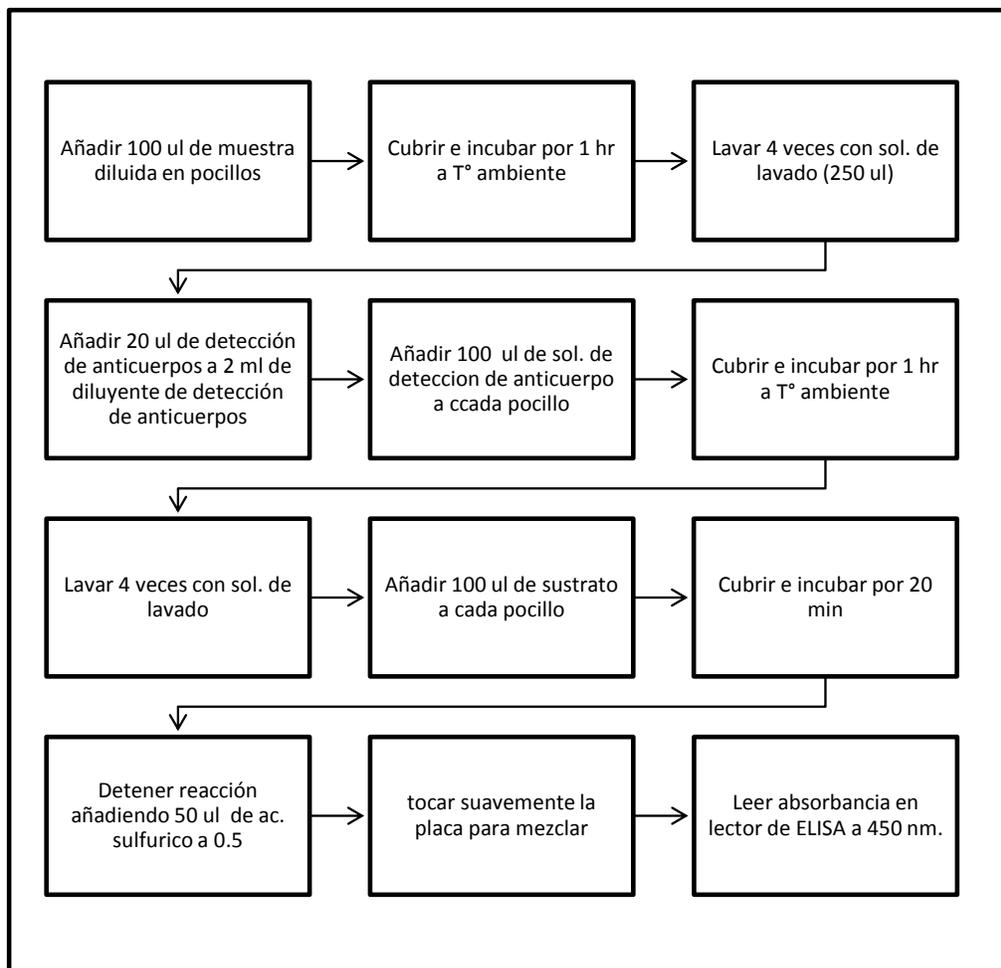


Figura 12. Técnica de ELISA para determinación de FvW

Ensayo ELISA de P-Selectina

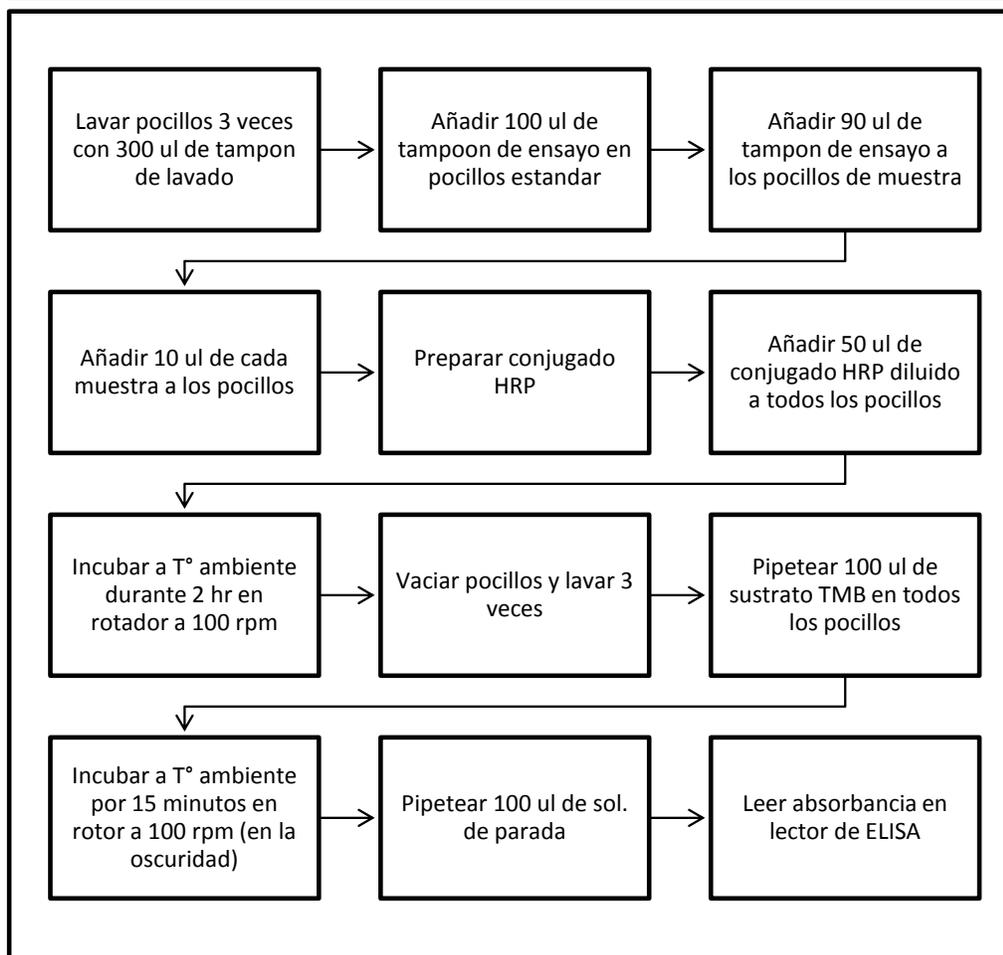


Figura 13. Técnica de ELISA para determinación de P-Selectina

Ensayo ELISA de Adiponectina

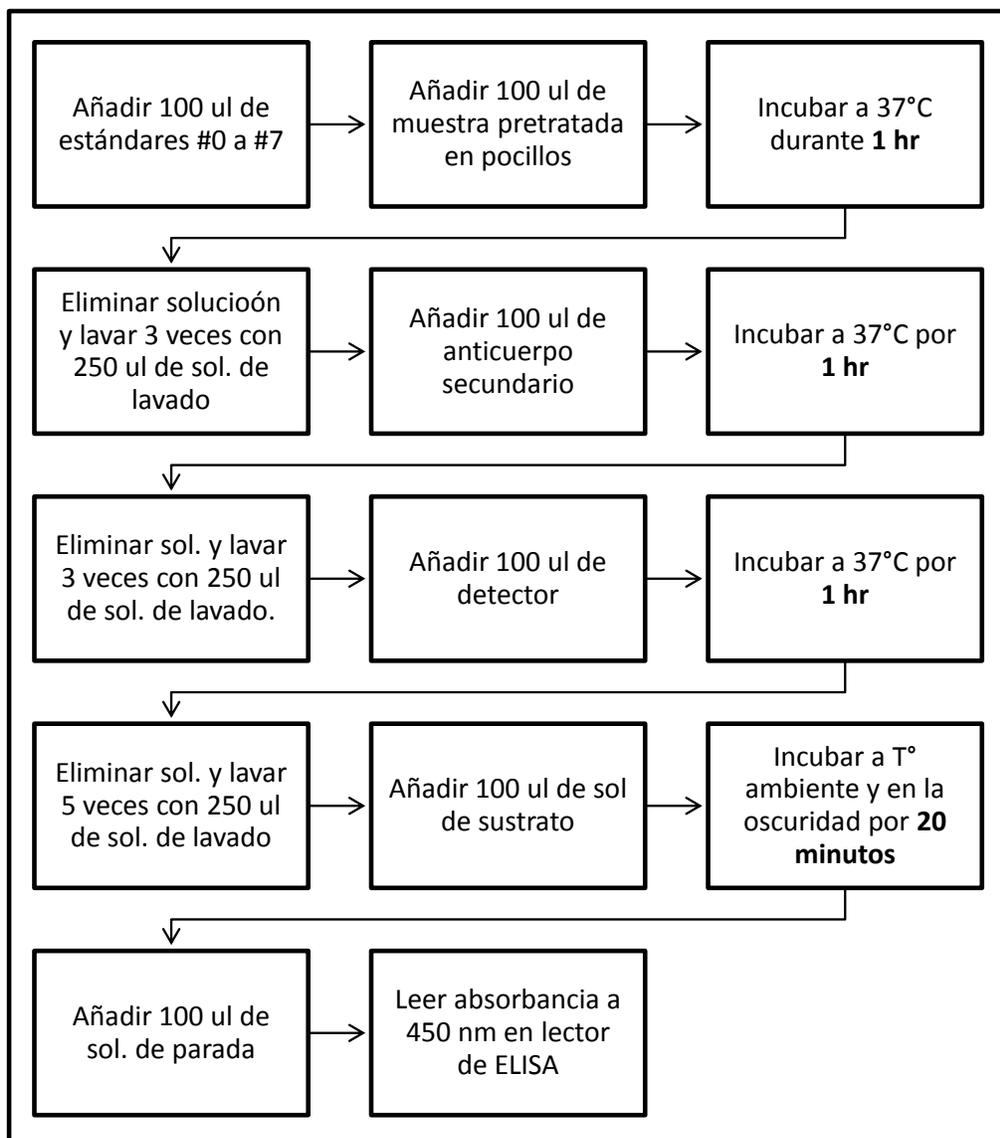


Figura 14. Técnica de ELISA para determinación de Adiponectina.

7.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó estadística descriptiva utilizando medidas de tendencia central (media) y de dispersión (varianza y desviación estándar).

Para comparación de las concentraciones de los biomarcadores se realizará prueba de Kolmogorov Smirnov para determinar si la distribución en las variables se ajusta o no a una distribución esperada.

En caso de distribución normal de las concentraciones de biomarcadores y CPE entre casos y controles se realizó la prueba t de Student y en todos los demás la U de Mann-Whitney.

Para variables dicotómicas se utilizará la prueba chi cuadrada o la prueba exacta de Fisher. Para valorar la correlación entre dos variables se utilizará la prueba de correlación de Pearson, graficando con valores ordinales.

La comparación entre los cuatro grupos para variables de distribución paramétrica se realizó con ANOVA, en las variables en las cuales se encontró significancia estadística se realizó prueba post hoc tipo Tukey para las diferencias intragrupo.

Se considerará significativo un valor de $p < 0.05$. En caso de la prueba t para grupos independientes se tomará en cuenta la significancia asumiendo desigualdad en varianza y el valor de p de dos colas.

7. 10 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este proyecto de investigación se apegó a la normatividad vigente por la Secretaría de Salud para los estudios en humanos.

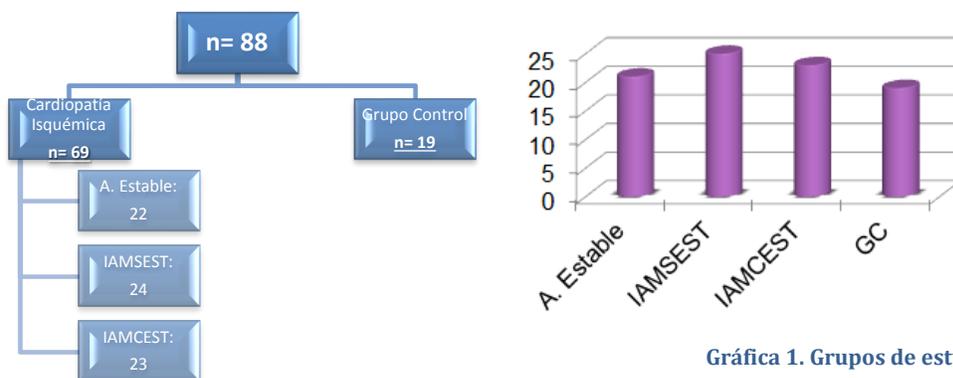
Se realizó carta de consentimiento informado (Anexo 1) en la cual se aclaraba la naturaleza del estudio, las pruebas que se les realizaría, su carácter voluntario y gratuito, la ausencia de riesgos para su salud, los beneficios esperados y los investigadores responsables; la cual se presentó y leyó a cada uno de los participantes, que en caso de aceptar participar en el proyecto, procedieron a firmar.

A los pacientes que en alguna de las pruebas se detectó como anormal se les informó y orientó con asesoría médica, sobre todo a los controles sanos.

El proyecto contó con la aprobación del comité de ética del Hospital General “Dr. Miguel Silva”.

8. RESULTADOS:

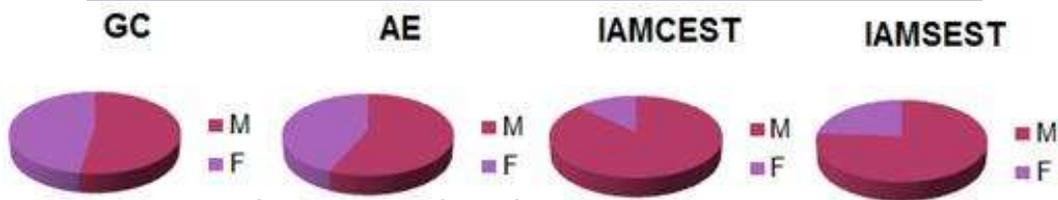
Se incluyeron en el estudio un total de 88 pacientes, 69 con diagnóstico de cardiopatía isquémica distribuidos de la siguiente manera: 22 pacientes incluidos en el grupo de angina estable, 24 en el de IAMSEST y 23 en el de IAMCEST además de 19 sujetos sanos (Gráfica 1), en la tabla 4 se muestra la distribución por edad y género.



Gráfica 1. Grupos de estudio

Tabla 4. Distribución de edad y género en los grupos de estudio.

		GENERO*GRUPO				Total
		GRUPO				
		SANO	ANGINA ESTABLE	IAMCEST	IAMSEST	
SEXO	MASCULINO	52.6 % (10)	59% (13)	87% (20)	79.2% (19)	70.5% (62)
	FEMENINO	47.4% (9)	41% (9)	13% (3)	20.8% (5)	29.5% (26)
Total		21.5% (19)	25% (22)	26.2% (23)	27.3% (24)	100% (88)
Edad (X/DE)		58.1± 10.8	68.4 ± 10.6	58.9 ± 11.9	64.4 ± 10	



Gráfica 2. Distribución de género en cada grupo de estudio.

Observando que en el género masculino se presenta con mayor frecuencia cualquier subtipo de cardiopatía isquémica, sin embargo se observó una tendencia del género femenino a padecer Angina estable a comparación de los IAM (con y sin elevación del segmento ST) (χ^2 p= 0.043)

De los 88 pacientes incluidos en el estudio, 69 cuentan con el diagnóstico de cardiopatía isquémica y 19 pertenecen al grupo control de sujetos sanos, se observaron diferencias significativas en las cifras de FC (p=0.044), TAS (p=0.000), TAD (p=0.006), IMC (p=0.000), Circunferencia de cintura (p=0.000) (Tabla 5), HDL (p=0.004), Triglicéridos (p=0.002), Glucosa (p=0.000), Creatinina (p=0.003), Urea (p=0.006) y ácido úrico (p=0.002) (Tabla 6), donde los pacientes con cardiopatía isquémica presentaron niveles más altos de todos los parámetros, excepto en los niveles de HDL, donde presentaron niveles más bajos que los sujetos sanos, cifras que se reflejaron directamente en el grado de Riesgo Cardiovascular de Framingham que presentaba cada paciente, encontrándose que del 100% de los sujetos incluidos, a el 4.5% de los controles sanos se les calculó un RCV leve, al 10.2% un RCV bajo y a un 6.8% un RCV moderado; en cuanto a los pacientes con AE 1.1% presentó un RCV leve, el 1.1% un RCV bajo, el 13.6% un RCV moderado y el 6.8% un RCV alto y el 2.3% RCV muy alto; en los pacientes con IAMCEST el 3.4% presentaron un RCV leve, el 13.6% RCV moderado, 6.8% RCV alto y el 2.3% RCV muy alto; en los pacientes con IAMSEST el 3.4% presentaron RCV leve, el 1.1% RCV bajo, el 5.7% RCV moderado, el 12.5% RCV alto y el 4.5% RCV muy alto.

Tabla 5. Medias y DE de medidas demográficas y antropométricas por grupos y significancia estadística :

	GC	CI	p
Edad (X/DE)	58.15 ± 10.88	63.79 ± 11.39	0.057 ("t")
FC (X/DE)	63.36 ± 8.83	68.5 ± 11.7	0.044 ("t")
TAS (X/DE)	119.15 ± 13.6	143.9 ± 21.75	0.000 ("t")
TAD (X/DE)	72.31 ± 10.35	80.21 ± 9.61	0.006 ("t")
IMC (X/DE)	24.55 ± 1.65	27.34 ± 3.55	0.000 ("t")
C. Cintura(X/DE)	88 ± 8.2	98.92 ± 8.4	0.000 ("t")

Tabla 6. Resultados de laboratorio y significancia estadística entre el grupo control y los pacientes con cardiopatía isquémica.

	GC	CI	p
Colesterol total (X/DE)	195.31 ± 32.12	177.27 ± 53.8	0.072 ("t")
HDL (X/DE)	48 ± 12.78	37.7 ± 10.75	0.004 ("t")
LDL (X/DE)	123.3 ± 27.92	117.57 ± 143.37	0.756 ("t")
Triglicéridos (X/DE)	147.63 ± 120.6	209.2 ± 144.4	0.002 ("U")
PCR (X/DE)	0.105 ± 0.315	0.464 ± 1.10	0.093 ("U")
Glucosa (X/DE)	91.89 ± 6.45	142.4 ± 74.86	0.000 ("t")
Creatinina (X/DE)	0.8032 ± 0.154	1.00 ± 0.437	0.003 ("t")
Urea (X/DE)	29.7 ± 7.94	37.05 ± 14.76	0.006 ("t")
Ac. Úrico (X/DE)	5.189 ± 1.15	6.25 ± 157	0.002 ("t")
Plaquetas (X/DE)	247.05 ± 88.15	243.31 ± 57.82	0.863 ("t")
VPM (X/DE)	8.23 ± 1.05	8.06 ± 1.14	0.537 ("t")

No se encontraron diferencias significativas en los niveles de colesterol total, LDL, PCR, plaquetas y VPM (Tabla 6).

Del total de pacientes con diagnóstico de cardiopatía isquémica, el 100% se encuentra en tratamiento con AAS, el 31.9% con clopidogrel, el 1.4% con prasugrel, el 73.9% con estatinas, 8.7% con fibratos, 58% con beta-bloqueadores, 37.7% con IECAs y 26% con ARAII, entre otros medicamentos. De los cuales al 58% se le realizó ACTP (al 95% de estos se le colocó stent) y al 10% se les realizó coronariografía.

Se observó que existe evidente diferencia significativa en los factores de riesgo cardiovascular entre los sujetos sanos y los pacientes con cardiopatía isquémica al realizar la prueba Chi cuadrada (χ^2), como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Factores de riesgo cardiovascular.

Factor de riesgo	CI	GC	Xi2 (p)
Tabaquismo	71%	0%	0.000
Sedentarismo	66.7%	0%	0.000
Obesidad	24.6%	0%	0.000
Sobrepeso	49.2%	21%	0.005
DM	43.5%	0%	0.000
Dislipidemia	56.5%	0%	0.000
HAS	89.9%	0%	0.000

En relación a la cuantificación de biomarcadores, se encontró únicamente diferencia significativa entre los sujetos sanos y los pacientes con cardiopatía isquémica en los niveles P-Selectina, observándose niveles más altos en los pacientes con cardiopatía isquémica, y una diferencia próxima a la significancia en los niveles de sCD40L. (Tabla 8).

Tabla 8. Cantidad de CPE y los niveles de los biomarcadores.

	GC	CI	p
CPE (X/DE)	0.025 ± 0.0122	0.0228± 0.0141	0.355 ("t")
CD34 (X/DE)	0.0450 ± 0.0221	0.0521± 0.0716	0.477 ("t")
PAI-1 (X/DE)	1819.05± 1088.36	1764.47±909.49	0.843 ("t")
sCD40I (X/DE)	0.605 ± 0.4089	0.926 ± 0.7465	0.070 ("U")
ADIPONECTINA (X/DE)	10294.73± 5109	9967.64± 6979.08	0.394 ("U")
FvW (X/DE)	113.78± 25.24	116.79 ± 28.02	0.657 ("t")
P-SELECTINA (X/DE)	88.15 ± 28.66	129.0 ± 64.66	0.000 ("t")

CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES

PRUEBAS DE NORMALIDAD

Al realizar la prueba de normalidad de Kolmogorov- Smirnov (tabla 9) se puede observar que la cantidad de CPE en relación al grupo presenta una distribución normal ($\text{sig} > 0.05$), por lo que posteriormente se realizó una prueba ANOVA (Tabla 11).

Tabla 9. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov CPE.

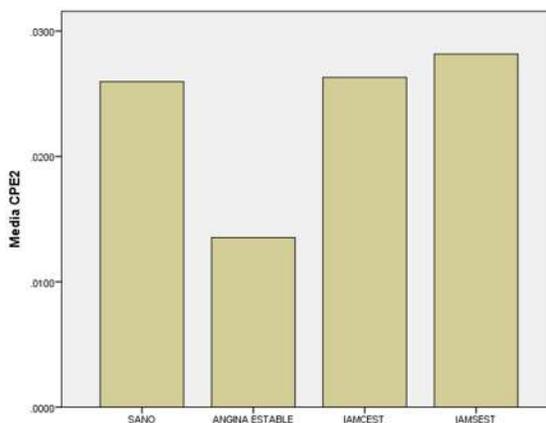
GRUPO		Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Estadístico	gl	Sig.
CPE	SANO	.163	19	.196
	ANGINA ESTABLE	.131	22	.200 [*]
	IAMCEST	.127	23	.200 [*]
	IAMSEST	.149	24	.178

CPE EN RELACIÓN AL GRUPO

Tabla 10. Estadística descriptiva CPE de acuerdo al grupo de estudio.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
SANOS	19	.0117	.0583	.025963	.0122575
AE	22	.0030	.0280	.013527	.0082602
IAMCEST	23	.0023	.0614	.026309	.0145923
IAMSEST	24	.0071	.0584	.028167	.0142287

Se observa que los pacientes con Angina estable presentan menor cantidad de CPE que los sujetos sanos, encontrando diferencias significativas entre estos dos grupos.



Grafica 3. CPE en grupos de estudio

ANOVA CPE EN RELACIÓN AL GRUPO

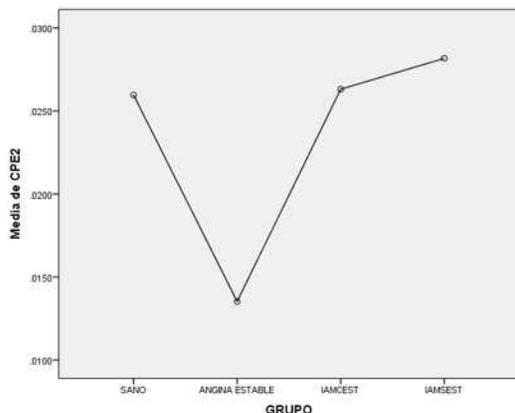
Al realizar el análisis de varianza, se encuentra diferencias significativas entre los grupos (Grupo control, Angina estable, IAMCEST, IAMSEST) en relación a la cantidad de Células progenitoras endoteliales ($p = .001$).

Tabla 11. ANOVA de cantidad de CPE en relación al grupo de estudio.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
CPE2	Entre grupos	0.003	3	0.001	6.247	.001*
	Dentro de grupos	0.013	84	0		
	Total	0.016	87			

En el análisis de varianza intragrupo, aplicando la prueba post hoc (Tukey), se observa que existen diferencias significativas en la cantidad de CPE entre los grupos de angina estable y el grupo de controles sanos ($p = 0.012$), el grupo de angina estable e IAMSEST ($p = 0.001$) y el grupo de angina estable e IAMCEST ($p = 0.006$).

Se encontró menor cantidad de CPE en los pacientes con angina estable en comparación con los otros grupos.



Gráfica 4. Cantidad de CPE en relación a los grupos de estudio.

CÉLULAS CD34 +

PRUEBA DE NORMALIDAD

Al realizar la prueba de normalidad de Kolmogorov- Smirnov se puede observar que la cantidad de Células CD34+ en los grupos de estudio no presentan una distribución normal (Sig.< 0.05).

Tabla 12. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov células CD34.

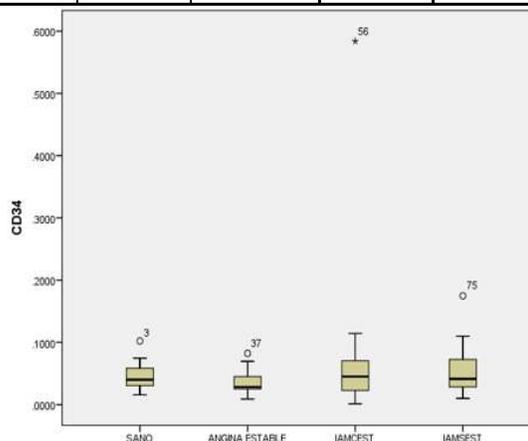
	GRUPO	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Estadístico	gl	Sig.
CD34	SANO	.120	19	.200 *
	ANGINA ESTABLE	.179	22	.066
	IAMCEST	.352	23	.000
	IAMSEST	.209	24	.008

Células CD34+ EN RELACIÓN AL GRUPO

Tabla 13. Estadística descriptiva cantidad de Células CD34 de acuerdo al grupo de estudio.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Mediana	Desviación estándar	P ("U")	Kruskal-Wallis (Sig.)
SANOS	19	0.0157	0.1022	0.0450	0.0400	0.0221	0.129	0.344
AE	22	0.0090	0.0823	0.0348	0.0282	0.0188	0.990	
IAMCEST	23	0.0014	0.5840	0.0680	0.0450	0.1161	0.732	
IAMSEST	24	0.0099	0.1748	0.0529	0.0411	0.0374		

Existe una tendencia a que los pacientes con angina estable presentan niveles menores de células CD34+, sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas entre los grupos.



Gráfica 5. Células CD34+ en grupos de estudio

PAI-1

PRUEBA DE NORMALIDAD

Al realizar la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov se puede observar que los niveles de PAI-1 en relación al grupo no presenta una distribución normal (Tabla 14).

Tabla 14. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov de niveles PAI-1.

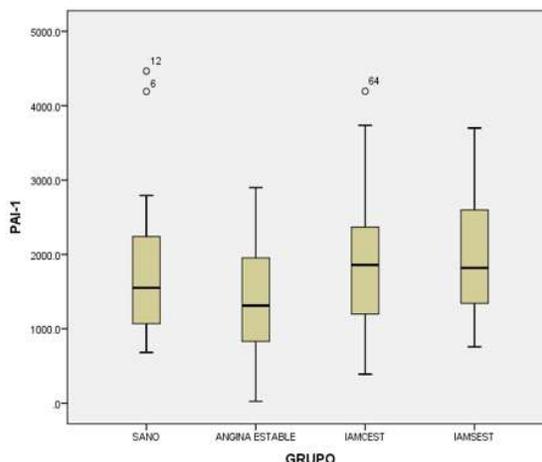
	GRUPO	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Estadístico	gl	Sig.
PAI-1	SANO	.201	19	.043
	ANGINA ESTABLE	.106	22	.200 [*]
	IAMCEST	.101	23	.200 [*]
	IAMSEST	.128	24	.200 [*]

PAI-1 EN RELACIÓN AL GRUPO

Tabla 15. Estadística descriptiva y significancia estadística de niveles de PAI-1

	N	Mínimo	Máximo	Media	Mediana	Desviación estándar	P ("U")	Kruskal-Wallis (Sig.)
SANOS	19	683.2	4465	1819	1551	1088.5		0.113
AE	22	25.1	2901	1360.8	1312	817.4	0.296	
IAMCEST	23	390.4	4195	1885.8	1859	951.3	0.587	
IAMSEST	24	756.8	3700	2018	1818	855.6	0.240	

Se observa una tendencia a que los niveles de PAI -1 son menores en pacientes con angina estable y mayores en los pacientes que sufrieron un IAM, sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas entre los sujetos sanos y cada uno de los grupos de estudio.



Grafica 6. Niveles de PAI-1 en grupos de estudio

sCD40L

PRUEBA DE NORMALIDAD

Al realizar la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov se puede observar que los niveles de sCD40L en relación al grupo no presenta una distribución normal (Tabla 16).

Tabla 16. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov de niveles de sCD40L.

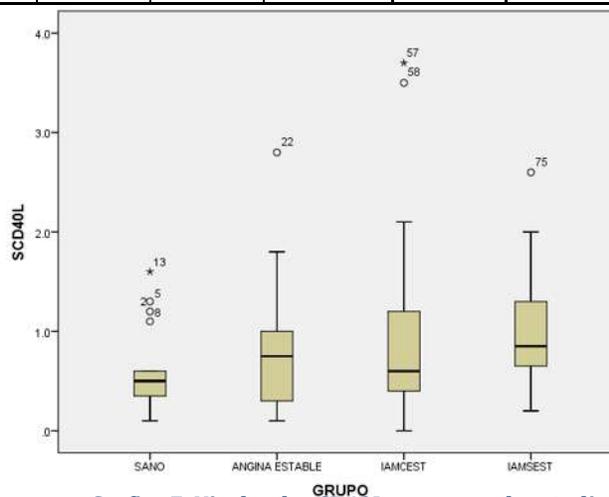
	GRUPO	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Estadístico	gl	Sig.
SCD40L	SANO	.295	19	.000
	ANGINA ESTABLE	.175	22	.077
	IAMCEST	.231	23	.003
	IAMSEST	.186	24	.032

sCD40L EN RELACIÓN AL GRUPO

Tabla 17. Estadística descriptiva y significancia estadística de niveles de sCD40L.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Mediana	Desviación estándar	P ("U")	Kruskal-Wallis (Sig.)
SANOS	19	0.1	1.6	0.605	0.500	0.4089		0.111
AE	22	0.1	2.8	0.782	0.750	0.6681	0.590	
IAMCEST	23	0.0	3.7	1.0	0.600	0.963	0.182	
IAMSEST	24	0.2	2.6	0.988	0.850	0.572	0.010*	

Existe diferencia significativa entre el grupo control y el grupo de IAMSEST, ya que se observa niveles mayores de sCD40L en los pacientes que sufrieron un IAMSEST.



Grafica 7. Niveles de sCD40L en grupos de estudio

ADIPONECTINA

PRUEBA DE NORMALIDAD

Al realizar la prueba de normalidad de Kolmogorov- Smirnov se puede observar que los niveles de Adiponectina en relación al grupo no presenta una distribución normal.

Tabla 18. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov de los niveles de adipopectina.

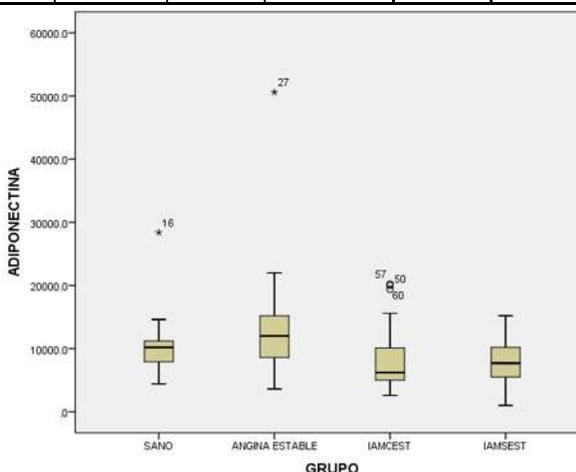
	GRUPO	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Estadístico	gl	Sig.
ADIPONECTINA	SANO	.264	19	.001
	ANGINA ESTABLE	.206	21	.020
	IAMCEST	.191	23	.029
	IAMSEST	.120	24	.200 [*]

ADIPONECTINA EN RELACIÓN AL GRUPO

Tabla 19. Estadística descriptiva y significancia estadística de niveles de adiponectina.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Mediana	Desviación estándar	P ("U")	Kruskal-Wallis (Sig.)
SANOS	19	4400	28400	10294.7	10200	5109.6		0.012*
AE	22	3600	50600	13828.5	12000	9740.07	0.147	
IAMCEST	23	2600	20200	8539.1	6200	5376.8	0.075	
IAMSEST	24	1000	15200	7958.1	7700	3445.9	0.106	

Se observa una tendencia a que los pacientes con IAM con y si elevación del segmento ST presentan niveles menores de adiponectina, y los pacientes con AE niveles mayores, sin embargo, no se observa una diferencia estadística significativa.



Grafica 8. Niveles de Adiponectina en grupos de estudio

FvW

PRUEBA DE NORMALIDAD

Al realizar la prueba de normalidad de Kolmogorov- Smirnov se puede observar que los niveles de FvW en relación al grupo presenta una distribución normal.

Tabla 20. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov de niveles de FvW.

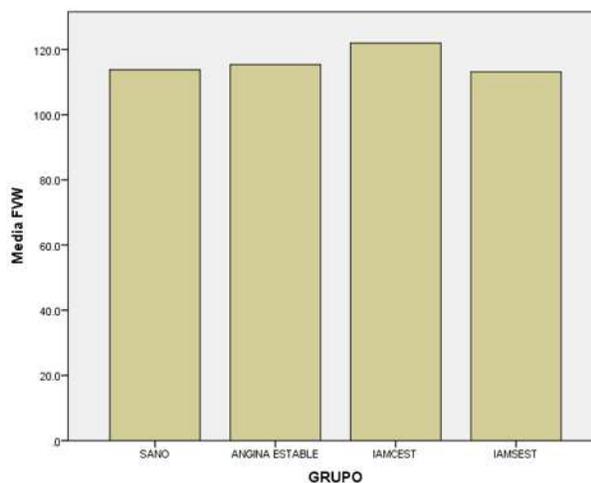
	GRUPO	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Estadístico	gl	Sig.
FvW	SANO	.173	19	.136
	ANGINA ESTABLE	.075	22	.200 [*]
	IAMCEST	.092	23	.200 [*]
	IAMSEST	.122	24	.200 [*]

FvW EN RELACIÓN AL GRUPO

Tabla 21. Estadística descriptiva y significancia estadística de niveles de FvW.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Mediana	Desviación estándar	ANOVA (Sig.)
SANOS	19	64	157	113.7	107	25.2	0.693
AE	22	89	143	115.3	115	14.9	
IAMCEST	23	58	163	121.9	123	26	
IAMSEST	24	51	174	113.1	121	37.7	

De acuerdo a la estadística descriptiva se observa que los pacientes con IAMCEST presenta niveles mayores de FvW, sin embargo, no existen diferencias significativas entre el grupo control y los grupos de estudio



Grafica 9. Niveles de FvW en grupos de estudio

P-SELECTINA

PRUEBA DE NORMALIDAD

Al realizar la prueba de normalidad de Kolmogorov- Smirnov se puede observar que los niveles de P-Selectina en relación al grupo no presenta una distribución normal.

Tabla 22. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov de niveles de P-Selectina.

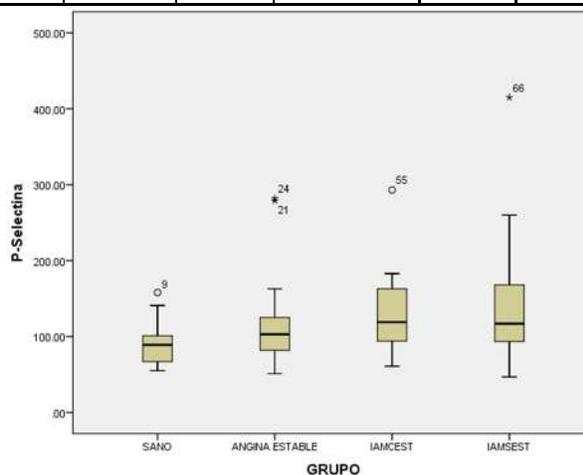
	GRUPO	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Estadístico	gl	Sig.
P-Selectina	SANO	.163	19	.200
	ANGINA ESTABLE	.249	20	.002
	IAMCEST	.134	23	.200*
	IAMSEST	.164	24	.096

P-SELECTINA EN RELACIÓN AL GRUPO

Tabla 23. Estadística descriptiva y significancia estadística de niveles de P-Selectina.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Mediana	Desviación estándar	P ("U")	Kruskal-Wallis (Sig.)
SANOS	19	55	158	88.1	89	28.6		0.012*
AE	22	51	282	119	103	62.3	0.061	
IAMCEST	23	61	293	129	119	52.6	0.004*	
IAMSEST	24	47	415	137.5	117	77.3	0.005*	

Se observan niveles mayores de P- Selectina en los pacientes con IAMCEST y con IAMSEST, encontrándose diferencias significativas entre estos grupos y el grupo control.



Gráfica 10. Niveles de P- selectina en grupos de estudio

CPE Y BIOMARCADORES EN RELACIÓN AL GÉNERO

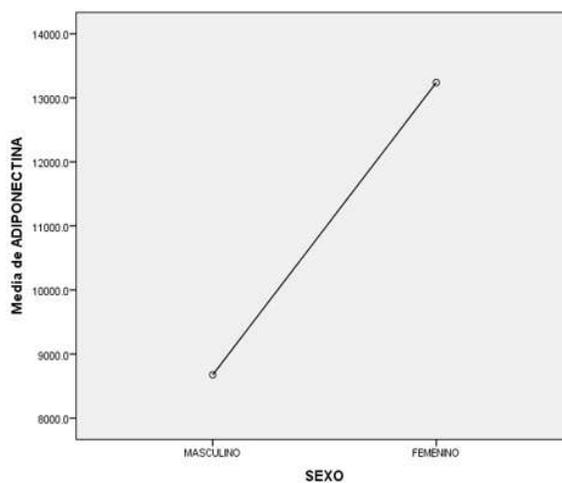
Tabla 24. Estadística descriptiva y significancia estadística de biomarcadores en relación al género.

		N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	p
CPE2	MASCULINO	62	.025190	.0138887	.0023	.0614	0.083 *
	FEMENINO	26	.019623	.0128859	.0030	.0487	
CD34	MASCULINO	62	.054818	.0746943	.0014	.5840	0.448**
	FEMENINO	26	.040712	.0242602	.0090	.1022	
PAI-1	MASCULINO	62	1763.958	900.0731	122.0	4465.0	0.905**
	FEMENINO	26	1805.592	1061.4137	25.1	4195.0	
SCD40L	MASCULINO	62	.787	.6502	0.0	3.7	0.127**
	FEMENINO	26	1.023	.7906	.1	3.5	
ADIPONECTINA	MASCULINO	61	8675.410	4398.3579	1000.0	20200.0	0.005**
	FEMENINO	26	13238.462	9369.4003	3200.0	50600.0	
FvW	MASCULINO	62	118.097	27.1551	58.0	174.0	0.304 *
	FEMENINO	26	111.500	27.7406	51.0	157.0	
P-Selectina	MASCULINO	61	123.1803	64.02487	51.00	415.00	0.540**
	FEMENINO	25	112.4400	53.07705	47.00	282.00	

*ANOVA, ** Kruskal-Wallis.

Donde se observa que existen niveles mayores de adiponectina en el género femenino que en masculino ($p=0.005$).

En los demás biomarcadores no existen diferencias significativas en relación al género, sin embargo existe la tendencia de que las mujeres presentan niveles mayores de CD40L y PAI-1 que los hombres, y que los hombres presentan niveles mayores de FvW, P-Selectina, CPE y Células CD34+ que las mujeres.



Gráfica 11. Adiponectina en relación al género

CPE Y BIOMARCADORES EN RELACIÓN AL GRUPO ETARIO

También se encontraron diferencias significativas en la cantidad de CPE y niveles de biomarcadores en relación al grupo etario, los cuales se dividieron por cuartiles (de 40-53 años, 54-62 años, 63-71 años y 72-84 años de edad).

Tabla 25. Estadística descriptiva y ANOVA de cantidad de CPE y niveles de biomarcadores en relación al grupo etario.

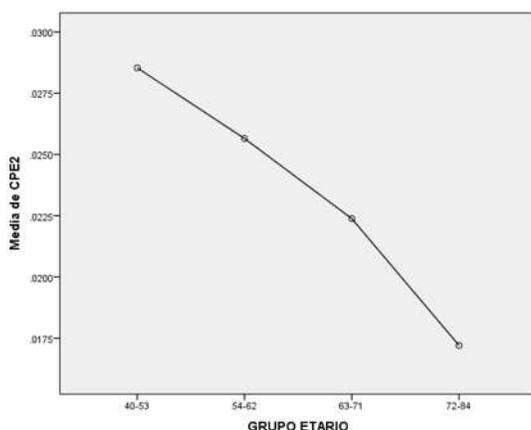
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P
CPE2	Entre grupos	.002	3	.001	3.017	.034*
	Dentro de grupos	.015	84	.000		
	Total	.016	87			
CD34	Entre grupos	.022	3	.007	1.836	.147
	Dentro de grupos	.337	84	.004		
	Total	.359	87			
PAI-1	Entre grupos	9736294.878	3	3245431.626	4.016	.010*
	Dentro de grupos	67878459.515	84	808076.899		
	Total	77614754.393	87			
SCD40L	Entre grupos	1.440	3	.480	.984	.404
	Dentro de grupos	40.995	84	.488		
	Total	42.436	87			
ADIPONECTINA	Entre grupos	432372775.787	3	144124258.596	3.622	.016*
	Dentro de grupos	3302574350.649	83	39790052.417		
	Total	3734947126.437	86			
FVW	Entre grupos	4622.262	3	1540.754	2.143	.101
	Dentro de grupos	60394.818	84	718.986		
	Total	65017.080	87			
P-Selectina	Entre grupos	10406.010	3	3468.670	.932	.429
	Dentro de grupos	305202.699	82	3721.984		
	Total	315608.709	85			

Se observó diferencias significativas en la cantidad de células progenitoras endoteliales (p=0.034), PAI-1 (p=0.010) y adiponectina (p=0.016) en relación al grupo etario.

CPE Y BIOMARCADORES EN RELACIÓN AL GRUPO ETARIO

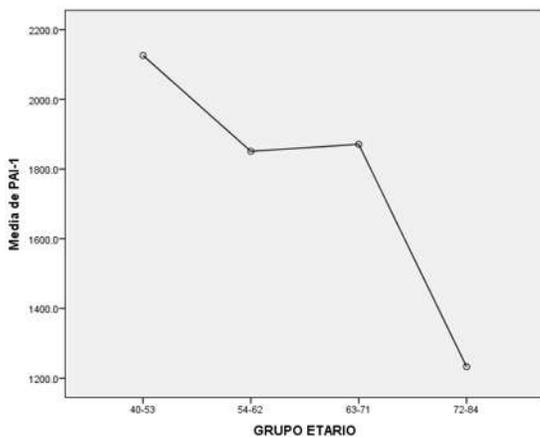
En el análisis de varianza intragrupo, aplicando la prueba post hoc (Tukey), se observa que existen diferencias significativas en la cantidad de CPE entre los pacientes de 40 a 53 años y los de 72 a 84 años ($p=0.025$).

Encontrando menor cantidad de CPE en los pacientes de 72 a 84 años de edad, observándose además la tendencia de que la cantidad de CPE disminuye conforme va aumentando la edad.



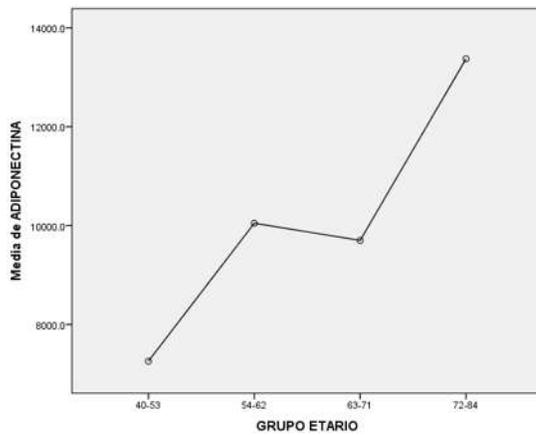
Gráfica 12. Cantidad de CPE en relación al grupo etario.

En cuanto a los niveles de PAI-1 se encuentra diferencia significativa entre los pacientes de 40 a 53 años y los de 72 a 84 años ($p=0.006$). Encontrando niveles más altos de PAI-1 en los pacientes de 40 a 53 años y niveles más bajos en los pacientes de 74 a 84 años.



Gráfica 13. Niveles de PAI-1 en relación al grupo etario.

Existiendo además diferencias significativas en los niveles de Adiponectina entre los pacientes de 40 a 53 años y los de 72 a 84 años ($p=0.008$). Encontrando niveles más bajos de adiponectina en los pacientes de 40 a 53 años y niveles más altos en los pacientes de 74 a 84 años.



Gráfica 14. Niveles de Adiponectina en relación al grupo etario.

CPE Y BIOMARCADORES EN RELACIÓN A DM

Al realizar análisis de varianza se encontraron diferencias en la cantidad de CPE y niveles de biomarcadores en relación al DM (Controlada, Descontrolada y pacientes sin DM).

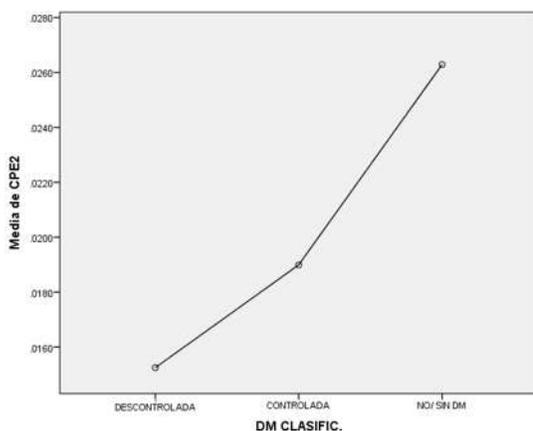
Tabla 26. ANOVA de cantidad de CPE y niveles de biomarcadores en relación a DM.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
CPE2	Entre grupos	.001	2	.001	3.781	.027*
	Dentro de grupos	.015	85	.000		
	Total	.016	87			
CD34	Entre grupos	.008	2	.004	1.015	.367
	Dentro de grupos	.350	85	.004		
	Total	.359	87			
PAI-1	Entre grupos	282390.188	2	141195.094	.155	.856
	Dentro de grupos	77332364.204	85	909792.520		
	Total	77614754.393	87			
SCD40L	Entre grupos	.875	2	.438	.895	.412
	Dentro de grupos	41.561	85	.489		
	Total	42.436	87			
ADIPONECTINA	Entre grupos	41850434.783	2	20925217.391	.476	.623
	Dentro de grupos	3693096691.654	84	43965436.805		
	Total	3734947126.437	86			
FVW	Entre grupos	1052.137	2	526.069	.699	.500
	Dentro de grupos	63964.943	85	752.529		
	Total	65017.080	87			
P-Selectina	Entre grupos	36501.169	2	18250.585	5.427	.006*
	Dentro de grupos	279107.540	83	3362.741		
	Total	315608.709	85			

Se encontró diferencias significativas en la cantidad de CPE ($p=0.027$) y P-Selectina ($p=0.006$) en relación a la DM.

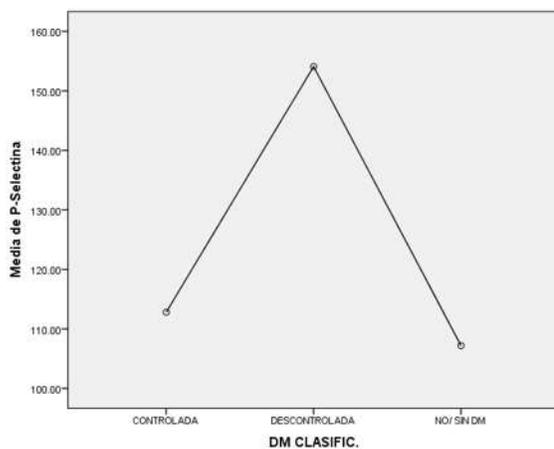
CPE Y BIOMARCADORES EN RELACIÓN CON DM

En el análisis de varianza intragrupo, aplicando la prueba post hoc (Tukey), se observa que existen diferencias significativas en la cantidad de CPE entre los pacientes sin DM y los pacientes con DM descontrolada ($p= 0.05$). Encontrando menor cantidad de CPE en los pacientes con DM descontrolada.



Gráfica 15. Cantidad de CPE en relación a DM

En cuanto a los niveles de P- selectina, se encuentra diferencia significativa entre los pacientes sin DM y los pacientes con DM descontrolada ($p = 0.004$). Encontrando niveles más altos de P- Selectina en los pacientes con DM descontrolada.



Gráfica 16. Niveles de P-Selectina en relación a DM

ANOVA
BIOMARCADORES EN RELACIÓN AL TIPO DE STENT IMPLANTADO EN
LOS PACIENTES

Tabla 27. ANOVA de CPE y biomarcadores en relación al tipo de Stent

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
CPE2	Entre grupos	.001	2	.000	1.960	.149
	Dentro de grupos	.013	66	.000		
	Total	.014	68			
CD34	Entre grupos	.017	2	.009	1.716	.188
	Dentro de grupos	.332	66	.005		
	Total	.349	68			
PAI-1	Entre grupos	404786.549	2	202393.274	.239	.788
	Dentro de grupos	55843935.284	66	846120.232		
	Total	56248721.833	68			
SCD40L	Entre grupos	1.048	2	.524	.938	.396
	Dentro de grupos	36.845	66	.558		
	Total	37.893	68			
ADIPONECTINA	Entre grupos	303018862.745	2	151509431.373	3.327	.042*
	Dentro de grupos	2960389960.78	65	45544460.935		
	Total	3263408823.52	67			
FVW	Entre grupos	1614.202	2	807.101	1.028	.363
	Dentro de grupos	51796.957	66	784.802		
	Total	53411.159	68			
P-Selectina	Entre grupos	4627.771	2	2313.885	.546	.582
	Dentro de grupos	271376.498	64	4240.258		
	Total	276004.269	66			

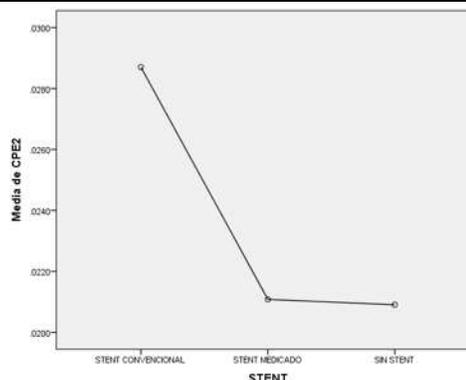
Donde se encuentra relación significativa entre el tipo de stent y los niveles de adiponectina.

CPE EN RELACION AL TIPO DE STENT

Tabla 28. Estadística descriptiva, cantidad de CPE en relación al tipo de Stent.

	N	Media	DE	Mínimo	Máximo
STENT CONVENCIONAL	17	.028700	.0146063	.0085	.0614
STENT MEDICADO	21	.021081	.0139501	.0023	.0453
SIN STENT	31	.020906	.0136251	.0030	.0584

Se observa que los pacientes a los que se implantó un stent convencional, presentan mayor número de CPE en relación a los pacientes a los cuales se les implantó un Sten medicado, sin embargo, esta es una tendencia, ya que no presentan significancia estadística ($p= 0.149$ ANOVA).



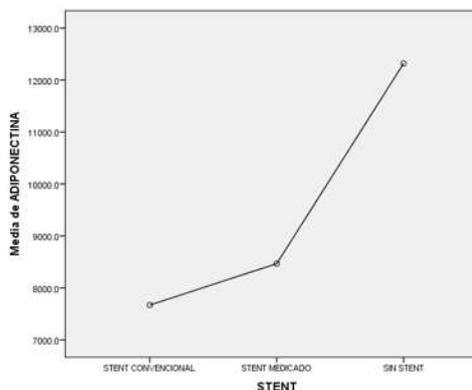
Gráfica 17. CPE de acuerdo al tipo de Stent

ADIPONECTINA EN RELACIÓN AL TIPO DE STENT

Tabla 29. Estadística descriptiva, cantidad de CPE en relación al tipo de Stent

	N	Media	DE	Mínimo	Máximo
STENT CONVENCIONAL	17	7670.588	4130.9449	3200.0	20000.0
STENT MEDICADO	21	8466.667	4937.7458	1000.0	20200.0
SIN STENT	31	12320.000	8709.3450	3400.0	50600.0

Se observan niveles mayores de Adiponectina en los pacientes a los que no se les implantó Stent, presentando significancia estadística entre estos y a los que se les implantó Stent, encontrándose menores niveles en los pacientes con Stent convencional que en los pacientes con stent medicado ($p= 0.042$ ANOVA)



Gráfica 18. Adiponectina de acuerdo al tipo de Stent

CPE Y BIOMARCADORES EN RELACION AL GRADO DE RIESGO CARDIOVASCULAR DE FRAMINGHAM

Tabla 30. ANOVA de niveles de CPE y biomarcadores en relación al RCV de Framingham en pacientes con Cardiopatía isquémica.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
CPE2	Entre grupos	.000	4	.000	.571	.685
	Dentro de grupos	.013	64	.000		
	Total	.014	68			
CD34	Entre grupos	.010	4	.003	.488	.744
	Dentro de grupos	.339	64	.005		
	Total	.349	68			
PAI1	Entre grupos	1806830.323	4	451707.581	.531	.713
	Dentro de grupos	54441891.510	64	850654.555		
	Total	56248721.833	68			
sCD40L	Entre grupos	1.733	4	.433	.767	.551
	Dentro de grupos	36.160	64	.565		
	Total	37.893	68			
Adiponectina	Entre grupos	1000464192.988	4	250116048.247	6.963	.000*
	Dentro de grupos	2262944630.542	63	35919756.040		
	Total	3263408823.529	67			
FwW	Entre grupos	4443.355	4	1110.839	1.452	.227
	Dentro de grupos	48967.805	64	765.122		
	Total	53411.159	68			
PSelectina	Entre grupos	15184.921	4	3796.230	.902	.468
	Dentro de grupos	260819.347	62	4206.764		
	Total	276004.269	66			

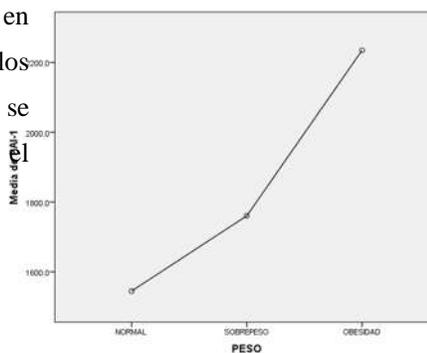
Se encontró significancia estadística ($p=0.000$) en cuanto a los niveles de adiponectina en relación al grado de riesgo cardiovascular de Framingham, encontrándose niveles más altos de adiponectina en los pacientes con menor riesgo cardiovascular y niveles bajos en los pacientes con mayor riesgo cardiovascular.

CPE Y BIOMARCADORES EN RELACIÓN AL PESO

TABLA 31. ANOVA de CPE y biomarcadores en relación al peso (Normal, sobrepeso u obesidad)

		Suma de cuad.	gl	Media cuad.	F	Sig.
ADIPONECTINA	Entre grupos	35590142.566	2	17795071.283	.404	.669
	Dentro de grupos	3699356983.871	84	44039964.094		
	Total	3734947126.437	86			
CD34	Entre grupos	.004	2	.002	.469	.627
	Dentro de grupos	.355	85	.004		
	Total	.359	87			
PAI-1	Entre grupos	5247866.336	2	2623933.168	3.082	.051*
	Dentro de grupos	72366888.057	85	851375.154		
	Total	77614754.393	87			
SCD40L	Entre grupos	.185	2	.093	.187	.830
	Dentro de grupos	42.250	85	.497		
	Total	42.436	87			
FVW	Entre grupos	2373.005	2	1186.503	1.610	.206
	Dentro de grupos	62644.074	85	736.989		
	Total	65017.080	87			
P-Selectina	Entre grupos	9683.197	2	4841.598	1.314	.274
	Dentro de grupos	305925.513	83	3685.850		
	Total	315608.709	85			
CPE2	Entre grupos	.001	2	.000	2.026	.138
	Dentro de grupos	.016	85	.000		
	Total	.016	87			

Todos los biomarcadores se encontraron elevados en pacientes con obesidad en comparación a los pacientes que presentaban un IMC normal. Sólo se encontró significancia estadística ($p=0.40$) en análisis post hoc (Tukey) en los niveles de PAI-1.



Gráfica 19. Niveles de PAI-1 en relación al peso

9. DISCUSIÓN

La enfermedad cardiovascular isquémica es la primer causa de muerte en el mundo y la segunda en México, después de la Diabetes Mellitus, sin embargo en los adultos mayores constituye la primer causa de mortalidad en la actualidad; La aterosclerosis y la aterotrombosis coronaria son el principal sustrato fisiopatológico de la cardiopatía isquémica. La isquemia secundaria desencadena liberación de factores de crecimiento que estimulan a la médula ósea para la liberación de células progenitoras endoteliales. Estas células participan en la neoangiogénesis y el rejuvenecimiento del endotelio, además de que hay una estrecha interacción entre dichas células y los factores de riesgo cardiovascular, por lo que es de suma importancia su estudio como un nuevo marcador diagnóstico y pronóstico en esta patología.

La disfunción endotelial es un evento temprano en muchas enfermedades crónicas que en muchas ocasiones precede a el desarrollo de complicaciones cardiovasculares, la evaluación funcional del endotelio puede identificar el daño endotelial y así predecir el riesgo cardiovascular, por tal motivo, en este estudio se cuantificaron la cantidad de CPE así como biomarcadores protrombóticos y de disfunción endotelial, en pacientes con diferentes tipos de cardiopatía isquémica (Angina estable, IAMSEST e IAMCEST) que se compararon con un grupo control de sujetos sanos, constituyendo así 4 grupos de estudio, en los que se analizó si existe alguna relación entre los niveles de estos biomarcadores y la cantidad de CPE, así como las condiciones clínicas de los pacientes.

De los 88 pacientes incluidos en el estudio, 69 cuentan con el diagnóstico de cardiopatía isquémica (22 con el diagnóstico de Angina Estable, 24 con IAMSEST y 23 con IAMCEST) y 19 pertenecen al grupo control de sujetos sanos, se observaron diferencias significativas en las cifras de FC, TAS, TAD, IMC, Circunferencia de cintura, HDL, Triglicéridos, Glucosa, Creatinina, Urea y ácido úrico entre los grupos de estudio. En cuanto al grado de Riesgo Cardiovascular de Framingham, el grupo de IAMSEST presentó el mayor porcentaje de pacientes con RCV alto y muy alto.

Los niveles plasmáticos de adiponectina están inversamente correlacionados con la enfermedad arterial coronaria y los factores de riesgo para enfermedad arterial coronaria, también se han correlacionado inversamente con componentes del síndrome metabólico, por lo que protege contra la aterosclerosis y disminuye los riesgos de infarto de miocardio, asociándose así a efectos cardioprotectores; en este estudio se encontró significancia estadística ($p=0.000$) en cuanto a los niveles de adiponectina en relación al grado de riesgo cardiovascular de Framingham, encontrando niveles más altos de adiponectina en los pacientes con menor riesgo cardiovascular y niveles bajos en los pacientes con mayor riesgo cardiovascular, sin embargo, aunque también se han correlacionado de manera directa los niveles de adiponectina circulante en plasma y número de CPE, en este estudio no se encontró correlación entre estos dos biomarcadores. (Levoie, 2011). Además de que se encontraron niveles aumentados de adiponectina en pacientes con Angina estable, en mujeres y en pacientes a los cuales no se les implantó Stent.

La P- Selectina es una glicoproteína transmembrana expresado en las plaquetas que activa las líneas de células endoteliales en la superficie interna de los vasos sanguíneos, considerada así una molécula de adhesión. Debido a su papel fisiológico en la modulación de las interacciones adhesivas entre células de la sangre (plaquetas y leucocitos activados) y el endotelio durante los procesos inflamatorios o en los sitios de lesión, la molécula de adhesión P-selectina es de gran interés; niveles elevados de P-selectina soluble en el plasma se ha demostrado que se asocia con una serie de trastornos cardiovasculares, incluyendo la enfermedad de la arteria coronaria, la hipertensión y la fibrilación auricular, (Ho, 2012) en este estudio se encontró diferencia significativa entre los sujetos sanos y los pacientes con cardiopatía isquémica en los niveles P-Selectina ($p=0.000$), encontrándose niveles elevados en pacientes con cardiopatía isquémica a comparación de los sujetos sanos, debido a que los pacientes con CI presentan un endotelio activado, un proceso inflamatorio (aterosclerosis) así como lesión vascular.

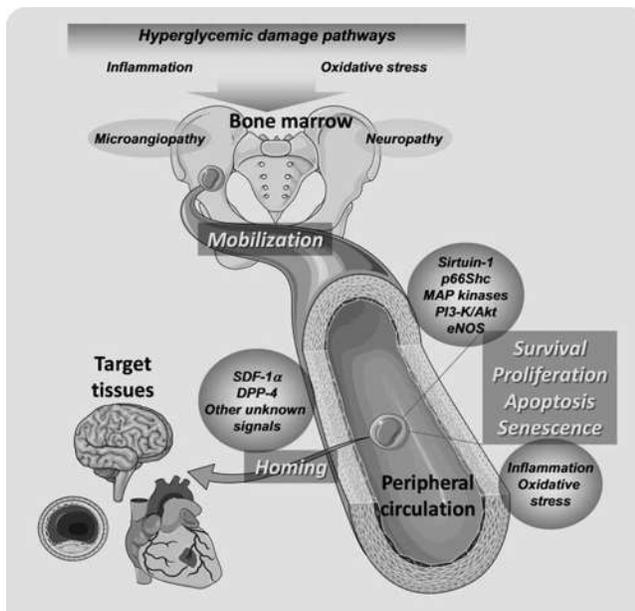
Las CPE son células que se movilizan desde la médula ósea por diferentes mecanismos, tales como isquemia tisular, el ejercicio físico, las citocinas y factores de crecimiento. Una vez en el torrente sanguíneo, las CPE intentan restaurar la integridad del

endotelio dañado, lo que contribuye a la homeostasis cardiovascular y endotelial y contribuyen a la formación de nuevos vasos sanguíneos (vasculogénesis posnatal). La deficiencia y reducción de CPE son rasgos distintivos de la DM tipo 1 y tipo 2. La diabetes mellitus (DM) es un trastorno metabólico complejo caracterizado por hiperglucemia debido a la secreción de insulina deteriorada y / o resistencia a la insulina.

En la diabetes, glucotoxicidad surge debido a un metabolismo alterado de la glucosa, lípidos y de las proteínas, que contribuye a la lipotoxicidad y el estrés oxidativo. Así la glucotoxicidad y la lipotoxicidad son los principales responsables para el desarrollo de la disfunción endotelial en pacientes diabéticos, que aumenta el riesgo de enfermedades vasculares. En la diabetes tipo 1 y tipo 2, hay una disfunción de CPE en términos de alteración de la movilización (debido a disminución de VEGF), proliferación, adhesión, y la incorporación en estructuras vasculares, así como un incremento en la apoptosis de las CPE (principalmente periférica), disminución de la actividad de MMP-9, y la liberación de NO; lo que podría tener un papel fisiopatológico en el desarrollo de las complicaciones crónicas de la DM, además de que la DM se asocia típicamente con un estado crónico de inflamación subclínica, lo cual afecta negativamente a las CPE.

En este estudio la cantidad de CPE se encontró disminuida en diabéticos descontrolados, esto debido a que el estrés oxidativo debido a la hiperglucemia y la inflamación crónica subclínica podría explicar la alteración de la función de las CPE, además de que se ha comprobado que esta situación además induce daño en el microambiente de la Médula ósea, que afecta la liberación CPE; siendo por esto, más frecuentes y de temprana presentación las complicaciones vasculares en los pacientes con DM descontrolada (microangiopatía y neuropatía). (Menegazzo, 2012).

La hiperglucemia así como la inflamación y estrés oxidativo contribuye al desarrollo de microangiopatía y neuropatía ósea que, a su vez, perjudica la movilización de EPC. Una vez en la circulación, las CPE se someten a una serie de desafíos moleculares y su supervivencia también pueden verse afectadas por inflamación sutil y especies reactivas de oxígeno. Además de que existe un homing defectuoso. (Menegazzo, 2012).



Vasa et al. fueron los primeros en relacionar el recuento de EPC circulantes con el riesgo cardiovascular, mostrando que los pacientes con enfermedad arterial coronaria tenían números más bajos CPE circulantes que los controles de la misma edad y sugiriendo que EPC fueron menores en los pacientes con el mayor número de factores de riesgo cardiovasculares. (Donahue, 2013). La cantidad de CPE y CD34+ se encontró disminuida en pacientes con Angina estable en edades avanzadas y en mujeres, esto debido a que reducción de las cantidades EPC se observa en pacientes con enfermedad arterial coronaria estable y crónica. Por el contrario, un aumento del número de CPE se observa a menudo en los pacientes que presentan un síndrome coronario agudo tales como infarto agudo de miocardio o la angina de pecho inestable, lo que sugiere la movilización de CPE durante los eventos isquémicos agudos, sin embargo la disfunción endotelial, la inflamación crónica y la progresión de la placa de ateroma que se presenta en la angina crónica estable y los pacientes de edad avanzada, favorece la presencia de niveles bajos de CPE circulantes. (Gomari, 2011).

Las CPE se encontraron aumentadas en pacientes a los cuales se les implantó un Stent convencional, esto debido probablemente a que el daño endotelial causado por el inflado del balón y / o implantación de stent durante la intervención coronaria percutánea (PCI) da lugar a una respuesta inflamatoria local intensa, lo que resulta en la hiperplasia neointimal, reestenosis intra-stent y trombosis del stent potencialmente aguda, lo cual moviliza CPE al sitio de la lesión vascular para promover la curación vascular, sin embargo, este fenómeno no se presenta en la implantación de Stents medicados. (Donahue, 2013).

Los niveles de PAI-1 se encontraron disminuidos en pacientes con angina estable, en pacientes de edad avanzada y aumentados en mujeres y en pacientes con IAMCEST.

Los niveles de sCD40L se encontraron incrementados en mujeres y en pacientes con IAMSEST

Los niveles de FvW se encontraron incrementados en hombres y en pacientes con IAMCEST.

Los niveles de P-Selectina se encontraron elevados en hombres y en pacientes con IAMCEST y en diabéticos descontrolados.

10. CONCLUSIONES:

Existe una cantidad menor de Células progenitoras endoteliales circulantes en los pacientes con angina estable en relación a los controles sanos, además existe una menor cantidad de CPE en pacientes de mayor edad, en el género femenino y en los pacientes con DM, sobre todo en los pacientes con DM descontrolada, esto debido a el estado inflamatorio crónico, al estrés oxidativo y a la disfunción endotelial que presentan estos pacientes, lo cual afecta tanto la movilización, la función, el homing y favorece la apoptosis de la CPE. Se observó además que la cantidad de CPE se encuentra aumentado en pacientes a los que se les implantó un STENT convencional. Sin embargo, no se observó relación entre la cantidad de CPE y el riesgo cardiovascular de Framingham, ni con el tiempo de evolución, ni con el tratamiento médico establecido. Concluyendo que la cantidad de células progenitoras va a depender de múltiples factores como la edad, el género, la presencia de Diabetes Mellitus (sobre todo en descontrol), observándose así cantidades disminuidas de CPE circulantes en pacientes con Angina Estable.

Los niveles de P- Selectina se encuentran elevados en los pacientes con cardiopatía isquémica, sobre todo en los pacientes con IAMCEST, en el género masculino y en pacientes con DM en descontrol, por lo que guarda relación inversa con la cantidad de CPE.

Los niveles de adiponectina se encuentran elevados en pacientes con Angina estable, en el género femenino, en pacientes a los cuales no se les implantó STENT, en pacientes con HDL alta y con LDL baja y en los pacientes con menor riesgo cardiovascular de Framingham, se encuentra disminuida en el IAMCEST y en el género masculino.

Los niveles de PAI-1 se encuentra elevado en el género femenino, en los pacientes con obesidad y disminuido a mayor edad.

Los niveles de sCD40L se encuentran elevados en pacientes con IAMSEST y en pacientes de género femenino y en pacientes con LDL elevado.

11. PERSPECTIVAS:

Dar seguimiento de los pacientes con cardiopatía isquémica a un plazo mayor para poder determinar y correlacionar la cantidad de CPE con la presencia de Eventos cerebro pulmonares mayores y así poder determinar el valor pronóstico de estas células, así como su correlación con los biomarcadores cuantificados.

Que este trabajo sirva de base y ayude a la realización de otros estudios relacionados posteriores.

12. REFERENCIAS:

1. Aguiar- Souto P, Gonzalez-Juanatey JR, Angina crónica estable: Fisiopatología y formas de manifestación clínica. *Rev Esp Cardiol Supl.* **2010**; 10:11B-21B.
2. Aicher A, Zeiher AM, Dimmeler S. **2005**. Mobilizing endothelial progenitor cells. *Hypertension*;45:321–325.
3. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, Witzenbichler B, Schatteman G, Isner JM. **1997**. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*; 275:964–967.
4. Badimón L, Vilahur G, Padró T. **2009**. Lipoproteínas, plaquetas y aterotrombosis. *RevEsp Cardiol*;62(10) 1161-78.
5. Bodi V, Facila L, Sanchis J y cols. **2002**, Pronóstico a corto plazo de los pacientes ingresados por probable síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST. Papel de los nuevos marcadores de daño miocárdico y de los reactantes de fase aguda. *RevEspCardiol* 2002;55(8):823-30.
6. Catzin-Kuhlmann A. **2006**, Angina inestable e infarto del miocardio. En: Manual de terapéutica médica del Instituto Nacional de Ciencias médicas y nutrición. “Salvador Zubirán”, Gutiérrez-Cirlos C. et al. Mc Graw Hill, Quinta edición, México, DF. 33- 40 pp.
7. Domínguez-Franco A y cols. Factores que influyen en la liberación d células endoteliales progenitoras y citocinasangiogénicastrans un infarto de miocario extenso. *Medicina Clinica*, 2011.
8. Domínguez- Reyes CA, 2007, Adiponectina: El tejido adiposo más allá de la reserva inerte de energía. *Revista de endocrinología y nutrición*. Vol. 15, Numero 3, Julio- septiembre 2007, 149-155.
9. Donahue M, et al. 2013. Endothelial progenitor cells in coronary artery disease, *Biological chemistry*, ISSN 1431-6730, 10/2013, Volumen 394, Número 10, pp. 1241 – 1252.
10. Esper JR, Nordaby AR, Vilaríño OJ, Paragano A, Cacharrón LJ, Machado AR. **2006**. Endothelialdysfuntion: a comprehensiveappraisal. *CardiovascDiabet*; 5 (4): 1-18.
11. Fadini GP, Agostini C, Avogaro A. **2005**.Characterization of endothelial progenitor cells. *BiochemBiophys Res Commun*;336:1–2.
12. Gagliardi J, Bermejo E, Galán V, Marino J, Lazzari M, Bertolasi C. 2007. Evaluación de los niveles plasmáticos de células progenitoras en pacientes con enfermedad coronaria crónica. *Revista argentina de cardiología*. Vol 75. No.6. P. 429-435.
13. García-Moll X, Kaski JC, **2000**. Cardiopatía isquémica: marcadores de inflamación y riesgo cardiovascular. *Rev Cubana Med* 2000;39(2):120-40
14. Gomari F, et al. 2011. Endothelial progenitor cells in cardiovascular disease and chronic inflammation: from biomarker to therapeutic agent. *Biomarkers in Medicine*. 5.6 (Dec. 2011): p731.
15. González-Guzmán R. Alcalá-Ramírez J. **2010**. Enfermedad isquémica del corazón, epidemiología y prevención. *RevFacMed UNAM*. Vol. 53, No. 5. Septiembre-Octubre 2010. P. 35 – 43.
16. Guadalajara JF. **2006**. *Cardiología*. Méndez Editores, 5ta. Edición, México, DF.1014 pp.
17. Guía Española de hipertensión arterial. Estratificación y valoración del riesgo cardiovascular, *Hipertensión*, **2005**;22 Supl 2:9-15.
18. Hill J, et al. **2003**.Circulating Endothelial Progenitor Cells, Vascular Function, and Cardiovascular Risk, *The New England Journal of Medicine* 348;7,February 13, 2003. P. 593-600.
19. Ho A, et al. 2012. Development of an immunopredictor for the evaluation of the risk of cardiovascular diseases based on the level of soluble P-selectin, Immunoaffinity methods and related methods. *Volume 56, Issue 2, February 2012, Pages 223–229*
20. Irribarra V, Germain A, et al.**2000**. Disfunción endotelial como alteración primaria en las patologías vasculares. *Rev. méd. Chile* v.128 n.6 Santiago.
21. Jiménez-Navarro MF, González FJ, Caballero-Borrego J y cols. 2011. La extensión de la enfermedad coronaria determina la movilización de la células progenitoras endoteliales y las

- citocinas tras un primer infarto de miocardio con elevación del ST. *RevEspCardiol.* 2011; 64 (12): 1123-1129.
22. Karam D, Echeverría S, et al. **2009.** Diagnóstico y tratamiento de la cardiopatía isquémica crónica. Guía práctica clínica del Instituto Mexicano del Seguro Social. 51p.
 23. Kumar A, Cannon, C, Acute Coronary Syndromes: Diagnosis an Management, *Mayo Clin Proc*, october **2009**, 84(10):917-938.
 24. Lahoz C, Mostaza JM. **2007.** La aterosclerosis como enfermedad sistémica. *RevEspCardiol.* 2007;60(2):184-95.
 25. Levoie V, et al. 2011. Functional Effects of Adiponectin on Endothelial Progenitor Cells, *Obesity Journal*, Vol 19, Núm. 4 Abril 2011. Pp 722- 728.
 26. Macías- Abraham C, Del valle- Pérez LO y cols. **2009.** Moléculas de adhesión. Importancia en el síndrome coronario agudo. *Revista cubana de Hematología, inmunología y medicina transfusional*, 2009;25(2):18.28.
 27. Martínez- Murillo C. 2008. Hemostasia y trombosis. Editorial Prado. 2da. Edición, México , DF. 768 pp.
 28. Meco JF, Pintó X. **2002.** Cálculo del riesgo cardiovascular. *ClinInvestArterioscl* 2002;14(4):198-208.
 29. Menegazzo L, et al. 2012, Endothelial progenitor cells in diabetes mellitus. *Biofactors*.
 30. Murasawa S, Asahara T. **2005.** Endothelial Progenitor Cells for Vasculogenesis. *Physiology* 20:36-42.
 31. OMS. **2011.** Nota informativa: Enfermedades Cardiovasculares. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/index.html>
 32. Ouviaña SM, Palmer L, Sasseti B. **2004.** Endotelina-1, óxido nítrico y factor de von Willebrand en pacientes hipertensos diabéticos tipo 2. *Acta BioquímClínLatinoam*; 38(4): 471-6.
 33. Pandolfi A, Cetrullo D, Polishuck R, Alberta MM, Calafiore A, Pellegrini G, Vitacolonna E, Capani F, Consoli A. **2001.** Plasminogen Activator Inhibitor Type 1 Is Increased in the Arterial Wall of Type II diabetic subjects. *ArteriosclerThrombVascBiol*; 21: 1378-1382.
 34. Pabón-Osuna P, Nieto-Ballesteros F, Morfíño-Muñoz JL y cols. **1998.** Influencia del volumen plaquetario medio sobre el pronóstico a corto plazo del infarto agudo de miocardio. *RevEspCardiol* 1998; 51: 816-822
 35. Rodríguez-Losada N, Segura-Segura B, **2010.** Colonia celular de células progenitoras endoteliales en paciente tras infarto agudo de miocardio. *CARDIOCORE.* 2010;45(1) : 26.
 36. Rustemeyer P, Wittkowski W, Jurk K, Koller A. **2006.** Optimized flow cytometric analysis of endothelial progenitor cells in peripheral blood. *J Immunoassay Immunochem*; 27: 77–88.
 37. Sambola A, Fuster V, Badimón JJ. 2003. Papel de los factores de riesgo en la trombogenicidad sanguínea y los síndromes coronarios agudos. *Rev. Esp. Cardiol.* 2003; 56:1001 – 1009.
 38. Salazar-Exaire JD et al. **2004.** P-selectina como marcador de reactividad endotelial en pacientes con preeclampsia. *Cir Ciruj*; 72: 121-124
 39. Santilli F, Basili S, Ferroni P, Daví G. **2007.** CD40/CD40L system and vascular disease. *Intern Emerg Med*; 2: 256-268.
 40. Schmidt-Lucke C, et al. Reduced Number of Circulating Endothelial Progenitor Cells Predicts Future Cardiovascular Events: Proof of Concept for the Clinical Importance of Endogenous Vascular Repair, *Circulation*, Journal of the American Heart Association, May 31, **2005**.
 41. Schmidt-Lucke C, et, al . Quantification of circulating Eothelial Progenitor Cell using the modified ISHAGE protocol, *Plos One*, November **2010**, Vol.5, Issue 11, e13790.
 42. Tedgui A. **2005.** The role of inflammation in atherothrombosis: implication for clinical practice. *Vasc Med*; 10: 45-53.
 43. Topol EJ, et al. 2004. Atlas of Atherothrombosis. Science Press Ltd. London, UK. 2004. 162 pp.
 44. Toros-Xavier H, Castellanos R, Fernandez-Britto JE. 2005. La asociación de dislipidemia y trombosis en la inestabilización de la placa aterosclerótica. *Revista Cubana de Investigación Biomédica* 2005;24(3)
 45. Urbich C, Dimmeler S. **2004.** Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology. *Circ Res*; 95:343–353.

Código de campo cambiado

46. Vasa M, et al. **2001**. Number and Migratory Activity of Circulating Endothelial Progenitor Cells Inversely Correlate With Risk Factors for Coronary Artery Disease. *Circulation Research*, American Heart Association. July 6, 2001.
47. Villar R, et al. Escalas en medicina interna: *Cardiología. Galicia Clin* **2010**; 71 (1): 31-36
48. Werner N, Kosiol S, Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, Link A, Bohm M, Nickenig G. **2005**. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med*; 353:999–1007.
49. Werner N, Nickenig G. **2006**. Influence of cardiovascular risk factors on endothelial progenitor cells: limitations for therapy? *ArteriosclerThrombVascBiol*; 26:257–266.
50. White HD, Chew DP, **2008**, Acute myocardial infarction, *Lancet* ; 372: 570–84
51. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF Jr, Vita JA. **2003**. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol*;42:1149–1160.
52. Xiao Q, et al. Endothelial Progenitor Cells, Cardiovascular Risk Factors, Cytokine Levels and Atherosclerosis – Results from a Large Population-Based Study. www.plosone.org. October, 2007

ANEXO I.
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO
SECRETARIA DE SALUD
HOSPITAL GENERAL “DR. MIGUEL SILVA”
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROTOCOLO DE ESTUDIO:

Nombre del Proyecto: ESTUDIO DE CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES Y BIOMARCADORES DE ACTIVACIÓN PLAQUETARIA Y DAÑO ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR ISQUÉMICA.

INTRODUCCION: La siguiente información describe el protocolo al cual se le está invitando para participar de forma activa. El investigador deberá responder cualquier duda que surja a partir de la lectura de ésta.

PROPOSITO DEL ESTUDIO: La presente investigación pretende contribuir al diagnóstico temprano y a la determinación del pronóstico de cardiopatía isquémica mediante la correlación los niveles plasmáticos de biomarcadores protrombóticos de daño endotelial con el porcentaje de células progenitoras endoteliales circulantes.

PROCEDIMIENTO: Ha sido elegido para participar en este estudio, si usted desea participar, será asignado al grupo de intervención o al grupo de intervención control, de acuerdo a los criterios de inclusión establecidos. Se le realizarán una serie de preguntas sobre su historia clínica con énfasis en el interrogatorio de factores de riesgo cardiovascular y la medición de presión arterial, peso, talla, índice de masa corporal, circunferencia abdominal. Se realizará toma de muestra de sangre periférica (del antebrazo) para realizar: Biometría Hemática, Glucosa, Urea, Creatinina, Ácido úrico, perfil de lípidos y PCR. Por técnica de ELISA las concentraciones de: PAI-1, FvW, L-CD40, Adiponectina y P selectina y por citometría de flujo se cuantificarán células progenitoras endoteliales y Micropartículas plaquetarias.

BENEFICIOS PARA PARTICIPANTES: Los resultados proporcionarán información relevante del papel de las células progenitoras endoteliales y su correlación con biomarcadores protrombóticos a fin de diagnosticar tempranamente, determinar pronóstico y prevenir progresión de enfermedad cardiovascular.

CONFIDENCIALIDAD. La información obtenida durante el desarrollo de este estudio es absolutamente confidencial y no puede ser utilizada con otro fin. Usted será informado acerca de cualquier hallazgo de importancia para su salud durante el desarrollo de este estudio.

PARTICIPACION VOLUNTARIA: Es de mi conocimiento que seré libre de retirarme de la presente investigación en el momento que lo desee. Además sé que puedo pedir información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación en este estudio. Comprendo que acepto someterme al procedimiento indicado. Debo informar a la brevedad a los investigadores de cualquier cambio importante que ocurra en mi salud, incluyendo el consumo de medicamentos, suspensión o inicio de algún hábito (p. ej. tabaquismo, alcoholismo) o cambio de domicilio. Recibiré, si así lo solicito una copia de los resultados de los estudios de laboratorio que se me practiquen. Los costos del estudio los cubrirán los fondos de la unidad de investigación y yo como paciente los estudios paraclínicos propios del proyecto de investigación.

He comprendido el contenido de esta carta de consentimiento informado, mis dudas han sido resueltas y voluntariamente acepto participar en este estudio.

Para cualquier duda o pregunta se puede comunicar a la Unidad de Investigación dirigiéndose al Dr. Carlos Arturo Areán Martínez, Jefe del Servicio de Cardiología.

FIRMA DEL INVESTIGADOR Y FECHA.

NOMBRE, FIRMA DEL PACIENTE Y FECHA

FIRMA DE TESTIGO Y FECHA

FIRMA DE TESTIGO Y FECHA