

La infiltración de macrófagos en las lesiones coronarias primarias está asociada con reestenosis luego de la intervención coronaria percutánea

V. BERNARDI *, J. L. LOPEZ CUELLO *^o, I. F. PALACIOS *^o, A. RODRIGUEZ *^Δ^o,
H. K. GOLD *^o, V. FUSTER #^o, J. T. FALLON *^o, P. R. MORENO *

* Sanatorio Otamendi y Sanatorio Anchorena, Buenos Aires.

Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, USA.

^o Mount Sinai School of Medicine, New York, USA

^Δ Miembro Titular SAC

^o F.A.C.C.

Antecedentes

La reestenosis es la limitación mayor para la revascularización coronaria percutánea; se la ha relacionado con la liberación de metaloproteinasas y factor de crecimiento de los macrófagos, provocando la migración y proliferación del tejido muscular liso. Las hipótesis de este estudio fueron: 1) que las lesiones primarias que presentan reestenosis luego de una aterectomía coronaria tienen mayor contenido de macrófagos que aquellas con buena evolución; 2) que la reestenosis angiográfica está relacionada con el contenido de macrófagos de la lesión primaria.

Método y resultados

Se realizó aterectomía direccional coronaria de la lesión culposa a 50 pacientes con angina inestable. Se tiñeron las muestras obtenidas con hematoxilina-eosina, tinción tricrómica, y con anticuerpos monoclonales antimacrófagos humanos (KP-1). Se hizo un control angiográfico dentro de las 16 ± 2 semanas. La reestenosis, definida como una pérdida mayor al 50% del diámetro por angiografía cuantitativa, estuvo presente en 30 pacientes; los otros 20 pacientes (menos de 50% de estenosis) constituyeron el grupo control. Los factores de riesgo coronario eran similares en ambos grupos. Las muestras del material de las aterectomías fueron cuantificadas por planimetría computarizada; el total de áreas examinadas fue $5,03 \pm 0,4 \text{ mm}^2$ en los pacientes con reestenosis y $5,26 \pm 0,72 \text{ mm}^2$ en aquellos sin reestenosis ($p = \text{NS}$). El porcentaje de áreas ricas en macrófagos fue significativamente mayor en las placas de pacientes con reestenosis ($19 \pm 13\%$ versus $10,3 \pm 2\%$) ($p = 0,005$). El análisis de regresión lineal mostró que el porcentaje del diámetro de estenosis, la pérdida tardía en el diámetro luminal mínimo y el índice relativo de pérdida tardía en el seguimiento angiográfico estuvieron relacionados en forma significativa con el contenido de macrófagos en el momento de la aterectomía direccional coronaria ($p < 0,01$).

Conclusión

Las áreas ricas en macrófagos son significativamente mayores en las lesiones primarias de los pacientes que desarrollan reestenosis luego de la intervención coronaria percutánea. Este incremento del contenido de macrófagos sugiere que células inflamatorias estarían involucradas en el complejo mecanismo de dicha reestenosis. REV ARGENT CARDIOL 1996; 64 (2): 199-207.

Palabras clave Macrófagos - Reestenosis - Aterectomía

La posibilidad de reestenosis es la limitante mayor para la revascularización percutánea. El mecanismo involucrado en el proceso de reestenosis incluye: reestenosis precoz, proliferación de tejido muscular liso con producción de matriz extracelular y remodelamiento arterial. (1-3)

Los macrófagos derivados de los monocitos circulantes son el mayor componente celular y constituyen el depósito leucocitario más abundante en la placa de aterosclerosis. (4) Juegan un papel fundamental en los procesos iniciales de formación de las células espumosas, en la progresión y ruptura de la

placa coronaria, de importancia capital en la angina inestable y en el infarto agudo de miocardio. (4-8) No obstante, el papel de los macrófagos en la reestenosis posrevascularización percutánea está en estudio y aún no ha sido dilucidado. La actividad de los macrófagos podría relacionarse con la reestenosis por su capacidad de liberar factores de crecimiento, citocinas y metaloproteinasas involucradas en los procesos de fibroproliferación luego de una injuria vascular. (9, 10) Además, la pérdida tardía de luz arterial luego de una angioplastia coronaria está asociada con la actividad de los monocitos circulantes antes del tratamiento. (11) El tejido muscular liso ha sido implicado en la fisiopatología de los síndromes isquémicos agudos con incremento de trombosis en pacientes con angina de reposo. (12-14) Además, la reestenosis se presenta con mayor incidencia en pacientes con angina inestable que en pacientes con angina estable, sugiriendo una mayor actividad de la placa en el momento de la dilatación. (15)

El presente estudio fue diseñado para comprobar las siguientes hipótesis: 1) que las lesiones primarias que evolucionan a reestenosis luego de una aterectomía direccional coronaria tienen un contenido mayor de macrófagos y de tejido muscular liso que aquellas lesiones primarias que no la desarrollan; 2) que la pérdida tardía de luz arterial luego de una aterectomía direccional coronaria está relacionada con el contenido de macrófagos de la lesión primaria.

MATERIAL Y METODO

Población

Los pacientes debían reunir los siguientes criterios de inclusión:

- 1) Lesiones apropiadas para aterectomía direccional coronaria (tipo B₁, B₂, no calcificadas con un diámetro de referencia mayor de 2,5 mm).
- 2) Que no tuvieran procedimientos previos en el sitio de la lesión culposa.
- 3) Ausencia de enfermedad vascular periférica.
- 4) Aterectomía direccional coronaria exitosa de la lesión primaria (reducción mayor de 20% del diámetro de estenosis y con un diámetro de estenosis residual menor de 50%).
- 5) Que la muestra de tejido coronario obtenido de la aterectomía direccional coronaria fuera mayor a 1,5 mm².
- 6) Seguimiento angiográfico dentro de 1-12 meses posaterectomía direccional coronaria.

Entre octubre de 1991 y noviembre de 1994 se realizaron 724 aterectomías direccionales coronarias, 106 de las cuales tuvieron seguimiento angiográfico. Cumplían con los criterios de inclusión para este estudio 50 pacientes con angina inestable (38 hombres y 12 mujeres, edad media 61 ± 15 años, rango 41-80

años). (16) El resto de los pacientes con aterectomía exitosa fueron excluidos por las siguientes razones: por tener procedimientos previos en el sitio de la lesión culposa (44 pacientes), por control angiográfico tardío, más de 12 meses (4 casos), o por tener una muestra de tejido de la aterectomía direccional coronaria menor a 1,5 mm² (8 pacientes).

Muestra de aterectomía

Los trozos de tejido obtenidos de cada lesión fueron inmediatamente fijados en formol al 10%. El tejido fue incluido en parafina de acuerdo con la técnica convencional. Se realizaron cortes seriados de 5 µm, montados en poli-L-lisina, teñidos con hematoxilina-eosina, y con el método de tinción tricrómica.

Inmunocitoquímica

Las muestras fueron teñidas con anticuerpos antimacrófagos humanos, usando cortes de 5 µm, desparafinados y rehidratados con agua destilada. Luego fueron incluidos en PBS (*phosphate-buffered-saline*). Se usaron 7,6 µg/ml antiCD 68; KP-1 (M814 DAKO Carpintera, CA) como anticuerpos antimacrófagos humanos. Además se utilizó biotina-estreptavidina y peroxidasa DAB.

Se identificó el tejido muscular liso con 0,1 µg/ml de antiactina de tejido muscular liso. Se rehidrataron las muestras, luego se trataron con gotas de suero normal y H₂O₂ al 3% con agua, se bañaron en PBS e incubaron con anticuerpos primarios de 0,5-2 horas a 37°C. Los cortes fueron bañados en PBS y se detectaron los anticuerpos primarios usando biotina-estreptavidina (Super Sensitive Kit Bionenex) por 20 minutos a temperatura ambiente. Nuevamente las muestras fueron bañadas en PBS y reactivadas con *horseradish-peroxidase-conjugated streptavidin* por 20 minutos a temperatura ambiente, desarrollándose con DAB. Luego las muestras fueron rehidratadas, cubiertas y escurridas con Permount (Fisher-Scientific, Fair Lawn, NJ) y controladas con *non-immune negative* para cada tinción antigénica.

Morfometría

El área total de la muestra y el área segmentaria de cada componente de la placa fueron cuantificadas por planimetría. Fueron contorneadas manualmente las áreas de macrófagos, tejido muscular liso y factor tisular, usando la muestra con la tinción específica para cada componente. Las distintas áreas fueron cuantificadas en mm² y en porcentaje. Las muestras con un área total menor de 1,5 mm² fueron excluidas. La tinción tricrómica permitió identificar y cuantificar cinco componentes: 1) tejido esclerótico, compuesto por abundante colágeno y pocas células (Figura 1A); 2) tejido fibrocelular, con abundantes células de tejido muscular liso y abundante colágeno



Figura 1A



Figura 1B

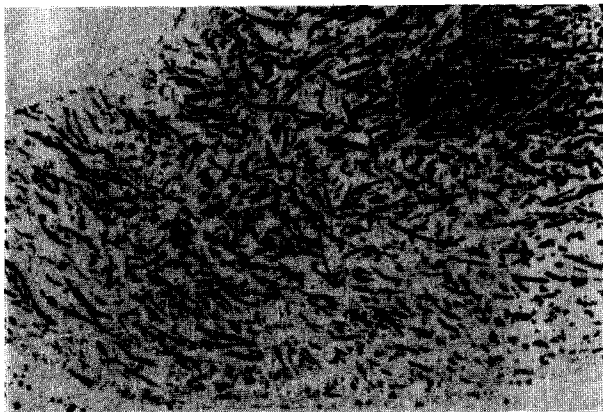


Figura 1C

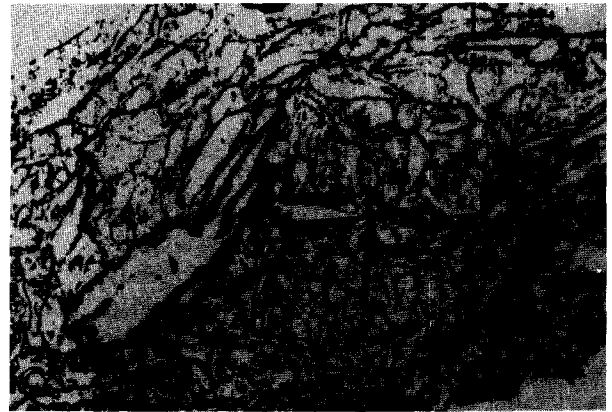


Figura 1D

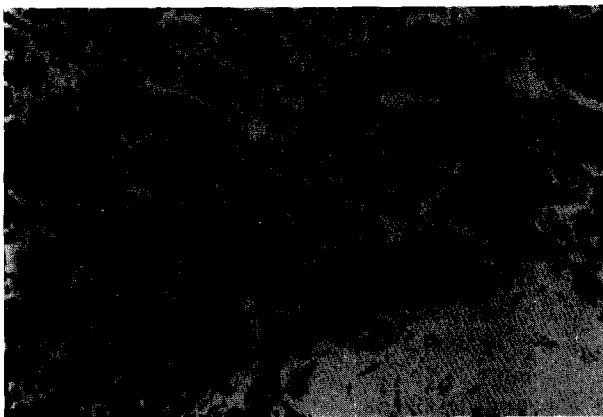


Figura 1E

no (Figura 1B); 3) tejido hipercelular, con una matriz de tejido conectivo y numerosas células estrelladas (Figura 1C); 4) tejido aterosclerótico, compuesto por tejido acelular, cristales de colesterol y matriz de tejido conectivo adulterado (Figura 1D); 5) trombo, un conglomerado de glóbulos rojos (Figura 1E).

La capa media fue reconocida por la presencia de

la membrana elástica interna, el tejido muscular liso normal y la matriz de tejido conectivo.

Cuantificación de estenosis coronaria

Los pacientes fueron examinados angiográficamente previa e inmediatamente a la aterectomía direccional coronaria y en el seguimiento alejado ($16 \pm$

Fig. 1. Con la tinción tricrómica se identificaron 5 componentes: tejido esclerótico compuesto por tejido colágeno y escasas células (Figura 1A); tejido fibrocelular con tejido colágeno y abundantes células musculares lisas (Figura 1B); tejido hipercelular, una matriz de tejido conectivo y numerosas células estrelladas (Figura 1C); tejido aterosclerótico compuesto por un tejido acelular, cristales de colesterol y una matriz de tejido conectivo alterado (Figura 1D) y trombo, un conglomerado de glóbulos rojos (Figura 1E).

Tabla 1
Datos clínicos y demográficos de pacientes con reestenosis versus pacientes sin reestenosis luego de una aterectomía direccional coronaria exitosa

	Con reestenosis (n = 30)	Sin reestenosis (n = 20)	p
Edad (años)	62 ± 2	59 ± 2	NS
Masculino/Femenino	24/6	14/6	NS
Colesterol (mg/dl)	230 ± 19	198 ± 13	NS
LDL (mg/dl)	120 ± 7	140 ± 2	NS
HDL (mg/dl)	40 ± 2	41 ± 3	NS
Hipertensión	10	10	NS
Diabetes	5	3	NS
Tabaquismo	7	11	NS
Heredofamiliares	7	12	NS

LDL: lipoproteína de baja densidad. HDL: lipoproteína de alta densidad.

2 semanas después) usando las mismas proyecciones con la misma angulación. El diámetro luminal mínimo de cada una de las lesiones tratadas fue medido usando como parámetro de referencia el catéter angiográfico. La reestenosis fue definida como una disminución mayor del 50% en el diámetro en la angiografía de seguimiento. El porcentaje de estenosis, el diámetro de referencia y el diámetro luminal mínimo fueron determinados usando análisis coronario cuantitativo (QCA), luego de la administración de 100 µg de nitroglicerina, usando un programa computarizado MEDIS Reiber. Las dimensiones absolutas con este sistema se miden con un margen de error de 0,08 mm y con una alta correlación interobservador ($r = 0,90$). La ganancia inmediata fue definida como un incremento en el diámetro absoluto del segmento tratado inmediatamente después del procedimiento. La pérdida luminal tardía fue definida como una disminución en el diámetro absoluto del segmento tratado en la angiografía de seguimiento.

Análisis estadístico

Los resultados son expresados en media ± DS y fueron considerados estadísticamente significativos valores de $p < 0,05$. Para la comparación de las variables discretas se utilizó la prueba de Fisher. Para la comparación de dos poblaciones lineales se usó la prueba de Student de dos colas. Para comparar datos no compatibles con una frecuencia normal de distribución también se aplicó dicha prueba con transformación logarítmica de cada área individual y/o el valor de porcentaje. Con los 5 segmentos de áreas descriptas en la sección morfometría se realizó un análisis de regresión múltiple usando el sistema de Cox. El área de macrófagos (KP1) y el área de tejido muscular liso (*alfa actin*) fueron incluidos como variables independientes y la reestenosis angiográfica

Tabla 2
Análisis de cuantificación angiográfica coronaria en pacientes con reestenosis versus pacientes sin reestenosis luego de una aterectomía direccional coronaria exitosa

	Con reestenosis (n = 30)	Sin reestenosis (n = 20)	p
Diámetro de referencia	3,13 ± 0,11	3,39 ± 0,11	0,13
Estenosis preADC (%)	75,1 ± 2	77,1 ± 2	NS
Estenosis posADC (%)	21 ± 2,3	21 ± 2,8	NS
Estenosis seguimiento (%)	78 ± 2	25 ± 3	0,0001
DLM preADC (mm)	0,73 ± 0,06	0,88 ± 0,14	0,2
DLM posADC (mm)	2,53 ± 0,1	2,73 ± 0,1	0,15
DLM seguimiento (mm)	0,68 ± 0,06	2,52 ± 0,1	0,0001
Ganancia inicial (mm)	1,75 ± 0,1	1,84 ± 0,16	NS
Pérdida tardía (mm)	1,79 ± 0,1	0,37 ± 0,2	0,0001
Intervalo en semanas	17 ± 4	15 ± 2	NS

ADC: aterectomía direccional coronaria. DLM: diámetro luminal mínimo.

(pérdida luminal tardía) fue incluida como variable resultante.

RESULTADOS

Datos clínicos y demográficos

Las características demográficas de la población fueron similares para ambos grupos y se muestran en la Tabla 1. La presentación clínica fue angina inestable para todos los pacientes. En los enfermos con reestenosis la edad media fue 62 ± 2 años; 24 de ellos eran hombres y 6 mujeres y el nivel total de colesterol plasmático fue de 230 ± 19 mg%. En los casos sin reestenosis la edad media fue 59 ± 2 años, 14 hombres y 6 mujeres, y el nivel de colesterol plasmático fue de 198 ± 13 mg%. No existe diferencia significativa para estos datos entre ambos grupos. Las fracciones de LDL y HDL fueron 120 ± 7 mg% y 40 ± 2 mg% en los pacientes con reestenosis y 140 ± 2 mg% y 41 ± 3 mg% en pacientes sin reestenosis ($p = NS$). La incidencia de otros factores de riesgo para enfermedad coronaria, tales como: hipertensión arterial, diabetes, tabaquismo y antecedentes heredofamiliares, fue similar en ambos grupos.

Datos angiográficos

La localización de la lesión culposa tuvo la misma distribución en ambos grupos. La arteria descendente anterior, la coronaria derecha y la circunfleja fueron responsables en el 50%, 35% y 15% respectivamente en el grupo de reestenosis, y 57%, 24% y 19% respectivamente en el grupo sin reestenosis ($p = NS$). El análisis cuantitativo coronario se muestra en la Tabla 2. El diámetro de referencia, el porcentaje del diámetro de estenosis y el diámetro luminal mínimo antes y después de la aterectomía direccional coronaria fueron similares en ambas poblaciones. Como resultado, la

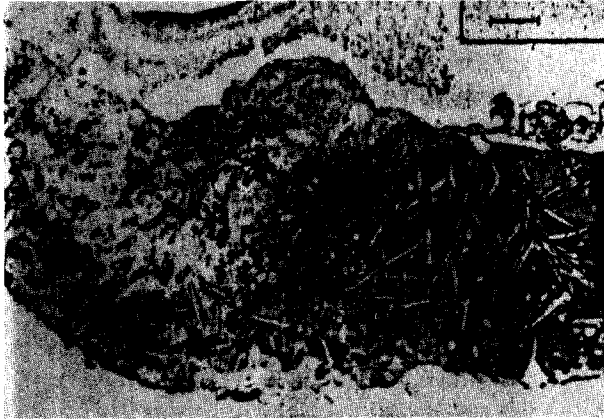


Figura 2A

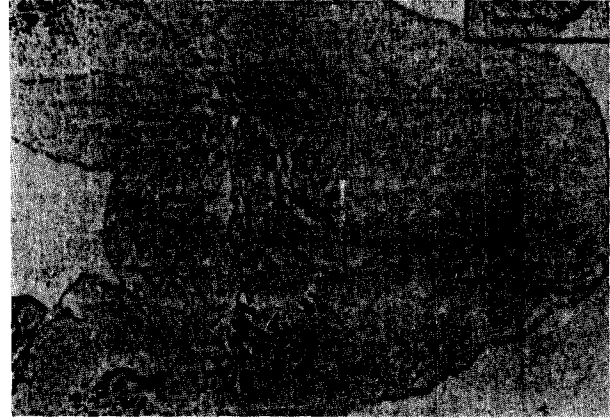


Figura 2B

Fig. 2. Se ilustra un ejemplo de infiltración rica en macrófagos en tejido de aterectomía direccional coronaria de un paciente con reestenosis y de otro sin reestenosis (Figuras 2A y 2B respectivamente).

ganancia luminal fue también similar. Como era de esperar, el diámetro luminal mínimo fue menor en los pacientes con reestenosis ($0,68 \pm 0,06$ mm) que en los pacientes sin reestenosis ($2,52 \pm 0,1$ mm) ($p \leq 0,0001$). Más aún, la pérdida luminal tardía fue mayor en el grupo de reestenosis ($1,79 \pm 0,1$ mm) que en el grupo de no reestenosis ($0,37 \pm 0,2$ mm) ($p = 0,0001$). La pérdida tardía relativa fue también mayor en los pacientes con reestenosis ($57 \pm 4,4\%$) que en el grupo sin reestenosis ($10,5 \pm 4,7\%$) ($p = 0,0001$).

Datos morfológicos

El área total y las áreas de cada componente de la placa se muestran en la Tabla 3. Un total de 823 muestras de tejido fueron teñidas y planimetradas. El área total de tejido y las áreas ocupadas por células musculares lisas, tejido esclerótico, tejido ateromatoso y trombo, no tuvieron diferencias significativas en las muestras de pacientes con reestenosis *versus* los pa-

cientes sin reestenosis. El porcentaje del área total ocupada por macrófagos fue mayor en las muestras de pacientes con reestenosis ($20 \pm 2\%$) que en las muestras de pacientes sin reestenosis ($10 \pm 2\%$) ($p = 0,006$). La Figura 2 ilustra un ejemplo de infiltración rica en macrófagos en tejido de aterectomía direccional coronaria de un paciente con reestenosis y de otro sin reestenosis (Figuras 2A y 2B respectivamente).

Macrófagos como predictores de reestenosis

El análisis de regresión múltiple identificó a los macrófagos como el único predictor independiente de reestenosis tardía después de la aterectomía direccional coronaria ($r = 0,38$; $p = 0,007$), como se muestra en la Figura 3.

DISCUSION

Este estudio identifica componentes tisulares y

Tabla 3
Cuantificación total y segmentaria en milímetros cuadrados y en porcentajes del tejido celular y acelular de las lesiones culposas coronarias

	Reestenosis		No reestenosis		p
	mm ²	(%)	mm ²	(%)	
Total área	4,98 ± 0,5	100	5,26 ± 0,9	100	0,61
Tejido esclerótico	1,51 ± 0,2	31 ± 4	1,34 ± 0,3	38 ± 6	0,33
Tejido fibrocelular	1,42 ± 0,2	32 ± 5	1,95 ± 0,6	30 ± 6	0,13
Tejido hiper celular	1,48 ± 0,3	25 ± 4	1,28 ± 0,3	22 ± 4	0,55
Tejido ateromatoso	0,38 ± 0,2	8 ± 4	0,56 ± 0,3	6 ± 3	0,49
Trombos	0,19 ± 0,6	4 ± 2	0,14 ± 0,5	5 ± 2	0,32
Macrófagos [KP-1(+)]	1,10 ± 0,2	20,4 ± 2	0,64 ± 0,2	9,3 ± 2	0,0007
Cel. tej. musc. liso	2,9 ± 0,4	57 ± 5	3,23 ± 0,7	52 ± 6	0,66
a -1 actina (++)	1,36 ± 0,2	27 ± 3	1,32 ± 0,3	22 ± 4	0,46
a -1 actina (.)	1,54 ± 0,2	30 ± 4	1,91 ± 0,5	30 ± 6	0,48

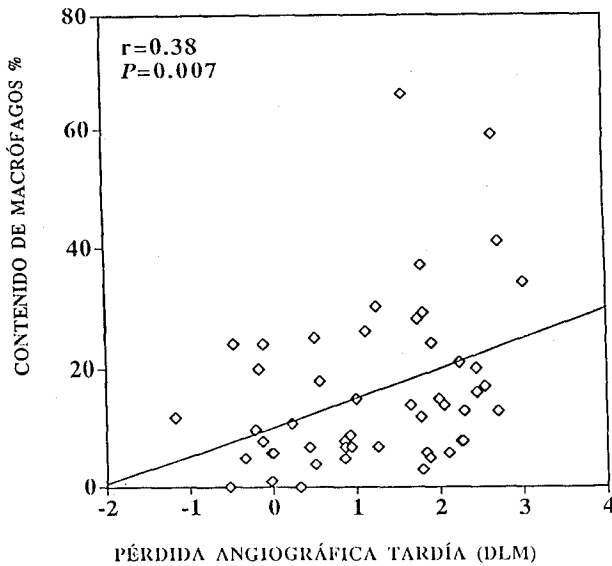


Fig. 3. Se muestra la relación entre el contenido de macrófagos y la pérdida angiográfica tardía medidos por angiografía coronaria cuantitativa descrita por la ecuación $y = 4.832x + 10.250$ ($r = 0,38$; $p < 0,007$). DLM = diámetro luminal mínimo.

áreas de infiltración macrofágica en muestras coronarias de lesiones culposas de pacientes con angina inestable y correlaciona estos hallazgos con la angiografía de seguimiento, 16 ± 2 semanas posteriores a la aterectomía, para identificar predictores biológicos de reestenosis. El hallazgo más importante del estudio fue un incremento de las áreas de infiltración macrofágica en los casos que desarrollaron reestenosis en comparación con el grupo control. Más aún, el análisis de regresión múltiple identificó al contenido de macrófagos como el único predictor independiente de pérdida luminal tardía luego de una aterectomía direccional coronaria exitosa ($r = 0,38$; $p = 0,007$).

Por otro lado, el examen morfométrico de estas lesiones coronarias mostró un contenido similar de tejido hipercelular, fibrocelular, esclerótico, ateromatoso y trombos. Tampoco hubo diferencias en las áreas de células musculares lisas. Este hallazgo inesperado sugiere que la severidad de la reestenosis después de la intervención coronaria no está relacionada con la cantidad de células musculares lisas contenidas en la lesión primaria. Los estudios angiográficos de reestenosis luego de la angioplastia coronaria sugieren que la presentación clínica en el momento de la intervención puede influenciar la incidencia de reestenosis. Foley y colaboradores mostraron que los pacientes con angina inestable tienen una mayor incidencia de reestenosis que los pacientes con angina crónica estable luego de la angioplastia coronaria. (18) Las células musculares lisas han sido implicadas en la fisiopatología de los síndromes isquémicos agudos,

(12, 13) con un incremento de vasos trombosados en los pacientes con angina de reposo. (14) Más aún, la trombosis coronaria fatal en pacientes con infarto agudo de miocardio puede ocurrir sólo con fisura o laceraciones de la capa fibrosa. (19) Además, las placas coronarias trombosadas en pacientes con muerte súbita tienen un incremento significativo de células musculares lisas similares a la neointima, sugiriendo un papel activo de las células musculares lisas en la respuesta biológica durante los síndromes isquémicos agudos. (20) A pesar de estas observaciones, la hipótesis de que las placas coronarias de pacientes con angina inestable tienen una incidencia mayor de reestenosis por una mayor actividad del tejido muscular liso no puede ser sostenida con los hallazgos de este estudio.

Nosotros hemos demostrado que las áreas ricas en macrófagos se encuentran más frecuentemente en las placas de pacientes con síndromes coronarios agudos, angina inestable e infarto no Q que en las placas de pacientes con angina crónica estable. (8) Consecuentemente, las placas ricas en macrófagos pueden tener mayor riesgo de reestenosis luego de la intervención coronaria que las ricas en células musculares lisas. Esta hipótesis aún debe ser demostrada.

Los fagocitos mononucleares pueden participar en la formación del trombo, su organización y lisis. (21-23) La expresión del factor tisular es normalmente baja o ausente pero se incrementa significativamente durante los episodios de angina inestable. (24-27) Monocitos y células musculares lisas pueden producir mitogénesis y comitogénesis como el factor de crecimiento de los derivados plaquetarios (PDGF), transformando el factor de crecimiento alfa (TGF-alfa), el factor de crecimiento fibroblástico (FGF) y citocinas como la interleuquina 1 y la interleuquina 6, pudiendo afectar la respuesta hiper celular luego de una angioplastia coronaria. (9, 11, 28-31) Más aún, el tejido reestenótico expresa una alta concentración de MCP-1 y proteínas inflamatorias derivadas de los macrófagos 1 alfa y 1 beta, sugiriendo un mecanismo macrofágico para este fenómeno. (32, 33) En suma, los macrófagos pueden liberar metaloproteinasas como colagenasa intersticial, gelatinasa y estromalinas, con degradación subsecuente de colágeno, elastina y proteoglicanos. (34-38)

Los macrófagos y las células musculares lisas derivadas de las gelatinasas han sido correlacionados con la migración de células musculares lisas desde la media a la íntima luego de la injuria provocada por el catéter balón, sugiriendo que la matriz metaloproteinasas estaría involucrada en el tejido de remodelamiento y en la formación neointimal luego de la injuria arterial. (10, 39)

En suma, la migración de las células musculares lisas a través de la barrera de la membrana basal re-

quiere activación de las colagenasas. (40) Recientemente, la falla en el remodelamiento vascular, (41) con cicatrización y constricción de la adventicia, ha sido documentada y juega un papel importante en la reestenosis luego de la revascularización percutánea. (3, 42-47) El proceso de la remodelación del tejido conectivo requiere la presencia de la matriz de metaloproteinasas y la infiltración de macrófagos en la adventicia, siendo esta última un evento precoz luego de la injuria vascular en ratas. (48) Finalmente, el estado de activación de los monocitos circulantes se correlacionó con el reestrechamiento vascular luego de una angioplastia exitosa.

Los predictores independientes del grado de pérdida tardía de la luz arterial, antes del tratamiento incluyen la producción de interleuquina 1 B (IL-1) por estimulación de los monocitos y la distribución anatómica del vaso dilatado. (11) La IL-1 es un importante determinante de la hiperplasia intimal. (9) Los estudios *in vitro* han demostrado que la IL-1 estimula la trombogenicidad de las células endoteliales y los niveles elevados del factor de crecimiento derivado de las plaquetas, en las células endoteliales. (49, 50). Dado que el PDGF ha mostrado que estimula la migración de las células musculares lisas a la íntima, (51) este mecanismo podría ser relevante.

En suma, estudios previos indicaron que, a pesar de la persistencia de niveles relativamente elevados de injuria inductora de actividad proliferativa, el total del tejido muscular liso contenido a las 12 semanas no presentó variaciones con respecto a lo observado a las 2 semanas, sugiriendo que el crecimiento del tejido muscular liso es mitigado por células muertas. (52-54) La hipótesis de que los monocitos circulantes y la infiltración de macrófagos de la lesión podrían jugar un papel en la reestenosis tardía debió ser probada con estudios morfológicos que correlacionaran el grado de reestrechamiento vascular con el contenido macrofágico de la lesión primaria.

CONCLUSIONES

1) Los resultados del presente estudio indican que el contenido macrofágico de la placa coronaria primaria es significativamente mayor en el tejido de pacientes con reestenosis después de una intervención coronaria exitosa.

2) Estos resultados sugieren que los macrófagos podrían tener un papel en el mecanismo de la reestenosis tardía luego de una angioplastia coronaria.

3) Finalmente, estos hallazgos se deberían considerar más aplicables a la reestenosis posaterectomía direccional coronaria (el procedimiento utilizado en este trabajo), cuyo mecanismo está más relacionado con la hiperplasia fibrointimal y pérdida tardía, que a la reestenosis coronaria posbalón.

SUMMARY

MACROPHAGE INFILTRATION IN PRIMARY CORONARY PLAQUE TISSUE IS ASSOCIATED WITH RESTENOSIS AFTER PERCUTANEOUS CORONARY INTERVENTION

Background

Restenosis remains the major limitation of percutaneous coronary revascularization. Macrophages release matrix metalloproteinases and growth factors which may induce smooth muscle cell migration and proliferation. We tested the hypothesis that: 1) primary lesions that develop restenosis after coronary atherectomy have more macrophages than primary lesions that do not develop restenosis; and 2) angiographic restenosis is related to the macrophage content of the primary lesion.

Method and results

Fifty atherectomy specimens from the culprit lesion of patients with unstable angina were examined. Hematoxylin and eosin, trichrome and immunostaining with anti-human macrophage monoclonal antibody (KP-1) were performed. Follow-up angiography was performed at 16 ± 2 weeks. Restenosis, defined as $> 50\%$ diameter stenosis (quantified coronary arteriography) was present in 30 patients. The other 20 patients ($< 50\%$ stenosis) were the control group. Coronary risk factors were similar in both groups. Using computer aided planimetry, the total tissue area examined was $5.03 \pm 0.4 \text{ mm}^2$ for atherectomy specimens from patients with restenosis and $5.26 \pm 0.72 \text{ mm}^2$ for patients with no restenosis ($p = \text{NS}$). The percentage of macrophage rich areas was significantly larger in plaque tissue from patients with restenosis ($19.7 \pm 3\%$) than in tissue from patients with no restenosis ($10.3 \pm 2\%$) ($p = 0.006$). Linear regression analysis showed that percent diameter stenosis, late loss in MLD and the relative late loss index at FUA were significantly related to the macrophage content at the time of DCA ($p < 0.01$).

Conclusion

Macrophage rich areas are significantly larger in primary lesions from patients that develop restenosis than in those patients that do not develop restenosis. The increased macrophage content suggests that these inflammatory cells are actively involved in the complex process of restenosis after percutaneous coronary revascularization.

Key words Macrophages - Restenosis - Atherectomy

BIBLIOGRAFIA

1. Rodríguez A, Santaera O, Larribau M, Sosa MI, Palacios IF.

- Early decrease in minimal luminal diameter predicts late restenosis after successful coronary angioplasty. *Am J Cardiol* 1993; 71: 1391-1395.
2. Forrester JS, Fishbein M, Helfant R, Fagin J. A paradigm of restenosis based on cell biology: clues for the development of new preventive therapies. *J Am Coll Cardiol* 1991; 17: 758-769.
 3. Faxon DP, Currier JW. Prevention of post-PTCA restenosis. *Ann NY Ac Sci* 1995; 748: 419-427.
 4. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990's. *Nature* 1993; 362: 801-808.
 5. Fuster V, Lewis A. Conner Memorial Lecture. Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. *Circulation* 1994; 90: 2126-2146.
 6. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995; 92: 657-671.
 7. Moreno PR, Shah PK, Falk E. Determinants of rupture of atherosclerotic coronary lesions. *En: Willich SN, Muller JE (eds). Triggering of acute coronary syndromes - Implications for prevention.* Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 1995; 268-283.
 8. Moreno PR, Falk E, Palacios IF, Newell JB, Fuster V, Fallon JT. Macrophage infiltration in acute coronary syndromes: implications for plaque rupture. *Circulation* 1994; 90: 775-778.
 9. Libby P, Schwartz D, Brogi E, Tanaka H, Clinton SK. A cascade model for restenosis. A special case for atherosclerosis progression. *Circulation* 1992; 86: III-47-52.
 10. Bendeck MP, Zempo N, Clowes AW, Galardy RE, Reidy MA. Smooth muscle cell migration and matrix metalloproteinase expression after arterial injury in the rat. *Circ Res* 1994; 75: 539-545.
 11. Pietersma A, Kofflard M, de Wit LEA, Stijnen T, Kostner JF, Serruys PW y col. Late lumen loss after coronary angioplasty is associated with activation status of circulating monocytes before treatment. *Circulation* 1995; 91: 1320-1325.
 12. Flugelman MY, Virmani R, Correa R, Zu-Xi Y, Farb A, Leon MB y col. Smooth muscle cell abundance and fibroblast growth factors in coronary lesions of patients with nonfatal unstable angina: a clue to the mechanism of transformation from stable to the unstable clinical state. *Circulation* 1993; 88: 2493-2500.
 13. Wilson JM, Capek P, Mc Allister HA, Vaughn WK, Ferguson JJ, Club FJ y col. Coronary lesion histology in stable, unstable and evolving angina pectoris (abstract). *J Am Coll Cardiol* 1995; 768 (1): 279A.
 14. Mann JM, Kaski JC, Arie S, Pereira WI, Pileggi F, Davies MJ. Plaque constituents in patients with stable and unstable angina: an atherectomy study (abstract). *J Am Coll Cardiol* 1995; 901: 120: 34A.
 15. Umans VA, de Fryter PJ, Deckers JM, McLeod D, van den Brand M, de Jaegere P y col. Acute and long-term outcome of directional coronary atherectomy for stable and unstable angina. *Am J Cardiol* 1994; 74: 641-646.
 16. Rutherford JD, Braunwald E. Chronic ischemic heart disease. *En: Braunwald E (ed). Heart Disease.* Philadelphia (Pa), WB Saunders Co, 1992; 1293-1394.
 17. Serruys PW, Reiber JIL, Wijns W, Brand MV, Kooijman CJ, Katen H y col. Assessment of percutaneous transluminal coronary angioplasty by quantitative coronary angiography: diameter versus densitometric area measurements. *Am J Cardiol* 1984; 54: 482-488.
 18. Foley JB, Chisolm RJ, Armstrong PW. Aggressive clinical pattern of angina at restenosis following coronary angioplasty in unstable angina. *Am Heart J* 1992; 124: 1174-1180.
 19. van der Wal AC, Becker AE, van der Loos CM, Das PK. Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation* 1994; 89: 36-44.
 20. Farb A, Tang AL, Burke AP, Liang Y, Mannan P, Smialek J y col. Ulceration of smooth muscle cell-rich plaques: a frequent cause of coronary thrombosis that is not mediated by HLA-DR expression (abstract). *J Am Coll Cardiol* 1995; 797 (5): 383A.
 21. Leu HJ, Feigl W, Susani M, Odermatt B. Differentiation of mononuclear blood cells into macrophages, fibroblast and endothelial cells in thrombus organization. *Exp Cell Biol* 1988; 56: 201-210.
 22. Carson SD, Brozna JP. The role of tissue factor in the production of thrombin. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1993; 4: 281-292.
 23. Edwards RL, Rickles FR. The role of leukocytes in the activation of blood coagulation. *Seminars in Hematology* 1992; 29: 202-212.
 24. Leathman EW, Bath PM, Tooze JA, Camm AJ. Increased monocyte tissue factor expression in coronary artery disease. *Br Heart J* 1995; 73: 10-13.
 25. Lo SK, Cheung A, Zheng Q, Silverstein RL. Induction of tissue factor on monocytes by adhesion to endothelial cells. *J Immunol* 1995; 154: 4768-4777.
 26. Annex BH, Denning SM, Keith MC, Sketch MH, Stack RS, Morrissey JH y col. Differential expression of tissue factor protein in directional atherectomy specimens from patients with stable and unstable coronary syndromes. *Circulation* 1995; 91: 619-622.
 27. Drake TA, Ruf W, Morrissey JH, Edgington TS. Functional tissue factor is entirely cell surface expressed on lipopolysaccharide-stimulated human blood monocytes and constitutively tissue factor-producing neoplastic cell line. *J Cell Biol* 1989; 109: 389-395.
 28. Nathan CF. Secretory products of macrophages. *J Clin Invest* 1987; 79: 319-326.
 29. Rappolee DA, Mark D, Banda MJ, Werb Z. Wound macrophages express TGF and other growth factor in vivo: Analysis by mRNA phenotyping. *Science* 1988; 241: 708-712.
 30. Higashiyama S, Abraham JA, Miller J, Fiddes JC, Klagsbrun M. A heparin-binding growth factor secreted by macrophage-like cells that is related to EGF. *Science* 1991; 251: 936-939.
 31. Zhang H, Downs EC, Lindsey JA, Davis B, Whisler RL, Cornwell DG. Interactions between the monocyte/macrophage and the vascular muscle cell. *Arterioscl Thromb* 1993; 13: 220-230.
 32. Rao RS, Factor SM, Menegus MA, Monrad ES, Sherry B, Greenberg MA y col. Increased expression of chemokine-beta proteins in human restenotic coronary artery lesions following angioplasty (abstract). *J Am Coll Cardiol* 1994; 123A.
 33. Lundergan CF, Phillips T, Chmielinska JJ, Eisenhower E, Katz RJ. Quantitative growth factor and cytokine profile in human primary atheroma and restenosis tissue (abstract). *J Am Coll Cardiol* 1994; 123A.
 34. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995; 91: 2844-2850.
 35. Galis ZS, Sukhova G, Kranshofer R, Clark S, Libby P. Macrophage foam cells from experimental atheroma constitutively produce matrix-degrading proteinases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 402-406.
 36. Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1994; 94: 2493-2503.
 37. Welgus HG, Campbell EJ, Cury JD, Eisen AZ, Senior RM, Wilhelm SM y col. Neutral metalloproteinases produced by human mononuclear phagocytes. *J Clin Invest* 1990; 86: 1496-1502.
 38. Brown DI, Hibbs MS, Kearney M, Topol EJ, Loushin C, Isner JM. Identification of 92 kDa Gelatinase in human coronary atherosclerotic lesions. Association of active enzyme synthesis with unstable angina. *Circulation* 1995; 91: 2125-2131.
 39. Southgate KM, Davies M, Booth RFG, Newby AC. Involve-

- ment of extracellular matrix-degrading metalloproteinases in rabbit smooth-muscle cell proliferation. *Biochem J* 1992; 288: 93-99.
40. Pauly RR, Passaniti A, Bilato C, Monticone R, Cheng L, Papadopoulos N y col. Migration of cultured vascular smooth muscle cells through the basement membrane barrier requires type IV collagenase activity and is inhibited by cellular differentiation. *Circ Res* 1994; 75: 41-54.
 41. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GL. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1987; 316: 1371-1375.
 42. Lafont A, Guzman LA, Whitlow PL, Goormastic M, Cornhill JF, Chisolm GM. Restenosis after experimental angioplasty. Intimal, medial and adventitial changes associated with constrictive remodeling. *Circ Res* 1995; 76: 996-1002.
 43. Post MJ, Borst C, Kuntz RE. The relative importance of arterial remodeling compared with intimal hyperplasia in lumen renarrowing after balloon angioplasty. *Circulation* 1994; 89: 2816-2821.
 44. Kakuta T, Currier JW, Haudenschild CC, Ryan TJ, Faxon DP. Differences in compensatory enlargement, not neointimal formation, account restenosis following angioplasty in the hypercholesterolemic rabbit model. *Circulation* 1994; 89: 2809-2815.
 45. Isner JM. Vascular remodeling: honey, I think I shrunk the artery. *Circulation* 1994; 89: 2937-2941.
 46. Currier JW, Faxon DP. Restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty: Have we been aiming at the wrong target? *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 516-520.
 47. Rud Andersen H, Maeng M, Thorwest M, Falk E. Remodeling rather than neointima formation explain luminal renarrowing after deep vessel wall injury. Insights from a porcine coronary (re)stenosis model (abstract). *Circulation* 1995 (in press).
 48. Ratajska A, Cambell SE, Cleutjens JP, Weber KT. Angiotensin II and structural remodeling of coronary vessels in rats. *J Lab Clin Med* 1994; 124: 408-415.
 49. Bevilacqua MP, Schleef RR, Gimbrone MA, Loskutoff DJ. Regulation of the fibrinolytic system of cultured human vascular endothelium by interleukin-1. *J Clin Invest* 1986; 78: 587-591.
 50. Gay CG, Winkles JA. Heparin binding growth factor-1 stimulation of endothelial cells induces platelet derived growth factor A-chain gene expression. *J Biol Chem* 1990; 265: 3284-3292.
 51. Jawien A, Bowen-Pope DF, Lindner V, Schwartz SM, Clowes AW. Platelet-derived growth factor promotes smooth muscle migration and intimal thickening in a rat model of balloon angioplasty. *J Clin Invest* 1992; 89: 507-511.
 52. Clowes AW, Reidy MA, Clowes MM. Kinetics of cellular proliferation after arterial injury. I: Smooth muscle growth in the absence of endothelium. *Lab Invest* 1983; 49: 327-333.
 53. Isner JM, Kearney M, Bortman S, Passeri J. Apoptosis in human atherosclerosis and restenosis. *Circulation* 1995; 91: 2703-2711.
 54. Geng YJ, Libby P. Evidence of apoptosis in human atheroma: co-localization with interleukin-1 beta converting enzyme. *FASEB* 1995; 9: A855.
 55. Waller BF, Pinkerton CA. "Cutters, scoopers, hovers and scrapers": the importance of atherectomy devices and clinical relevance of tissue removed. *Am Coll Cardiol* 1990; 15: 426-428.