

El sistema de histocompatibilidad mayor y el fenómeno de la vulnerabilidad de la placa ateromatosa en los síndromes coronarios agudos no Q. Potencial modulación de la respuesta inflamatoria en la angina inestable

E. GURFINKEL^Δ, E. RAIMONDI, I. MEJAIL, K. PADROS, G. BERARDI, E. HAAS, G. BOZOVICH*, B. MAUTNER^{Δ°}

Unidad Coronaria y Sección Inmunogenética, Instituto de Cardiología de la Fundación Favalaro, Buenos Aires

* Para optar a Miembro Titular de la Sociedad Argentina de Cardiología

Trabajo recibido para su publicación: 10/96 Aceptado: 10/96

Dirección para separatas: Dr. Enrique Gurfinkel, Jefe de la Unidad Coronaria de la Fundación Favalaro, Belgrano 1746, (1093) Buenos Aires, Argentina

^Δ Miembro Titular SAC

[°] FACC

Antecedentes

Recientemente se ha encontrado una vinculación estrecha entre el proceso inflamatorio y la presencia de inmunocomplejos circulantes correspondientes a *Chlamydia pneumoniae* en los pacientes con complicaciones isquémicas en la fase hospitalaria. Decidimos estudiar los antígenos HLA clase I y los alelos de los genes HLA DR B1-B3-B4-B5 relacionados con la generación y regulación de la respuesta inflamatoria e inmune, presentes en las células vinculadas al proceso aterogénico.

Material y método

Se tomaron muestras sanguíneas en 51 pacientes que fueron admitidos por angina inestable tipo III b de Braunwald o que estaban en fase estable luego de un infarto o un procedimiento de revascularización coronaria y 100 muestras de voluntarios sanos provenientes del banco de sangre. A fin de analizar los datos, subdividimos la población en estudio en dos grupos: por un lado los pacientes con evolución buena (grupo A: 37), externados con tratamiento médico solamente, y por otro lado sobrevivientes de infarto, angina recurrente y/o que hubieran padecido un procedimiento de revascularización urgente durante la fase hospitalaria (grupo B: 14).

Resultados

Se halló una frecuencia de aparición elevada, con un coeficiente de correlación positivo, de los HLA A 31 (coeficiente de correlación: 0,39, $p = 0,01$) y HLA DR B4 (coeficiente de correlación: 0,34, $p = 0,02$) en el grupo B frente al A y el control.

Conclusiones

Estos resultados preliminares sugieren que el sistema HLA estaría implicado en la modulación de la respuesta inflamatoria de los síndromes coronarios agudos. REV ARGENT CARDIOL 1997; 65 (1): 57-60.

Palabras clave Angina inestable - Sistema HLA - Inflamación - Infección

Hasta hoy, las evidencias muestran que los eventos coronarios agudos son causados por una progresión rápida de la enfermedad coronaria aterosclerótica, precipitada por la ruptura de la placa con la consiguiente formación de un trombo que ocluye la luz arterial en forma parcial o total y produce los síntomas y signos conocidos. (1) Se han postulado distintos factores para explicar la lesión de la placa y la activación subsecuente de la cascada de coagulación, incluyendo la morfología de la placa, su composición y factores reológicos. (2, 3)

Sin embargo, esa estructura hipotética se encuentra enmarcada bajo un nuevo concepto fisiopatológico: el proceso inflamatorio.

Liuzzo y colaboradores (4) demostraron que una elevación significativa de los niveles de proteína C (producto derivado principalmente de las citoquinas interleuquina 1 y 6 en el plasma de pacientes con angina inestable tendría implicancias pronósticas en la evolución. Este reactante de fase aguda, no influenciado por el proceso trombótico, pero afectado por otros fenómenos biológicos que también pueden incrementar su concentración plasmática, se acompaña de un movimiento celular significativo compuesto por monocitos y neutrófilos, los cuales pueden ser detectados incluso en una concentración significativa en el seno coronario de estos enfermos.

De todas formas, el proceso inflamatorio no ocurre como un hecho aislado.

Recientemente, a través de métodos serológicos, nuestro grupo encontró una asociación biológica entre antígenos y anticuerpos para *Chlamydia pneumoniae* (TWAR), en pacientes que padecieron complicaciones luego de un evento coronario agudo. (5) Este hallazgo, inédito en el mundo, está abriendo nuevo horizonte en este campo. Al mismo tiempo, dicho hallazgo se contrapone con la ausencia de antígenos para *Chlamydia* en arterias normales o en sujetos fallecidos de causa no cardíaca. (6, 7)

Este fenómeno inflamatorio posee un comportamiento cíclico similar al que también fue demostrado por nosotros en los marcadores trombóticos, los cuales aparecen y desaparecen en igual forma. (8)

En este punto, queda claro a nuestro juicio que el llamado *rebound* de la angina es más un resurgimiento del fenómeno inflamatorio que una reacción aguda trombótica luego de la suspensión de drogas anticoagulantes (datos nuestros en prensa).

Confirmando esta asociación, hallamos una estrecha relación entre títulos serológicos positivos para *Chlamydia* y niveles elevados de proteína C reactiva ligados a una evolución desfavorable. (5)

Considerando la evidencia que relaciona los mecanismos inflamatorios con los síndromes coronarios agudos, parece lógico investigar el papel potencial que el sistema antigénico leucocitario humano (HLA)

puede cumplir en la fisiopatología de la angina inestable, modulando el fenómeno inflamatorio.

MATERIAL Y METODO

Basados en esta hipótesis, evaluamos el papel del sistema HLA en 39 pacientes ingresados por angina inestable clase III b y 12 pacientes durante la fase de estabilización posinfarto o procedimiento de revascularización y 100 muestras sanguíneas provenientes de un banco de sangre de sujetos normales. (9)

Criterios de exclusión: alteraciones conocidas del sistema de coagulación sanguínea y agregación plaquetaria, enfermedad renal, hepática y/o infecciosa, procedimiento quirúrgico o traumatismo en los 30 días previos, haber estado en otro estudio con tratamiento activo en los últimos 30 días, falta de consentimiento informado.

Todos los pacientes con angina inestable recibieron tratamiento con betabloqueantes y aspirina luego de tomadas las muestras de sangre, excepto en el caso de uso de aspirina las 24 horas previas al ingreso. Se administraron nitritos endovenosos durante por lo menos las primeras 24 horas del estudio.

Se descartó la presencia de infarto agudo de miocardio mediante la medición seriada de creatininfosfoquinasa en plasma. Se extrajeron muestras a cada paciente a su ingreso, 6 y 12 horas posteriores al mismo y luego diariamente durante la fase aguda en la unidad coronaria, para medir valores de creatininfosfoquinasa y de su banda miocárdica. Se consideraron positivos valores de 180 UI/l o más para CPK y 25 UI/l o más para CPK-MB.

Las determinaciones serológicas para los subtipos clase I y los análisis moleculares para los antígenos clase II se practicaron según las normas institucionales con muestras sanguíneas de 20 ml obtenidas por punción venosa antecubital y ubicadas en tubos de plástico con solución EDTA al 5% (relación

Tabla 1
Características basales de la población enferma. Grupo A: buena evolución. Grupo B: isquemia recurrente

	Total	Grupo A	Grupo B	Valor de p
n	51	32	19	
Hombres	43	28	15	0,4
Edad (media)	60,74	61,95	60,1	
Fumadores	15	9	6	0,7
Hipertensión	26	17	9	0,6
Diabetes	6	4	2	0,8
> Colesterol	18	10	8	0,4
IAM previo	12	7	5	0,7
CRM previa	7	3	4	0,2
ATC previa	4	1	3	0,1

> Colesterol: hipercolesterolemia. IAM: infarto agudo de miocardio. CRM: cirugía de revascularización miocárdica. ATC: angioplastia transluminal coronaria.

1/10 ml). Las muestras se procesaron según las normas internacionales. (10)

Los antígenos HLA clase II se analizaron por preparación genómica del DNA, por reacción en cadena de polimerasa (PCR) e hibridización. Las muestras de DNA se amplificaron por PCR usando A, B, C, DRB y DQB. La reacción de PCR siguió las normas internacionales para cada uno de los alelos mencionados previamente. (11)

Definición de eventos

Angina refractaria: Dolor precordial de por lo menos 10 minutos de duración con alteración del segmento ST mayor de 0,1 mV en por lo menos dos derivaciones contiguas, estando bajo tratamiento médico completo y con necesidad de un procedimiento de revascularización miocárdica de urgencia.

Infarto agudo de miocardio: El desarrollo de nuevas ondas Q o cambios electrocardiográficos no-Q, asociados con aumento de los niveles de CPK-MB por encima de 50 UI/l, siendo el valor normal hasta 25 UI/l.

Definición de factores de riesgo

Hipercolesterolemia: Colesterol total mayor de 5,2 mmol/L.

Hipertensión arterial: Presión arterial sistólica mayor de 180 mmHg y/o presión arterial diastólica mayor de 95 mmHg.

Hábito de fumar: Incluye fumadores o ex fumadores que han dejado de fumar no más de 5 años antes de su ingreso.

RESULTADOS

Treinta y siete pacientes no desarrollaron complicaciones durante la internación (grupo A).

Catorce pacientes presentaron isquemia recurrente a pesar del tratamiento médico completo, por lo que necesitaron un procedimiento de revascularización miocárdica de urgencia (grupo B). Las características basales fueron similares en ambos grupos A y B (Tabla 1).

Cuando se analizaron las muestras de sangre se encontró un coeficiente de correlación (cc) positivo en los pacientes del grupo B para el HLA A 31 (cc 0,39, $p = 0,01$) y el gen DRB4 (cc 0,34, $p = 0,02$).

Estos alelos fueron negativos para los pacientes del grupo A y para el grupo control.

DISCUSION

El fenómeno inflamatorio de la placa ha sido confirmado una vez más por Van der Wal y colaboradores (12) al observar macrófagos y linfocitos T como células predominantes en el sitio de la ruptura de la misma con pérdida concomitante de células musculares lisas. Una vez iniciada la respuesta inflamatoria,

se establece una complicada interacción celular con el endotelio vascular, producción de glicoproteínas adhesivas, liberación de moléculas de crecimiento, citoquinas, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento de fibroblastos, etc. El mecanismo se perpetúa a través de macrófagos activados que ejercen una acción paracrina capaz de activar otros monocitos, linfocitos T y células musculares lisas y provocar agregación plaquetaria y migración de células inflamatorias a través de la pared vascular. (13)

Es también conocido el papel complejo del proceso inflamatorio en la extensión de la injuria y en el remodelamiento y cicatrización en los eventos con onda Q. (13)

Estas bases justificaron el presente trabajo que analiza la participación probable del sistema HLA en la regulación del fenómeno inflamatorio.

A pesar de que el complejo HLA se caracteriza por un alto polimorfismo, tiene la interesante característica de ser único para cada individuo y al mismo tiempo estar relacionado con un número creciente de enfermedades. La función fisiológica de estas moléculas es presentar los péptidos a las células T efectoras. Bajo ciertas circunstancias, los antígenos HLA pueden responder inadecuadamente llevando a una respuesta patológica y a una falta de reconocimiento de antígenos propios. La presencia de secuencias de ADN que codifican para ciertos antígenos clase I o II puede estar relacionada estrechamente con enfermedades inflamatorias crónicas (ejemplo: espondilitis anquilosante).

La gran cantidad de moléculas HLA "expresadas" permite la unión de un extenso rango de péptidos estructuralmente diferentes.

Por otra parte, la "expresión" de antígenos HLA en la superficie de leucocitos y linfocitos T puede ser usada como marcador de activación celular. (14) Estos resultados preliminares muestran una posible relación entre algunos antígenos y angina recurrente.

Limitaciones del estudio: debido a que el número de casos fue pequeño no podemos obtener conclusiones definitivas al respecto. Sin embargo, estos hallazgos justifican un estudio en escala sobre este sistema.

Actualmente no poseemos evidencias definitivas que demuestren que las células inflamatorias y los microorganismos no son sólo "pasajeros" durante la ruptura de placa.

Debido a que el patrón HLA es constante, una relación entre la enfermedad aguda y los antígenos HLA comprobaría un papel activo del fenómeno inflamatorio como determinante e iniciador de la inestabilidad de la placa.

SUMMARY

THE MAJOR HISTOCOMPATIBILITY SYSTEM AND ATHEROSCLEROTIC PLAQUE VULNERABILITY IN THE NON Q WAVE ACUTE SYNDROMES. POTENTIAL MODULATION OF THE INFLAMMATORY RESPONSE

Background

A close relationship has recently been found between the presence of circulating immunocomplexes containing chlamydial lipopolysaccharide, IgG antibodies to *Chlamydia pneumoniae* and the inflammatory process in coronary heart disease. We decided to identify the HLA class I antigens and the alleles by sequence specific oligonucleotide typing, to determine HLA DR, B1-B3-B4-B5, linked strongly with inflammation considering the evidences relating them to acute coronary syndromes.

Material and method

Blood samples were taken from 39 patients admitted to the coronary care unit suffering from acute unstable angina, from 12 patients during the quiescent phase of a recent AMI or CABG, and 100 blood samples of healthy volunteers as a control group. Patients were finally divided in two groups: A: 37 patients discharged with medical treatment only, and B: 14 patients who developed refractory angina, AMI, or during the quiescent phase.

Results

There was a high frequency of HLA A 31, and HLA DR B4 with a positive correlation coefficient (correlation coefficient 0.39, $p = 0.01$, and correlation coefficient 0.34, $p = 0.02$ respectively) in group B compared with group A, and the control group.

Conclusions

These preliminary results suggest a HLA pattern implicated in the modulation of the inflammatory response in acute coronary syndromes.

Key words Unstable angina - HLA system - Inflammation - Infection

BIBLIOGRAFIA

1. Fuster V, Badimon L, Cohen M, Ambrose JA, Badimon JJ, Chesebro JH. Insights into the pathogenesis of acute coronary syndromes. *Circulation* 1988; 77: 1213-1220.
2. Ambrose JA, Winters SL, Arora RR, Eng A, Ricco, A y col. Angiographic evolution of coronary artery evolution in unstable angina. *J Am Coll Cardiol* 1986; 7: 472-478.
3. Richardson PD, Davies MJ, Born GVR. Influence of plaque configuration and stress distribution of plaque atherosclerotic plaques. *Lancet* 1989; 2: 941-944.
4. Liuzzo G, Bisasucci LM, Gallimore JR, Grillo RL, Rebuffi AG, Pepys MB y col. Prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1994; 331: 417-424.
5. Gurfinkel E, Duronto E, Cerdá M, Carretero LG, Bozovich G, Rozlosnik J y col. Patients with unstable angina related with C reactive protein and Chlamydia pneumoniae infection. Clinical outcome. *Eur Heart J* 1996; 17: 579.
6. Saikku P, Leinonen M, Mattila K. Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet* 1988; 2: 983-986.
7. Wissler RW. Significance of Chlamydia pneumoniae (TWAR) in atherosclerotic lesions. *Circulation* 1995; 92: 3376.
8. Gurfinkel E, Bozovich G, Mejail I, Cerdá M, Oxilia A, Mautner B. Time significance of acute thrombotic reactant markers in patients with and without silent myocardial ischemia and overt unstable angina. *Am J Cardiol* 1995; 76: 121-124.
9. Braunwald E. Unstable angina: a classification. *Circulation* 1989; 80: 410-414.
10. Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens* 1992; 39: 225-229.
11. Fernández Viña MA, Falco M, Cerna M, Raimondi E, Stastny P. DQA 1 03 subtypes have different associations with DRB1 and DQB1 alleles. *Human Immunology* 1994; 39: 290-298.
12. van der Wal AC, Becker A, 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.
13. Entman ML, Ballantyne CM. Inflammation in acute coronary syndromes. *Circulation* 1993; 88: 800-803.
14. Fernández Viña M, Lazaro AM, Marcos CY, Nulf C, Raimondi E, Haas EJ y col. The study of the diversity and distribution of alleles of HLA class I loci in three South American Indian tribes suggests the effect of dissimilar selective forces in the evolution of B-locus compared to A-locus and class II loci of the HLA region. *Human Immunology* 1996 (en prensa).