

Hipertensión arterial en pacientes sometidos a endarterectomía carotídea. ¿La hipertensión es un factor predisponente o desencadenante de la hemorragia intraplaca carotídea

JOSE MILEI^{*,†}, ANDREA BARONE[†], GRACIELA FERNANDEZ ALONSO^{*}, DANIEL GRANA[‡],
JUAN CARLOS PARODI[†]

RESUMEN

Introducción

Se sugirió que la hipertensión (HT) puede predisponer a la ruptura de vasos de neoformación y al desarrollo de la hemorragia intraplaca (HIP), sin embargo, pocos estudios han intentado caracterizar la patogénesis de estas lesiones.

Objetivo

Obtener información sobre el papel de la HT en la génesis de las placas carotídeas complicadas (PCC) en las 195 piezas de endarterectomías de 191 pacientes estudiados.

Material y métodos

Las piezas pertenecían a 143 hipertensos ($68,6 \pm 8$ años) y 48 normotensos ($67,8 \pm 9$ años). Además de las tinciones de rutina, se efectuó la inmunofenotipificación de las células, se estudió la apoptosis con el método TUNEL y con FISH, las alteraciones de los cromosomas 7 y 11, y la amplificación génica del FGF-3.

Resultados

No hubo diferencias entre grupos al comparar el tipo de placa. Las PCC mostraron en el sitio de la erosión, pérdida de las células endoteliales, gran número de macrófagos y de células T. Se observaron porcentajes altos de trisomía y tetrasomía del cromosoma 7 y nomosomía del cromosoma 11, así como amplificación génica del locus 11q13.3 en los vasos de neoformación de las HIP (CD34+ & CD31+), los cuales estaban rodeados de infiltrados mononucleares. La apoptosis fue muy frecuente (10-30%) en las regiones de alta celularidad, donde era evidente la infiltración de células musculares lisas y macrófagos. No se detectaron apoptosis (0-0,5%, $p < 0,001$) ni alteraciones cromosómicas en las placas no complicadas.

Conclusión

Estos hallazgos sugieren que la HIP se debería a la ruptura de los vasos de neoformación en relación con los infiltrados inflamatorios y al desbalance entre el crecimiento celular clonal y el alto índice apoptótico, lo cual tendría un papel importante en la evolución de las PCC, independientemente de la HT. REV ARGENT CARDIOL 1999; 67: 47-51.

Palabras clave Hipertensión - Endarterectomía carotídea - Hemorragia intraplaca - Vascularización de la placa - Macrófagos - Linfocitos T - Apoptosis

* Cardiopsis

† Instituto Cardiovascular de Buenos Aires

‡ Area de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Universidad del Salvador

Trabajo recibido para su publicación: 11/98 Aceptado: 12/98

Dirección para separatas: Dr. José Milei - Tucumán 2163, 4° "B" (1050) Buenos Aires - Tel-Fax 4951-0366

INTRODUCCION

La estenosis de la arteria carótida es un proceso dinámico y complejo; la hemorragia y ruptura de la placa es una complicación muy frecuente en las lesiones ateroscleróticas. (1) La hipertensión arterial se ha considerado como un factor predisponente o desencadenante de la hemorragia intraplaca (HIP) sin rotura de la cubierta de la placa. (2) Sin embargo, se han realizado pocos intentos para caracterizar la morfología y la patogenia de estas lesiones y el papel de la hipertensión en la génesis de las placas carotídeas complicadas.

Por otro lado, la apoptosis es un componente vital del ciclo normal celular y su desbalance podría tener importancia en la patogénesis y la progresión de las placas. (3) Los mecanismos por los cuales una placa estable se complica no se conocen bien; se han señalado, entre otros, la supresión, la proliferación y migración celular y la síntesis y proteólisis de la matriz extracelular. Estos complejos mecanismos estarían regulados por una variedad de factores que modulan el crecimiento de las células musculares lisas (CML) y la producción de mediadores de la remodelación del compartimiento extracelular arterial. La inestabilidad cromosómica se señaló como la base o la consecuencia de la proliferación de las CML. (4) Pareciera que hay gran similitud entre el proceso aterosclerótico y los tumores benignos, donde se ha encontrado frecuentemente trisomía del cromosoma 7. (5)

El objetivo de este trabajo es aunar información sobre las lesiones ateroscleróticas carotídeas y caracterizar con anticuerpos monoclonales los componentes celulares y vasculares de las lesiones ateroscleróticas en piezas quirúrgicas de endarterectomías carotídeas, a fin de mejorar el conocimiento sobre su papel en la génesis de la HIP, en pacientes hipertensos y normotensos.

Además, se investigó la influencia en la progresión ateromatosa carotídea de los mecanismos apoptóticos, de las alteraciones genéticas de los cromosomas 7 y 11, y de la amplificación del factor fibroblástico de crecimiento-3 (FGF-3).

METODOS

Se estudiaron 195 piezas de endarterectomías carotídeas de 191 pacientes, los cuales se dividieron en hipertensos (n = 143; edad $68,6 \pm 8$ años) y normotensos (n = 48; edad $67,8 \pm 9$ años).

Las piezas se procesaron en cortes seriados utilizando los siguientes marcadores: factor VIII, CD31 y CD34 (células endoteliales), CD45RO (linfocitos T), CD68 (macrófagos), CD20 (linfocitos B), HHF35 (CML). (6)

Los especímenes se estudiaron con el método TUNEL (DNA *nick end labelling*) para evaluar la

apoptosis mediante el índice apoptótico (número de núcleos positivos/número total de núcleos $\times 100$). (4) Y se usó la hibridación *in situ* (FISH) para determinar alteraciones en los cromosomas 7 y 11 y en la expresión del FGF-3. (4)

RESULTADOS

En el estudio de las historias clínicas no se encontraron diferencias significativas entre los grupos al comparar factores de riesgo (diabetes, dislipidemia, tabaquismo) o si eran sintomáticos o asintomáticos.

Básicamente, las placas ateroscleróticas presentaron siete tipos distintos, de los cuales los cinco primeros se consideran lesiones complicadas:

1) Ruptura de placa + trombosis (n = 19; 9,7%): 13 hipertensos; 6 normotensos.

2) Ruptura de placa + HIP + trombosis (n = 35; 18%): 24 hipertensos; 11 normotensos.

3) Ruptura de placa + HIP (n = 40; 20,5%): 35 hipertensos; 5 normotensos.

4) HIP sin ruptura de placa (n = 42; 21,5%): 30 hipertensos; 12 normotensos (Figura 1).

5) Placa calcificada ulcerada (n = 7; 3,6%): 4 hipertensos; 3 normotensos.

6) Placa estable, no complicada, calcificada (n = 36; 18,6%): 29 hipertensos; 7 normotensos.

7) Placa no complicada blanda, inestable (n = 16; 8,2%): 12 hipertensos; 4 normotensos.

Hallazgos inmunocitoquímicos

No se encontraron diferencias entre los pacientes hipertensos y normotensos en los distintos tipos de placas.

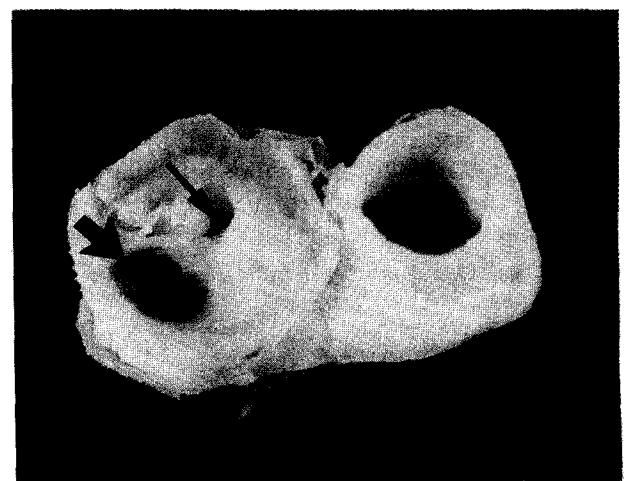


Fig. 1. Corte transversal de las carótidas interna y externa. La primera muestra una hemorragia intraplaca (flecha gruesa) sin conexión con la luz (flecha fina), mientras que la segunda no presenta lesión.

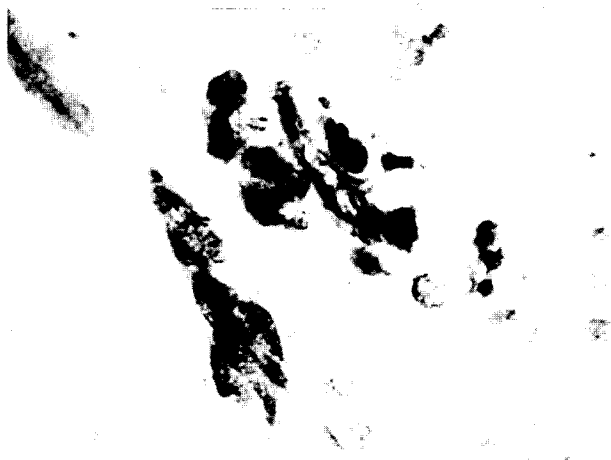


Fig. 2. Se observa estrecho contacto entre macrófagos (marrón) y un capilar teñido de rojo brillante. Doble marcación con inmunoperoxidasa y fosfatasa alcalina x800.

Los componentes celulares de las placas se describen del lumen a la media arterial:

1) Endotelio. Se observó una línea continua, sana, de células endoteliales teñidas con factor VIII, CD31 y CD34.

2) Cubierta fibrosa. Las placas complicadas mostraron infiltración de células inflamatorias consistente en dos tercios de macrófagos (CD68+). El tercio restante estaba formado por linfocitos T (con predominio de CD8+, con pocos CD4+) y escasas células B. Las CML siempre estaban presentes en distinto número. Se pudo constatar una interacción entre macrófagos y capilares y entre macrófagos y células T (Figura 2).

En las placas no complicadas sólo se observaron escasos componentes vasculares y celulares.

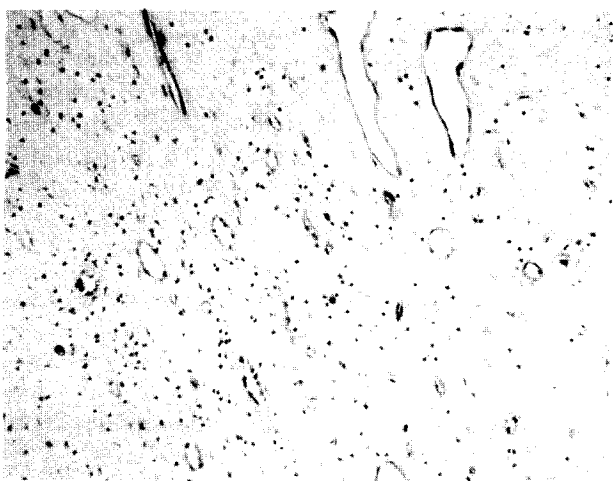


Fig. 3. Placa muy vascularizada. Abundantes neovasos con sus endotelios CD34+. Se observa infiltrado mononuclear en la cavidad de los vasos. Inmunoperoxidasa x250.

3) Núcleos lipídicos. Se pudieron observar dos tipos, el avascular o levemente vascularizado con escaso contenido lipídico y el vascularizado con alto contenido lipídico, con vasos de neoformación teñidos con CD34 y CD31. Estos vasos eran desde pequeños con paredes finas hasta grandes y en algunos casos con aspecto de hemangioma (Figura 3). Este tipo de vasos de neoformación fue observado principalmente en hemorragias intraplaca sin ruptura de cubierta. Las células T se encontraron en estrecho contacto con los vasos neoformados y, en algunos casos, migrando a través de las paredes endoteliales. Algunas placas estables mostraron tejido fibroso denso y pequeñas cantidades de lípidos con gran infiltración de CML teñidas con HHF35.

4) Capas profundas de las placas. La base y los hombros de las placas complicadas mostraron en el 57,5% de los casos vasos de neoformación CD34+, rodeados por infiltrados mononucleares moderados a extensos (macrófagos y células T, en particular CD8+). En las placas estables, calcificadas, el infiltrado inflamatorio fue escaso.

Hibridación *in situ* (FISH)

Se detectaron tres señales indicativas de trisomía del cromosoma 7 en el 83,3% de las placas complicadas, en zonas de gran celularidad. En el 44,4% se observó tetrasomía y en el 22,2%, polisomía del cromosoma 7. Estas alteraciones se limitaron a la población de células HHF35+ (CML).

Con respecto al cromosoma 11, se constató monosomía en al menos el 20% de las células (Figura 4). Sin embargo, se detectó una marcada amplificación del gen para FGF-3 en aproximadamente dos tercios de las CML.

Tanto en las placas no complicadas, como en las

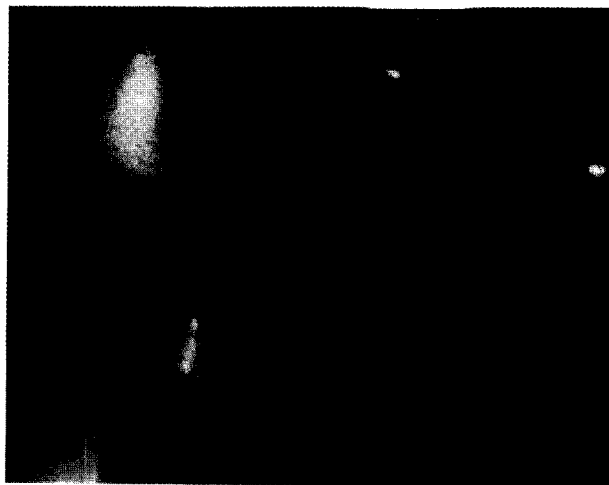


Fig. 4. Monosomía del cromosoma 11, se observa una señal fluorescente en los núcleos.

paredes arteriales normales utilizadas como control, el FISH evidenció dos señales por núcleo, indicativas de normalidad; no se observaron alteraciones en la expresión del gen del FGF-3 como tampoco en el FISH del cromosoma 3, que se sabe que no está relacionado con la progresión aterosclerótica, usado en este trabajo como control extra de diploidía.

Apoptosis

En las placas complicadas, la apoptosis fue muy frecuente, con un índice apoptótico de $10,8 \pm 1\%$. En las capas internas de las cubiertas fibrosas y en las áreas internas de los núcleos lipídicos se observó una hiperplasia de las CML y de los macrófagos. Por otro lado, sólo se pudieron detectar pocas células apoptóticas en la capa remanente de tejido muscular liso (0-2%).

En las placas no complicadas, el índice apoptótico fue muy bajo ($0,5 \pm 0,01\%$) o no se detectó apoptosis ($p < 0,01$).

DISCUSION

Se sugirió que la hipertensión arterial podría ser un factor predisponente en la ruptura de los vasos neoformados y en el desarrollo de la HIP (7) a través de las vibraciones aumentadas en esta patología a nivel de la pared arterial. (8) Sin embargo, en el presente trabajo no se pudo establecer una correlación entre la hipertensión y la HIP sin ruptura.

CONCLUSIONES

- La HIP no está relacionada con la erosión de la cubierta, sino con la vascularización de la placa (núcleos lipídicos altamente vascularizados con vasos de neoformación y macrófagos y células T en estrecho contacto, y en algunos casos lesionando el endotelio).
- El crecimiento abrupto de los núcleos lipídicos y/o la producción excesiva de metaloproteínas y/o radicales libres del oxígeno por parte de los macrófagos podría llevar a la ruptura de los vasos y a la generación de la HIP.
- La apoptosis en las CML y en macrófagos y las alteraciones en los cromosomas 7 y 11 y en la amplificación del FGF-3 se observaron en los componentes celulares y/o infiltrados de las placas complicadas.
- El desbalance entre el crecimiento celular clonal (anomalías cromosómicas) y el alto índice apoptótico podría determinar la evolución hacia placas complicadas.
- Es importante remarcar que todos estos hallazgos fueron independientes de la presencia de hipertensión en los pacientes.
- A pesar de que ha sido ampliamente sugerido en la literatura, no se pudo establecer una relación definitiva entre la hipertensión y la HIP.

SUMMARY

HYPERTENSION IN PATIENTS SUBMITTED TO CAROTID ENDARTERECTOMY. DOES HYPERTENSION PREDISPOSE OF TRIGGER INTRAPLAQUE CAROTID HEMORRHAGE?

Background

It was suggested that hypertension (HT) may be a predisposing factor in the rupture of the neoformed vessels and the development of intraplaque hemorrhage (IPH). However, few attempts have been made to characterize the pathogenesis of these lesions.

Objective

In order to obtain information about the role of HT in the genesis of complicated carotid plaques (CCP) 195 endarterectomies from 191 patients were studied.

Material and methods

Specimens belonged to 143 hypertensives (age: 68.6 ± 8 years) and 48 non-hypertensives (age: 67.8 ± 8.9 years). Aside from histological staining, immunophenotyping of cells, apoptosis by DNA nick end labelling and chromosomes 7 and 11, and FGF-3 gene amplification by FISH were performed.

Results

No differences were found among groups regarding the plaque type. CCP showed at the site of erosion loss of endothelial cells CD34+ & CD31+, a large number of macrophages and T-cells. In the IPH neoformed vessels (CD34+ & CD31+) surrounded by mononuclear infiltrates, high percentages of trisomy and tetrasomy of chromosome 7 and monosomy of chromosome 11 and gene amplification of locus 11q13.3 were observed. Apoptosis was very frequent (10-30%) in the high cellularity regions, where the infiltration of smooth muscle cells and macrophages was evident. Neither apoptosis (0-0.5%, $p < 0.001$) nor chromosomal and FGF-3 alterations were observed in non-CCP.

Conclusions

These findings suggest that the IPH might be due to the breakdown of neoformed vessels related to inflammatory infiltrates; imbalance between clonal cell growth and high rate apoptosis may account for the evolution of CCP, independent from HT.

Key words Hypertension - Carotid endarterectomy - Intraplaque hemorrhage - Plaque vascularization - Macrophages - T-lymphocytes - Apoptosis

BIBLIOGRAFIA

1. Milei J, Parodi JC, Fernández Alonso G y col. Carotid atherosclerosis. Immunocytochemical analysis of the vascular and cellular composition in endarterectomies. *Cardiologia* 1996; 41: 535-542.
2. Milei J, Parodi JC, Fernández Alonso G, Barone A, Grana D, Matturi L. Carotid rupture and intraplaque hemorrhage: Immunophenotype and role of cells involved. *Am Heart J* 1998; 136: 1096-1105.
3. Han DKM, Haudenschlid CC, Hong MK, Tinkle BT, Leon MB, Liao G. Evidence for apoptosis in human atherogenesis and in a rat vascular injury model. *Am J Pathol* 1995; 147: 267-277.
4. Matturri L, Cazzullo A, Turconi P, Lavezzi AM. Cytogenetic aspects of cell proliferation in atherosclerotic plaques. *Cardiologia* 1997; 42: 833-836.
5. Vanni R, Cossu L, Licheri S. Atherosclerotic plaque as a benign tumor? *Cancer Genet Cytogenet* 1990; 47: 273-274.
6. Milei J, Fernández Alonso G, Grana DR y col. Mecanismos de ruptura y hemorragia intraplaque en la aterosclerosis carotídea. Inmunofenotipo y rol de las células comprometidas. *Rev Fed Arg Cardiol* 1997; 26: 327-340.
7. Kannel WB, Wolf PA, Verter J. Epidemiologic assessment of the role of blood pressure in stroke: The Framingham study. *JAMA* 1970; 214: 301-310.
8. Persson AV, Robichaux WT, Silverman M. The natural history of carotid plaque development. *Arch Surg* 1983; 118: 1048-1052.