

Polimorfismos plaquetarios (PIA1/A2) y de la óxido nítrico sintetasa (Glu298Asp, -786T>C, 922A/G y el intrónico 420/393) y su relación con la reestenosis *intrastent* coronario

DIEGO D. GRINFELD¹, FLORENCIA ROLANDI^{1, 2}, JAVIER SCAGLIA³, IGNACIO RIFOURCAT⁴, PABLO POLLONO⁴, GUILLERMO CUGAT¹, FERNANDO FUERTES¹, LILIANA GRINFELD^{MTSAC, 5}

Recibido: 08/10/2009
Aceptado: 28/10/2009

Dirección para separatas:

Dr. Diego D. Grinfeld
Hospital Español de La Plata
Calle 9 N° 175 - La Plata
Pcia. de Buenos Aires, Argentina
Tel.-fax: (0221) 483-8497 o
(0221) 421-1337
e-mail: dieogrinfeld@hotmail.com

RESUMEN

Introducción

Con la aparición y el desarrollo de los *stents* liberadores de droga (SLD), los porcentajes de reestenosis han disminuido según lo demuestran distintas series, pero igualmente siguen siendo clínicamente significativos. Factores genéticos contribuyen a ello, por lo que éstos constituyen una de las causas que deben tenerse en cuenta e investigarse a fondo. Se conocen algunos polimorfismos que presentan una bien documentada relación con la reestenosis *intrastent*, entre ellos el polimorfismo plaquetario y el de la óxido nítrico sintetasa endotelial.

Objetivo

Demostrar si el polimorfismo plaquetario IIB-IIIa (PIA2) y de la óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS) (Glu298Asp, -786T>C, 922A/G y 420/393) presentan mayor riesgo de reestenosis *intrastent* posangioplastia coronaria (ATC).

Material y métodos

La población estuvo compuesta por 92 pacientes con ATC realizada entre 1 y 12 meses previos a la inclusión en el estudio, en los que se efectuó una angiografía por sospecha clínica de reestenosis. Se consideraron casos las reestenosis angiográficas (> 50%) y controles a los pacientes sin reestenosis. Se realizó la prueba de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para cada polimorfismo con enzimas de restricción específicas. Se efectuó un análisis de regresión logística múltiple, que incluyó factores clínicos, angiográficos y genéticos.

Resultados

Entre los casos y los controles, 41 pacientes con reestenosis y 51 sin reestenosis, respectivamente, la edad, el sexo y los factores de riesgo fueron similares. Se utilizó un 60% de *stents* liberadores de droga por grupo.

Los pacientes con alelo polimórfico PIA2 tuvieron una tasa de reestenosis significativamente mayor que los no portadores (21,9% *versus* 1,9%, OR 14,1, IC 95% 1,7-116,3; p = 0,002). Algo similar se observó con el polimorfismo 922A/G (41,5% *versus* 19,6%, OR 2,9, IC 95% 1,2-7,4; p = 0,02). El resto de los polimorfismos (298Asp, 420/393 y 786T-C) mostraron una frecuencia similar de reestenosis en ambos grupos. En el análisis multivariado, el PIA1/A2 fue el único predictor independiente de reestenosis (p = 0,02).

Conclusiones

Este estudio muestra que el alelo polimórfico PIA2 es un predictor independiente de riesgo de reestenosis *intrastent* coronario y su detección podría tener implicaciones importantes en la toma de decisiones.

REV ARGENT CARDIOL 2009;77:471-477.

Palabras clave > Genética - Estenosis coronaria - Polimorfismo

Abreviaturas >			
ADN	Ácido desoxirribonucleico	PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
ATC	Angioplastia transluminal coronaria	RFLP	Proteína de restricción de longitud de fragmentos
eNOS	Óxido nítrico sintetasa endotelial	SC	Stent convencional
GP	Glicorreceptor plaquetario	SLD	Stent liberador de droga
Leu33/pro33	Leucina33/prolina33		

Trabajo Ganador del Premio XXXV Congreso Argentino de Cardiología
Hospital Español de La Plata (IDYTAC) - Hospital Italiano de Buenos Aires - Centro Coordinador TANGO

^{MTSAC} Miembro Titular de la Sociedad Argentina de Cardiología

[†] Para optar a Miembro Titular de la Sociedad Argentina de Cardiología

¹ Staff Hemodinamia del Hospital Español de La Plata (IDYTAC)

² Cardióloga, Hospital Italiano de Buenos Aires

³ Bioquímico, Master en Ingeniería Genética y Biología Molecular. GeneLab, Laboratorio de Genética y Endocrinología, La Plata

⁴ Fellow de Hemodinamia Hospital Español de La Plata (IDYTAC)

⁵ Jefa de Hemodinamia Hospital Español de La Plata, Jefa de Hemodinamia Hospital Italiano de Buenos Aires, Directora del Centro Coordinador TANGO

INTRODUCCIÓN

La reestenosis *intra-stent*, definida como la aparición de una nueva estenosis angiográfica superior al 50% en el interior del *stent*, sigue siendo el gran paradigma de la cardiología intervencionista. La incidencia global de la reestenosis *intra-stent* se puede cifrar alrededor del 28%, con una oscilación según las series del 9,9% al 32,8%. (1) Esta gran variabilidad se ve influida principalmente por el tipo de lesiones abordadas. Así, si se analizan las series que han incluido arterias de calibre < 3 mm, este porcentaje de reestenosis se incrementa y se encuentran valores de entre el 32,6% y el 47%. Si además se incluyen pacientes con lesiones de una longitud superior a los 15 mm, esta incidencia puede alcanzar valores de hasta el 58%; (2) en alrededor del 50% de ellos, la reestenosis es sintomática. Variables clínicas como la diabetes, el sexo y la edad, entre otras, se han visto relacionadas con el desarrollo de reestenosis. (3-6)

Con la aparición y el desarrollo de los *stents* liberadores de droga (SLD), estos porcentajes de reestenosis han disminuido al 5-10% según lo demuestran distintas series, (7-13) pero igualmente siguen siendo clínicamente significativas. Las causas últimas del desarrollo de reestenosis en estos *stents* no se ha esclarecido, aunque se sospecha que intervienen la mala aposición o la impactación del *stent* y las reacciones de hipersensibilidad a la droga. (8-12, 14)

Una causa que se debe tener en cuenta e investigar a fondo es la genética. En los últimos años ha surgido un gran interés por los polimorfismos y las mutaciones en relación con la reestenosis con *stents* y sin éstos, sobre todo desde el comienzo del proyecto genoma humano, que llevó a la detección de una gran cantidad de polimorfismos relacionados con la reestenosis. El tema debería abordarse cuidadosamente, ya que con el correr de los años un gran número de estos polimorfismos se han desestimado en relación con la cardiopatía isquémica.

Se conocen algunos polimorfismos que presentan una bien documentada relación con la reestenosis *intra-stent*, entre ellos el polimorfismo de los glicorreceptores de membrana plaquetarios IIb-IIIa, más específicamente su fracción IIIa (PIA2), (15, 16) que demostró que tiene relación con un incremento de la reestenosis pos-ATC con *stent*, mayor agregabilidad plaquetaria y una respuesta menor a los antiagregantes, (17-24) como también que es un modulador de la migración celular de la matriz extracelular, (25) sobre todo en los homocigotos A2/A2. Asimismo, los polimorfismos pertenecientes a la sintetasa endotelial de óxido nítrico (eNOS), el Glu298Asp, -786T>C, 922A/G y el intrónico 420/393 se han relacionado con la enfermedad coronaria, (26, 27) el espasmo coronario (28) y la reestenosis *intra-stent*. (29, 30) Algunos de estos estudios han comparado distintos polimorfismos y su relación con la reestenosis *intra-stent* y los resultados muestran que los dos alelos polimórficos de la

eNOS antes mencionados tienen un gran peso en relación con la reestenosis.

Sería interesante determinar si estos polimorfismos se encuentran presentes en el ADN de los pacientes que sufrieron reestenosis luego de una angioplastia transluminal coronaria (ATC) con SLD, para así tener mayor certidumbre sobre las causas por las cuales se presenta la reestenosis en estos *stents* que impiden la proliferación celular, lo cual sería el principal desencadenante en los *stents* convencionales (SC). (31)

La evidencia disponible acerca del papel de la genética y el desarrollo de reestenosis proviene mayoritariamente de trabajos con SC, en los que la reestenosis resulta principalmente de la proliferación celular. (31) Las drogas liberadas por los SLD impiden esta proliferación celular y, por lo tanto, es posible que la fisiopatología de la reestenosis difiera según el *stent* empleado. Más aún, es probable que la presencia de ciertos polimorfismos genéticos sea determinante de la reestenosis intra-SLD. Por ello, el objeto de investigación del presente estudio es evaluar la presencia de algunos polimorfismos genéticos en pacientes con reestenosis posangioplastia con SLD y con *stents* convencionales.

El objetivo general del presente trabajo fue el de evaluar si existe una asociación entre la portación de los polimorfismos PIA2, -786T>C, Glu298Asp, 922A/G y 420/393 y la presencia de reestenosis posangioplastia con *stent*.

Los objetivos específicos incluyeron:

1. Determinar la prevalencia de los polimorfismos PIA2 y de la eNOS en pacientes con reestenosis *intra-stent* comparados con pacientes con angioplastia previa que no desarrollaron reestenosis.
2. Comparar la prevalencia de los polimorfismos PIA2 y de la eNOS en pacientes con reestenosis *intra-stent* según el tipo de *stent* empleado, SLD o SC.
3. Evaluar la relación entre los polimorfismos PIA2 y de la eNOS con la presencia de otras variables clínicas asociadas con reestenosis, como edad, diabetes, características de las lesiones, arteria en la que se efectuó la angioplastia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Universo de estudio

Pacientes con antecedentes de angioplastia con *stent* a lesiones *de novo* (entre 1 mes y 12 meses previos a la inclusión) sometidos a coronariografía por sospecha clínica de reestenosis *intra-stent*. Se consideró sospecha de reestenosis a la presencia de angina o síntomas equivalentes (disnea de esfuerzo) y/o evidencia objetiva de isquemia en estudios evocadores (ergometría, perfusión en cámara gamma o ecocardiograma de estrés con ejercicio o apremio farmacológico). Se excluyeron los pacientes con antecedentes de angioplastia con balón (sin uso de *stent*).

Tipo y diseño general del estudio

Estudio observacional, prospectivo, multicéntrico, de casos y controles. Se consideraron casos los pacientes en los que

se confirmó la presencia de reestenosis por angiografía (nueva estenosis angiográfica superior al 50% en el interior del *stent*) y controles los pacientes sin evidencias angiográficas de reestenosis.

Los centros participantes fueron el Hospital Español de La Plata y el Hospital Italiano de Buenos Aires.

Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética de cada institución, tomando en cuenta la Declaración de Helsinki.

Genotipificación

Se realizó la genotipificación en todos los pacientes por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en sangre periférica extraída por venopunción (10 ml) con EDTA y se efectuaron las determinaciones para cada polimorfismo en particular con su respectiva enzima de corte (Figura 1).

Extracción de ADN

El ADN se extrajo mediante una lisis de leucocitos con solución TNE *buffer*, 10 mmol/L Tris Base 10 mmol/L de NaCl, 1 mmol/L de EDTA. Se resuspendió en solución de NaCl 75 mmol/L y EDTA 25 mmol/L. Se sometió a proteinasa K durante toda la noche a 65 °C, se centrifugó a 13.000 rpm durante 5 minutos y se extrajo el ADN con isopropanol frío.

Se retiró el ADN de la solución y se resuspendió en solución de TE (0,1 M de Tris y 0,001 M de EDTA).

Los genotipos polimórficos de digestión final se identificaron en una electroforesis en gel de agarosa al 1,5% y se revelaron con una solución de bromuro de etidio 1 micromolar.

PCR y RFLP del PIA2

Para identificar el genotipo PIA2, se usaron los *primers* (cebadores): 5'-TTCTGATTGCTGGACTTCTCTT3' y 5'-TCTCTCCCCATGGCAAAGAGT-3'.

El protocolo de amplificación consistió en una desnaturalización inicial de 94 °C durante 5 min, luego se realizaron 34 ciclos de 94 °C por 60 seg, de 57 °C por 45 seg y de 72 °C por 60 seg.

Se realizó una extensión final de 15 min a 72 °C. Se obtuvo así un producto amplificado de 266 pares de bases, el que luego fue digerido con la enzima de restricción Msp I.

PCR y RFLP del Glu298Asp

Para el Glu298Asp se utilizaron los *primers*: 5'-CATGAGGC TCAGCCCCAGAAC-3' y 5'-AGTCAATCCCTTTGGTGC TCAC-3'.

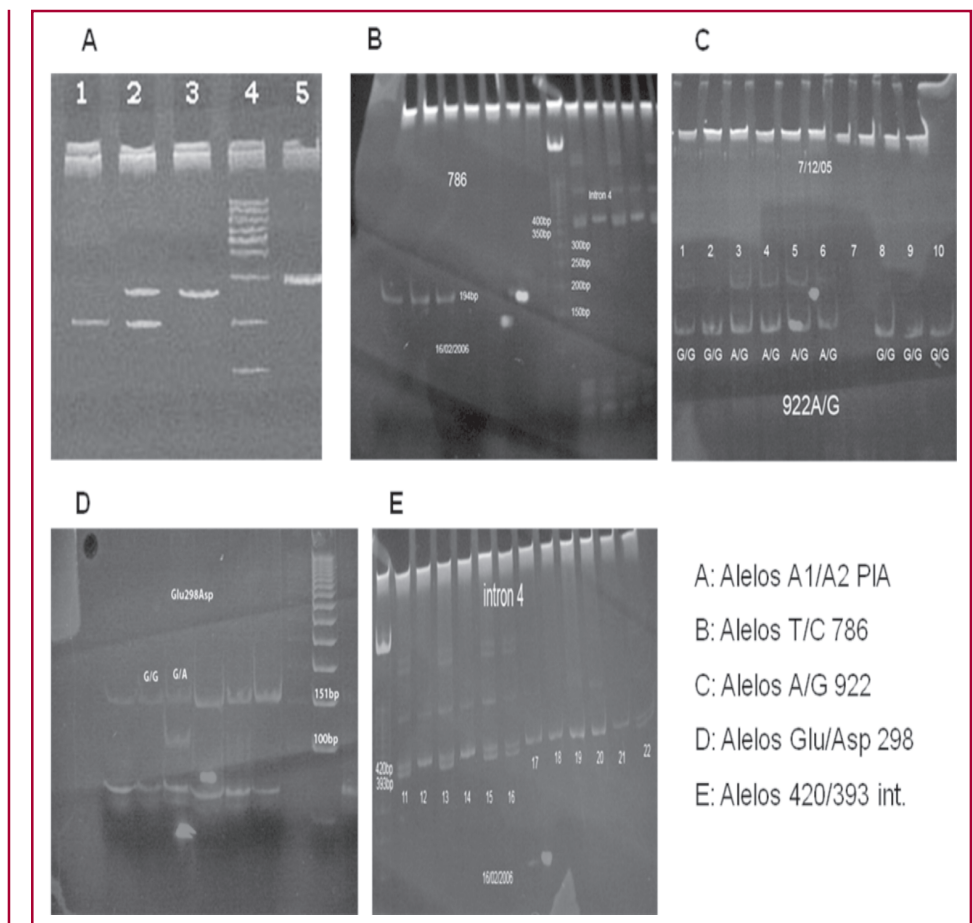
El protocolo de amplificación consistió en una desnaturalización inicial de 94 °C durante 5 min, luego se realizaron 34 ciclos de 94 °C por 60 seg, de 57 °C por 45 seg y de 72 °C por 60 seg.

Por último se realizó una extensión final de 15 min a 72 °C. Se obtuvieron así 206 pares de bases que fueron digeridas con la enzima de restricción Mbo I, ante la presencia de una T en el nucleótido 894, que corresponde a Asp298; los 206 pares de bases quedaron divididos en dos fragmentos de 119 y 87 pares de bases.

PCR y RFLP del -786T>C

Para el polimorfismo -786T>C, los *primers* utilizados fueron: 5'-ATGCTCCCACCAGGGCATCA-3' y 5'-GTCCTTGAG TCTGACATTAGGG-3'; con el mismo protocolo de amplifi-

Fig. 1. Geles con resultados de PCR en cada polimorfismo.



cación se logró un producto de 236 pares de bases, que fue digerido con la enzima de restricción NgOAIIV, con lo que el producto se dividió en 203 y 33 pares de bases en presencia del alelo C.

PCR y RFLP del 922A/G

Para el polimorfismo 922A/G, los *primers* utilizados fueron: 5'-CAGCTAGTGGCCTTTCTCC-3' y 5'-AGAGCTTGATGCCCTGGTG-3.

Con el mismo protocolo de amplificación se logró un producto de 248 pares de bases que fue digerido con la enzima de restricción BslII, con lo que el producto se dividió en 138 y 110 pares de bases en presencia del alelo G.

PCR y RFLP del intrón 4 (393/420)

Para el polimorfismo del intrón 4 se utilizaron los *primers*: 5'-AGGCCCTATGGTAGTGCCCTT-3' y 5'-TCTCTTAGTGCTGTGGTCAC-3'; con el mismo protocolo de amplificación se logró un producto de 393 y 420 pares de bases.

Análisis estadístico

Las variables discretas se expresaron como porcentajes, las variables continuas, como media \pm desviación estándar en caso de distribución normal y como mediana con rango intercuartil 25-75 para las variables de distribución no gaussiana. Las comparaciones estadísticas de las variables discretas se realizaron con la prueba de chi cuadrado con corrección de Yates o la prueba exacta de Fisher. Para las variables continuas se emplearon las pruebas de la *t* de Student para datos no apareados o el Wilcoxon *rank sum test* según correspondiera.

Se determinaron las características clínicas y angiográficas relacionadas con la presencia de los polimorfismos. Se analizaron además los predictores de reestenosis *intrastent*, para lo cual se construyeron tablas de contingencia y se determinaron para cada variable los *odds ratio* y sus respectivos intervalos de confianza. Para investigar el efecto independiente de la presencia de los polimorfismos sobre el riesgo de reestenosis *intrastent*, ajustando por posibles confundidores, se construyó un modelo de regresión logística por pasos.

Se incluyeron las variables que mostraran un valor de $p < 0,1$ en el análisis univariado y aquellas que pudieran ejercer un efecto confundidor en la relación entre reestenosis y presencia del polimorfismo. A fin de identificar grupos de covariables con residuo importante y para el diagnóstico de potenciales influyentes se evaluaron el delta chi cuadrado y

delta beta, respectivamente. La calibración de los modelos se evaluó con la prueba de Hosmer-Lemeshow y su capacidad de discriminación, con análisis ROC.

Todas las comparaciones estadísticas se realizaron a dos colas y se consideraron significativos valores de p menores de 0,05. Los análisis se efectuaron con el *software* Intercooled Stata 8 (Stata Corporation).

RESULTADOS

Se incluyeron 92 pacientes: 41 con reestenosis y 51 sin reestenosis. La edad, el sexo y la prevalencia de los factores de riesgo fue similar entre los casos y los controles (Tabla 1). Se observó una diferencia estadísticamente significativa en la presencia de reestenosis entre los dos grupos en la arteria descendente anterior y la arteria circunfleja (Tabla 1). Se utilizó un 60% de *stents* liberadores de droga por grupo.

La proporción de polimorfismos en la población total se muestra en Tabla 2.

En el análisis univariado, los pacientes con alelo polimórfico PIA2 tuvieron una tasa de reestenosis significativamente mayor que los no portadores (21,9% *versus* 1,9%, OR = 14,1, IC 95% 1,7-116,3; $p = 0,002$). Algo similar se observó con el polimorfismo 922A/G (41,5% *versus* 19,6%, OR 2,9, IC 95% 1,2-7,4; $p = 0,02$). Los portadores del Glu298Asp, el polimorfismo intrónico 420/393 y el -786C mostraron una frecuencia similar de reestenosis que los no portadores (Tabla 3). En el análisis multivariado, el polimorfismo PIA1/A2 permaneció como el único predictor independiente de reestenosis (OR 12,5, IC 95% 1,48-105,61; $p = 0,02$).

No se encontraron diferencias entre los pacientes en los que se utilizaron SLD o *stents* convencionales en cuanto al porcentaje de reestenosis y la presencia o no de los alelos polimórficos (Tabla 4).

DISCUSIÓN

De los resultados se desprende que el alelo polimórfico PIA2 tiene relación con la presencia de reestenosis

	Sin reestenosis n = 51	Reestenosis n = 41	Valor de p
Edad, media \pm DE (años)	60,9 \pm 10,2	59,2 \pm 10,8	0,41
Sexo masculino, n (%)	38 (74,5)	30 (73,2)	0,88
Hipertensión arterial, n (%)	40 (78,4)	31 (75,6)	0,75
Tabaquismo (actual o previo), n (%)	18 (35,3)	18 (43,9)	0,40
Diabetes, n (%)	11 (21,6)	7 (17,1)	0,6
Dislipidemia, n (%)	38 (74,5)	30 (73,2)	0,89
Vaso			
Descendente anterior, n (%)	32 (62,7)	12 (29,3)	0,001
Circunfleja, n (%)	6 (11,8)	13 (31,7)	0,02
Coronaria derecha, n (%)	13 (25,5)	16 (39,0)	0,16
SLD, n (%)	31 (60,8)	27 (65,9)	0,62

Tabla 1. Características basales de la población y procedimiento

pos-ATC con *stent*, ya que se detectó en el 21,9% de los pacientes del grupo de reestenosis, mientras que sólo se halló en el 1,9% de los del grupo sin reestenosis (21,9% *versus* 1,9%, OR 14,1, IC 95% 1,7-116,3; $p = 0,002$) y a diferencia del polimorfismo 922A/G de la eNOS, presente en el 41,5% de los pacientes con reestenosis y en el 19,6% de los que no sufrieron reestenosis, con diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (OR 2,9, IC 95% 1,2-7,4; $p = 0,02$), el PIA2 se mantuvo como predictor independiente luego del análisis multivariado. Los otros polimorfismos de la eNOS evaluados (Glu298Asp, -786T>C y el intrónico 420/393) no lograron significación estadística en la muestra.

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran la existencia de estos polimorfismos en todas sus variantes entre la población en estudio y, de acuerdo con ellos, se podría relacionar directamente el polimorfismo del GP IIIa, PIA2, con la reestenosis pos-ATC con *stent*.

Si consideramos que la mayoría de las enfermedades reconocen un importante componente genético y otro ambiental en su fisiopatología y que la variabilidad genética que se presenta en las distintas razas y etnias pueden modificar los resultados de estudios que intenten buscar un determinante genético único como responsable de una enfermedad poligénica, entendemos el porqué de los distintos resultados que se encuentran en la bibliografía mundial con respecto a éstos u otros polimorfismos o mutaciones génicas. No sólo se debe tener en cuenta lo antedicho, sino también el método utilizado, la población comparada y los puntos finales de cada trabajo para determinar si los resultados expresados en ellos son comparables.

Por ejemplo, la relación entre el PIA2 y la reestenosis *intrastent* fue demostrada por Kastrati y colaboradores y Walter y colaboradores y por nuestro grupo, en estudios previos, entre otros. (18-20) Sin embargo, Laule y colaboradores no pudieron relacionarlos; (31) esto podría obedecer al tipo de población analizada y a puntos finales no comparables con los otros dos estudios. Otros autores demostraron que los portadores del PIA2 tienen, además de un riesgo mayor de enfermedad coronaria y reestenosis *intrastent*, mayor agregabilidad plaquetaria, menor respuesta a la aspirina y el clopidogrel y una respuesta alterada a los inhibidores IIb-IIIa. (17, 21-25) Por lo expuesto, no podemos decir en forma definitiva que los polimorfismos de la eNOS no se relacionan con la reestenosis *intrastent*, ya que mostraron una tendencia y el 922 AG demostró diferencias estadísticas significativas en el análisis univariado.

Debido a que el método científico requiere repetidas confirmaciones para poder aseverar un resultado, y teniendo en cuenta la antes mencionada variabilidad genética interracial y étnica, es que realizamos

Tabla 2. Proporción de los polimorfismos en la población

Polimorfismo	n (%)
PIA	
A1/A1	82 (89,1%)
A1/A2	10 (10,9%)
Glu298asp	
Glu/Glu	81 (88,0%)
Glu/Asp	11 (12,0%)
922A/G	
A/A	65 (70,7%)
A/G	22 (23,9%)
G/G	5 (5,4%)
Intrón	
420/420	76 (82,65)
420/393	16 (17,4%)
-786T>C	
TT	58 (63,0%)
CC	9 (9,8%)
TC	25 (27,25)

Tabla 3. Proporción de polimorfismos según reestenosis, análisis univariado

Polimorfismo	Valor de p
PIA1/A2	0,24
Glu298Asp	0,48
922 A/G	0,06
420/393	0,23
-786TC	0,28

este trabajo con el objetivo de demostrar la presencia de estos polimorfismos en la población argentina y comparar sus porcentajes y su relación con la reestenosis *intrastent*.

CONCLUSIONES

Estos resultados nos muestran que el alelo polimórfico PIA2 es detectable en todas sus variantes en la población argentina y que su presencia es un predictor independiente de riesgo de reestenosis *intrastent* coronaria y su detección podría tener implicaciones importantes en la toma de decisiones. Sin embargo, los polimorfismos de la eNOS, a pesar de tener una tendencia y de que el 922A/G demostró diferencias significativas en el análisis univariado, no serían marcadores de reestenosis *intrastent* según los resultados del presente estudio.

	Sin reestenosis n = 51	Reestenosis n = 41	OR (IC 95%)	Valor de p
PIA				
"Normal" (A1/A1), n (%)	50 (98,0)	32 (78,1)	14,06 (1,70-116,30)	0,01
"Anormal" (A1/A2), n (%)	1 (2,0)	9 (21,9)		
g298a				
"Normal" (Glu/Glu), n (%)	47 (92,2)	34 (82,9)	2,42 (0,66-9,92)	0,18
"Anormal" (Glu/Asp), n (%)	4 (7,8)	7 (17,1)		
922A/G				
"Normal" (A/A), n (%)	41 (80,4)	24 (58,5)	2,90 (1,15-7,36)	0,02
"Anormal" (A/G o G/G), n (%)	10 (19,6)	17 (41,5)		
Intrón				
"Normal" (420/420), n (%)	41 (80,4)	35 (85,4)	0,70 (0,23-2,13)	0,53
"Anormal" (420/393), n (%)	10 (19,6)	6 (14,6)		
786 T/C				
"Normal" (T/T), n (%)	35 (68,6)	23 (56,1)	1,71 (0,73-4,02)	0,22
"Anormal" (T/C o C/C), n (%)	16 (31,4)	18 (43,9)		

Tabla 4. Relación entre polimorfismos y *stents* liberadores de droga

SUMMARY

Platelet (PIA1/A2) and Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms (Glu298Asp, -786T>C, 922A/G and Intron 420/393) and Its Relation with In-Stent Restenosis

Background

The advent and the development of drug eluting stents (DES) have reduced the prevalence of restenosis according to different series; however, its incidence still remains significant. Genetic factors contribute to restenosis and thus should be taken into account and undergo thorough investigation. Some polymorphisms are known to have a relation with in-stent restenosis: platelet polymorphism and endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism.

Objective

To demonstrate if platelet IIb-IIIa (PIA2) and endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene polymorphisms (Glu298Asp, -786T>C, 922A/G and 420/393) present greater risk of in-stent restenosis after coronary angioplasty (PTCA).

Material and Methods

A coronary angiography was performed in 92 patients who had undergone PTCA in the previous 1 to 12 month, due to suspected restenosis. Patients were divided in two groups: with angiographic restenosis (<50%) (cases) and without restenosis (controls). A polymerase chain reaction (PCR) was performed for each polymorphism using specific restriction enzymes.

Multiple logistic regression analysis included clinical, angiographic and genetic factors.

Results

Age, gender and risk factors were similar among both groups (cases = 41 patients with restenosis, controls: 51 patients without restenosis). A 60% of drugs eluting stents were implanted in each group.

The rate of restenosis in patients with PIA2 polymorphic allele was significantly greater than in non carriers (21.9% versus 1.9%, OR 14.1, 95% CI 1.7-116.3; p=0.002). Patients with variant allele for 922A/G polymorphism showed a similar behavior (41.5% versus 19.6%, OR 2.9, 95% CI 1.2-7.4;

p=0.02). The prevalence of restenosis was similar in both groups in patients with 298Asp, 420/393 and 786T-C polymorphisms. Multivariate analysis revealed that PIA1/A2 was the only predictor of restenosis (p=0.02).

Conclusions

This study demonstrates that PIA2 polymorphic allele is an independent predictor of in-stent restenosis; its detection might have important clinical implications in decision-making.

Key words > Genetics - Coronary Stenosis - Polymorphism

BIBLIOGRAFÍA

- Reimbers B, Mousa I, Akiyama T, Tucci G, Ferraro M, Martini G, et al. Long-term clinical follow-up after successful repeat percutaneous interventions for stent restenosis. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:186-92.
- Mintz GS, Hoffmann R, Mehran R, Pichard AD, Kent KM, Satler LF, et al. In-stent restenosis: the Washington Hospital Center experience. *Am J Cardiol* 1998;81:7E-13E.
- Navarro-López F. Genes and coronary heart disease. *Rev Esp Cardiol* 2002;55:413-31.
- Pascual Figal DA, Valdés Chavarri M, Picó Aracil F, Pinar Bermúdez E, Iñigo García L, Ruipérez Abizanda J. Usefulness of predictors of angiographic restenosis to predict clinical restenosis after coronary stent placement. *Rev Esp Cardiol* 2000;53:1183-8.
- Bauters C, Hubert E, Prat A, Bougrimi K, Van Belle E, McFadden E, Amouyel P, et al. Predictors of restenosis after coronary stent implantation. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:1291-8.
- Iñiguez Romo A, García Belenger R, Navarro del Amo LF, Ibarrollin Hernández R, Fernández Rozas I, Marcos-Alberca Moreno P, et al. The predictive factors of intra-stent restenosis. *Rev Esp Cardiol* 1999;52:1035-44.
- Serruys PW, Degertekin M, Tanabe K, Abizaid A, Sousa JE, Colombo A, et al; RAVEL Study Group. Intravascular ultrasound findings in the multicenter, randomized, double-blind RAVEL (Randomized study with the sirolimus-eluting VELOCITY balloon-expandable stent in the treatment of patients with de novo native coronary artery Lesions) trial. *Circulation* 2002;106:798-803.
- Grube E, Silber S, Hauptmann KE, Mueller R, Buellesfeld L, Gerckens U, et al. TAXUS I: Six- and twelve-month results from a

- randomized, double-blind trial on a slow-release paclitaxel-eluting stent for de novo coronary lesions. *Circulation* 2003;107:38-42.
9. Tanabe K, Serruys PW, Degertekin M, Guagliumi G, Grube E, Chan C, et al; TAXUS II Study Group. Chronic Arterial Responses to Polymer-Controlled Paclitaxel-Eluting Stents: Comparison With Bare Metal Stents by Serial intravascular Ultrasound Analyses: Data From the Randomized TAXUS-II Trial. *Circulation* 2004;109:196-200.
10. Tanabe K, Serruys PW, Grube E, Smits PC, Selbach G, van der Giessen WJ, et al. TAXUS III Trial: In-Stent Restenosis Treated With Stent-Based Delivery of Paclitaxel Incorporated in a Slow-Release Polymer Formulation. *Circulation* 2003;107:559-64.
11. Lemos P, Serruys Pw, Van Domburg RT, Saia F, Arampatzis CA, Hoye A, et al. Unrestricted utilization of sirolimus-eluting stents compared with conventional bare stent implantation in the "real world"; The Rapamycin-Eluting stent evaluated at Rotterdam Cardiology Hospital (RESEARCH) registry. *Circulation* 2004;109:190-5.
12. Schofer J, Schlüter M, Gershlick AH, Wijns W, Garcia E, Schampaert E, et al; E-SIRIUS Investigators. Sirolimus-eluting stents for treatment of patients with long atherosclerotic lesions in small coronary arteries: double-blind, randomized controlled trial (E-SIRIUS). *Lancet* 2003;362:1093-9.
13. Ellis S, Stone GW, Pompa JJ, et al. The TAXUS IV study: final angiographic results. *Circulation* 2003;108:IV-532. Abstract.
14. Virmani R, Guagliumi G, Farb A, Musumeci G, Grieco N, Motta T, et al. Localized hypersensitivity and late coronary thrombosis secondary to a sirolimus-eluting stent: should we be cautious? *Circulation* 2004;109:701-5.
15. Newman JP, Derbes RS, Aster RH. The human platelet alloantigens, P1A1 and P1A2, are associated with a leucine33/proline 33 amino acid polymorphism in membrane glycoprotein IIIa, and are distinguishable by DNA typing. *J Clin Invest* 1989;83:1778-81.
16. Kunichi T, Newman JP. The Biochemistry of platelet-specific antigens. En: Hassig A, editor. *Current Studies in Hematology and Blood Transfusion*. Basel: S Kaarger; 1986. p. 18-32.
17. Weiss EJ, Bray PF, Tayback M, Schulma SP, Kickler TS, Becker LC, et al. A polymorphism of platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *N Engl J Med* 1996;334:1090-4.
18. Kastrati A, Schomig A, Seyfarth M, Koch W, Elezi S, Bottiger C; et al. P1A Polymorphism of Platelet Glycoprotein IIIa and risk of Restenosis After Coronary Stent Placement. *Circulation* 1999;99:1005-10.
19. Grinfeld DD, Sarmiento R, Dizeo C, Cherro A, Scaglia J, Carta F y col. Estudio del polimorfismo leu33/pro33 del receptor glicoproteico plaquetario IIIa (PIA) y su relación con la reestenosis posangioplastia con stent en una población argentina. *Rev Argent Cardiol* 2003;71:425-9.
20. Walter DH, Schächinger V, Mathias Elsner M, Dimmeler S, Zeiher AM. Platelet glycoprotein IIIa polymorphisms and risk of coronary stent thrombosis. *Lancet* 1997;350:1217-9.
21. Michelson AD, Furman MI, Goldschmidt-Clermont P, Mascelli MA, Hendrix C, Coleman L, et al. Platelet GP IIIa P1(A) polymorphisms display different sensitivities to agonists. *Circulation* 2000;101:1013-8.
22. Andrioli G, Minuz P, Solero P, Pincelli S, Ortolani R, Lussignoli S, et al. Defective platelet response to arachidonic acid and thromboxane A(2) in subjects with P1(A2) polymorphism of beta (3) subunit (glycoprotein IIIa). *Br J Haematol* 2000;110:911-8.
23. Feng D, Lindpaintner K, Larson G, O'Donnell C, Lipinska I, et al. Platelet glycoprotein IIIa P1A polymorphism, fibrinogen, and platelet aggregability. The Framingham Heart Study. *Circulation* 2001;104:14.
24. Undas A, Brummel K, Musial J, Mann KG, Szczeklik A. P1(A2) polymorphism of beta(3) integrins is associated with enhanced thrombin generation and impaired antithrombotic action of aspirin at the site of microvascular injury. *Circulation* 2001;104:2666-72.
25. Sajid M, Vijayan KV, Souza S, Bray PF. P1A polymorphism of integrin beta 3 differentially modulates cellular migration on extracellular matrix proteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1984-9.
26. Hingorani AD. Polymorphisms in endothelial nitric oxide synthase and atherogenesis: John French Lecture 2000. *Atherosclerosis* 2001;154:521-7.
27. Colombo MG, Paradossi U, Andreassi MG, Botto N, Manfredi S, Masetti S, et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms and Risk of Coronary Artery Disease. *Clin Chem* 2003;49:389-95.
28. Chang K, Baek SH, Seung KB, Kim PJ, Ihm SH, Chae JS, et al. The Glu298Asp polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene is strongly associated with coronary spasm. *Coron Artery Dis* 2003;14:293-9.
29. Gomma AH, Elrayess MA, Knight CJ, Hawe E, Fox KM, Humphries SE. The endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp and -786T>C) gene polymorphisms are associated with coronary in-stent restenosis. *Eur Heart J* 2002;23:1955-62.
30. Suzuki T, Okumura K, Sone T, Kosokabe T, Tsuboi H, Kondo J, et al. The Glu298Asp polymorphism in endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary in-stent restenosis. *Int J Cardiol* 2002;86:71-6.
31. Laule M, Cascorbi I, Stangl V, Bielecke C, Wernecke KD, Mrozkiewicz PM, et al. A1/A2 polymorphism of glycoprotein IIIa and association with excess procedural risk for coronary catheter interventions: a case-controlled study. *Lancet* 1999;353:708-12.

Declaración de conflictos de intereses

Los autores declaran que no poseen conflictos de intereses sobre este trabajo.