

Presencia de angiogénesis en placas vulnerables ateroscleróticas en corazones humanos aparentemente sanos

Angiogenesis in Vulnerable Atherosclerotic Plaques in Apparently Healthy Human Hearts

ERNESTO A. DURONTO^{MTSAC, 1}, CARLOS VIGLIANO², PATRICIA CABEZA MECKERT², ALEJANDRO BERLOTTI³, RUBÉN LAGUENS², ENRIQUE GURFINKEL^{1,4}

Recibido: 16/02/2011
Aceptado: 31/10/2011

Dirección para separatas:
Dr. Ernesto A. Duronto
Hospital Universitario, Fundación Favaloro
Av. Belgrano 1746
(1093) CABA, Argentina
Tel. (011) 4378-1293
Fax (011) 4378-3181
e-mail: eduronto@ffavaloro.org

RESUMEN

Introducción

La angiogénesis o neovascularización involucra la formación de nuevos conductos en las adyacencias de vasos preexistentes. Esta proliferación vascular es frecuente en varias circunstancias clínicas, como es el caso de la aterosclerosis. Los microvasos de las placas ateroscleróticas coronarias pueden estar vinculados a la inestabilidad de la lesión.

Objetivo

Correlacionar la presencia de angiogénesis en placas ateroscleróticas con los criterios de vulnerabilidad de la clasificación de la American Heart Association (AHA).

Material y métodos

En 121 corazones de donantes no diabéticos aparentemente sanos y mayores de 40 años destinados para homoinjertos se examinaron las arterias coronarias y todas las áreas de estrechamiento luminal se sometieron a estudios histológicos, inmunohistoquímicos y morfométricos. Para el análisis de la angiogénesis se empleó un puntaje semicuantitativo (escala 0-3). Se realizó un análisis de regresión logística univariado y multivariado para identificar factores de riesgo relacionados con la angiogénesis.

Resultados

Se hallaron 143 lesiones de riesgo alto (AHA tipos IV, V y VI) en las arterias descendente anterior (46,3%), circunfleja (28,9%) y coronaria derecha (43%). La angiogénesis se asoció en forma estadísticamente significativa con el grado de oclusión vascular, la infiltración de células inflamatorias, la presencia de centro lipídico, la fibrosis, la periarteritis y, sólo en la descendente anterior, con el antecedente de hipertensión arterial ($p < 0,006$). Se detectó angiogénesis en 1 placa tipo II, en 5 tipo III, en 21 tipo IV, en 22 tipo V y en 7 placas tipo VI (AHA).

Conclusiones

La angiogénesis de placas vulnerables se asoció con el grado de oclusión vascular, la infiltración de células inflamatorias, la fibrosis, la presencia de núcleo lipídico y, sólo en la descendente anterior, con el antecedente de hipertensión arterial. No se encontró asociación con la hemorragia intraplaca o la calcificación, lo cual sugiere que la angiogénesis puede anticipar la rotura de las placas.

REV ARGENT CARDIOL 2012;80:210-216.

Palabras clave >

Angiogénesis patológica - Aorta - Placa aterosclerótica - Corazón

Abreviaturas >

AHA	American Heart Association	HTA	Hipertensión arterial
CD	Arteria coronaria derecha	INCUCAI	Instituto Nacional Central Único Coordinador de Ablación e Implante
Cx	Arteria circunfleja	VEGF	Factor de crecimiento del endotelio vascular
DA	Arteria descendente anterior		
HIF	Factor inducible por hipoxia		

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

¹ Jefe de la Unidad Coronaria de la Fundación Favaloro

² Departamento de Patología de la Fundación Favaloro

³ Banco de Homoinjerto y Tejidos de la Fundación Favaloro

⁴ Director del Departamento de Medicina Cardiovascular de la Fundación Favaloro y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas - CONICET

† Fallecido.

INTRODUCCIÓN

Durante el desarrollo embriogénico de los seres humanos, los vasos sanguíneos se desarrollan a partir de un proceso conocido como vasculogénesis, que constituye una red vascular primitiva originada por precursores de células endoteliales llamados angioblastos y en algunas circunstancias por precursores hematopoyéticos asociados con los anteriores y denominados hemangioblastos.

En la vida extrauterina, la formación de nuevos vasos es un proceso que se conoce como angiogénesis o neovascularización. Este fenómeno involucra la formación de nuevos conductos en las adyacencias de vasos preexistentes y, en algunas circunstancias, la participación de células progenitoras endoteliales circulantes.

Esta proliferación vascular es frecuente en varias circunstancias clínicas, como los procesos oncológicos (1) y la aterosclerosis. (2)

En estudios previos efectuados en autopsias de sujetos fallecidos por accidentes cardiovasculares coronarios se evidenció la existencia de neovasos en las capas íntima, media y adventicia, lo que sugiere incluso que los *vasa vasorum* de esta última participan en el proceso evolutivo de la enfermedad. (3, 4)

La posibilidad de que este fenómeno angiogénico sea causa o consecuencia de la progresión de las placas hacia formas más maduras, capaces de inducir accidentes coronarios como infarto o muerte súbita, continúa siendo un interrogante cuya respuesta es incierta. (5, 6)

En el presente trabajo se investigó la existencia de neovasos en placas ateroscleróticas coronarias no complicadas por accidentes trombóticos previos, obtenidas de corazones de sujetos donantes provistos por el Instituto Nacional Central Único Coordinador de Ablación e Implante (INCUCAI) de mediana edad y aparentemente sanos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Selección de pacientes

Desde enero de 1996 a diciembre de 2007, el INCUCAI proveyó a la Fundación Favaloro un total de 652 corazones.

De ellos se seleccionaron para esta investigación 121 corazones provenientes de individuos que sufrieron muerte cerebral como consecuencia de un accidente vascular o un traumatismo craneal. Se trataba de corazones batientes que, al no poder utilizarse para trasplante cardíaco por alguna condición vital inapropiada, se emplearon para la provisión de válvulas o de homoinjertos.

Los criterios de exclusión para el presente estudio fueron: a) corazones apropiados para su utilización en trasplante cardíaco o cardiopulmonar, b) edad menor de 40 años, c) historia de enfermedad arteriosclerótica sintomática, d) infarto de miocardio u otras cardiopatías halladas durante el estudio anatomopatológico del corazón, e) cualquier enfermedad crónica del donante, f) cualquier enfermedad infecciosa aguda o crónica del donante, g) historia de diabetes tipos 1 o 2 (condición inaceptable para donación de acuerdo con las leyes locales).

Preparación del tejido

Se determinó el peso del corazón y se midieron los espesores del *septum* interventricular, de las paredes anterior, lateral y posterior del ventrículo izquierdo y de la pared libre del ventrículo derecho. Luego de la fijación en solución de formaldehído al 4%, se disecaron las tres arterias coronarias y se seccionaron en intervalos de 3 mm. Todas las áreas que contenían algún grado de estrechamiento luminal se procesaron para estudio histológico.

Los bloques de tejido se incluyeron en parafina y se cortaron en secciones de 5 μ m de espesor, que se colorearon con hematoxilina y eosina, tricrómico de Masson, pentacrómico de Movat y Perls (para depósitos de hierro). El porcentaje de obstrucción vascular se estimó de acuerdo con una fórmula previa. (7)

El grosor máximo de la capa fibrosa y el contenido de macrófagos se determinaron por análisis morfométrico con *software* comercial (Image-Pro Plus 4.5 for Windows®, Media Cybernetics, Silver Spring, MD).

Estudios inmunohistoquímicos

Las secciones de tejido fueron rehidratadas e incubadas con anticuerpos monoclonales contra macrófagos (CD68, Dako®, Carpintería, California, USA), actina de músculo liso (Biogenex®, San Ramon, CA, USA) y anticélulas endoteliales (CD-34 (Biogenex®, San Ramon, CA, USA) o antifactor von Willebrand (Dako). El sistema de detección secundario consistió en un *kit* comercial (Biogenex®, San Ramon, CA, USA) con IgG anti-ratón biotinilizado, con estreptavidina ligada a peroxidasa y EAC como cromógeno.

Morfometría

El recuento de microvasos se realizó en la totalidad de cada placa. Cada microvaso se definió como una luz rodeada por un anillo de células endoteliales resaltadas por inmunotinción con anticuerpos anti-CD34 o antifactor von Willebrand.

La extensión de la angiogénesis se graduó de acuerdo con una escala semicuantitativa de 0 a 3. (8) Los cambios histopatológicos, como infiltración de células inflamatorias, presencia de núcleo lipídico, fibrosis, calcificación, hemorragia y periarteritis, se examinaron en cortes histológicos teñidos con hematoxilina eosina y se cuantificaron principalmente de acuerdo con el área afectada; se graduaron como ausencia (0), leve (1), moderado (2) o intenso (3) de acuerdo con los métodos de Cliff y Kumamoto. (9, 10)

Clasificación de las lesiones

Para el presente estudio, la vulnerabilidad de las placas se definió según la clasificación de Stary y colaboradores, (11) correspondiente a la American Heart Association (AHA): tipos IV; V y subtipos Va, Vb y Vc; tipo VI y subtipos VIa, VIb y VIc.

Dos patólogos independientes, ciegos a las características clínicas del dador (C.V. y R.L.), realizaron el examen histológico. El porcentaje de estrechez luminal juzgado por ambos patólogos fue comparado luego con la siguiente fórmula: $(1 - \text{área luminal} / \text{área de la lámina elástica interna}) \times 100$. (7)

Se analizó la presencia de angiogénesis en cada vaso coronario y se relacionó con los datos demográficos, la causa de muerte, el diagnóstico de hipertensión arterial (HTA), la presencia de placas avanzadas según la clasificación de la AHA (11) y con las características histológicas de las placas.

Análisis estadístico

Las variables continuas se expresan como medias (desviaciones estándar) o medianas (rango intercuartil 25-75%) y las

variables categóricas como porcentajes. Las diferencias entre las variables continuas se analizaron con la prueba de la *t* de Student o la prueba de Mann-Whitney según fueran aplicables para cada caso. La prueba de chi cuadrado o la exacta de Fisher se utilizaron para comparar variables categóricas. Para el análisis estadístico, la determinación de angiogénesis en las placas se estableció por partición dicotómica en ausente (0) o presente (1). Se realizó un análisis de regresión logística para identificar factores de riesgo relacionados con la angiogénesis. Las diferencias entre las variables medidas se consideraron significativas si el valor de *p* resultante era menor de 0,05.

Se empleó el *software* estadístico SPSS®12.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois) para todos los análisis realizados.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se detallan la edad, el sexo, el antecedente de HTA, la causa de muerte de la población estudiada y las variables anatomopatológicas en relación con la presencia o la ausencia de angiogénesis.

La presencia de angiogénesis en al menos uno de los tres vasos se asoció con el sexo masculino, el grado de oclusión vascular, el peso del corazón y los espesores parietales sin vinculación con la edad ni con la causa de muerte.

De los 121 casos, 44 eran hipertensos conocidos y en 77 se desconocía ese antecedente.

La HTA fue significativamente más prevalente en el sexo masculino y tanto el peso del corazón como

los espesores del *septum* y de las paredes anterior, lateral y posterior del ventrículo izquierdo fueron significativamente mayores en sujetos con HTA ($p < 0,001$).

En el análisis no ajustado, la presencia de angiogénesis en vasos coronarios fue mayor en los sujetos con HTA conocida, aunque este hallazgo fue significativo sólo en la arteria descendente anterior (DA) ($p = 0,006$), no así en la coronaria derecha (CD) y ni en la circunfleja (Cx) ($p = 0,760$ y $0,460$, respectivamente).

En los 121 corazones estudiados (Tabla 2) se encontraron 363 placas. Ciento cuarenta y tres de ellas correspondieron a lesiones consideradas como avanzadas (AHA tipos IV, V y VI), de las cuales 56 (46,3%) se ubicaron en la DA, 35 (28,9%) en la Cx y 52 (43%) en la CD.

Se halló que 50 de 143 lesiones avanzadas (34,9%) presentaban angiogénesis en comparación con 6 de 220 lesiones no avanzadas (2,7%) ($p < 0,001$).

En 82 casos no se evidenció angiogénesis en ninguno de los tres vasos analizados. En 26 corazones se observó angiogénesis en al menos uno de los tres vasos epicárdicos; en 9 órganos en dos vasos y en 4 corazones la angiogénesis se detectó en las tres arterias estudiadas.

En la Figura 1 se muestran imágenes representativas de placas tipos II y III de la AHA (11) con ausencia y presencia de neovascularización en la íntima (Figura 1 A y B, respectivamente).

	Total	Angiogénesis		Valor <i>p</i>
		Sí	No	
	n = 121	n = 39	n = 82	
Edad media, años ± DE	50,9 ± 5,7	51,0 ± 5,8	50,8 ± 5,8	0,835
Masculino, n (%)	72	31 (79,5)	41 (50,0)	0,002
Hipertensión arterial, n (%)	44	19 (48,7)	25 (30,5)	0,05
Causa de muerte				0,06
Traumatismo craneal, n (%)	16	5 (12,8)	11 (13,4)	
ACV isquémico, n (%)	24	3 (7,7)	21 (25,6)	
ACV hemorrágico, n (%)	81	31 (79,5)	50 (61,0)	
DA obstrucción luminal, % mediana (percentiles 25-75)	25 (17,5-50)	50 (30-60)	25 (15-37,5)	< 0,001
Cx obstrucción luminal, % mediana (percentiles 25-75)	25 (15-30)	40 (27,5-60)	25 (10-30)	0,002
CD obstrucción luminal, % mediana (percentiles 25-75)	25 (20-45)	40 (25-50)	25 (20-35)	0,006
Peso del corazón, g ± DE	328,8 ± 89,2	369,2 ± 98,6	310,1 ± 78,2	0,001
VD, mm ± DE	4,2 ± 0,9	4,4 ± 1,0	4,1 ± 0,9	0,140
SIV, mm ± DE	16,4 ± 3,1	17,2 ± 2,8	16,0 ± 3,2	0,059
Pared anterior VI, mm ± DE	13,9 ± 2,7	14,9 ± 2,8	13,5 ± 2,6	0,007
Pared lateral VI, mm ± DE	14,1 ± 2,7	15,1 ± 2,9	13,6 ± 2,5	0,006
Pared posterior VI, mm ± DE	15,1 ± 2,8	15,8 ± 2,7	14,7 ± 2,8	0,033

Tabla 1. Angiogénesis según datos demográficos y características anatomopatológicas de 121 corazones

n: Cantidad de pacientes. mm: Milímetros. g: Gramos. DE: Desviación estándar. ACV: Accidente cerebrovascular. DA: Descendente anterior. Cx: Circunfleja. CD: Coronaria derecha. VD: Ventrículo derecho. VI: Ventrículo izquierdo. SIV: Septum interventricular.

Tabla 2. Placas ateroscleróticas de acuerdo con la clasificación AHA y presencia de angiogénesis

Placas ateroscleróticas AHA*	DA			Cx			CD		
	Total	Angiogénesis		Total	Angiogénesis		Total	Angiogénesis	
		n (%)	Si n (%)		No n (%)	n (%)		Si n (%)	No n (%)
Tipo I	16 (13,2)	0	16	25 (20,7)	0	25	11 (9,1)	0	11
Tipo II	39 (32,2)	0	39	55 (45,5)	1	54	46 (38,0)	0	46
Tipo III	10 (8,3)	4	6	6 (5,0)	0	6	12 (9,9)	1	11
Tipo IV [†]	23 (19,0)	11	12	24 (19,8)	4	20	17 (14,0)	6	11
Tipo V [†]	28 (23,1)	9	19	10 (8,3)	2	8	24 (19,8)	11	13
Tipo VI [†]	5 (4,1)	1	4	1 (0,8)	1	0	11 (9,1)	5	6
Total	121	25/121 (20,7)	96/121 (79,3)	121	8/121 (6,6)	113/121 (93,4)	121	23/121 (19,0)	98/121 (81,0)
Total placas avanzadas AHA [†]	56 (46,3)	21/56 (37,5)	35/56 (62,5)	35 (29,0)	7/35 (20,0)	28/35 (80,0)	52 (43,0)	22/52 (42,1)	30/52 (57,7)

*Clasificación de la American Heart Association. (11) [†] Correspondientes a tipos IV, V y VI de la clasificación de la American Heart Association, DA: Descendente anterior. Cx: Circunfleja. CD: Coronaria derecha.

En los paneles C y D de la misma figura se observan placas avanzadas con neovascularización en el espesor de la lesión aterosclerótica.

En los paneles E y F puede verse la presencia de angiogénesis en sectores con infiltrado inflamatorio moderado en el interior de la placa y la región periadventicial, respectivamente.

Finalmente, en los paneles G y H se muestra la neovascularización en placas fibrocalcificadas (tipo Vb) y en relación con un área de hemorragia previa en una placa complicada tipo VI de la AHA. (11)

El análisis de la presencia de angiogénesis en cada vaso en particular y su asociación con las variables demográficas, causa de muerte y las características anatomopatológicas se detallan en la Tabla 3.

En la Figura 2 A, en las ordenadas se aprecia el promedio del puntaje semicuantitativo aplicado para todas las características histológicas de las placas en relación con el tipo de lesiones según la AHA. (11) Puede verse cómo la fibrosis, la hiperplasia miofibroblástica, el contenido lipídico y la inflamación preceden a la aparición de la angiogénesis, mientras que la calcificación y la hemorragia son fenómenos vinculados mayormente con las placas complicadas tipos V y VI de la AHA. (11)

En el análisis multivariado mediante regresión logística en el total de las placas, sólo la fibrosis y la inflamación se asociaron con la existencia de angiogénesis (Figura 2 B). No se realizó este tipo de análisis para cada vaso en particular.

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio muestran que, en una proporción significativa de las placas de las arterias coronarias de individuos aparentemente sanos, y sin evidencia de enfermedad cardíaca, se observaron signos de inflamación en actividad y de angiogénesis. Estas alteraciones se hallaron casi exclusivamente en las placas consideradas vulnerables de la clasificación universalmente aceptada sobre tipos de lesiones ateroscleróticas. (12) Nuestras observaciones confirman estudios previos realizados en corazones de sujetos con enfermedad coronaria o carotídea avanzada que describen las placas ateroscleróticas invadidas por infiltrado inflamatorio. (13-15)

Nuestros hallazgos sugieren que la inflamación precede a la angiogénesis, dado que la infiltración con macrófagos y linfocitos comienza a observarse con frecuencia en las placas tipo III, en tanto que la formación de neovasos recién se manifiesta en mayor proporción a partir de las de tipo IV. Es de interés señalar que tanto la inflamación como la angiogénesis hacen su aparición en los sectores más internos de la íntima, adyacentes a la lámina elástica interna, y que los vasos neoformados provienen de los *vasa vasorum* o de la adventicia.

Sin embargo, también se puede especular que la angiogénesis y la inflamación iniciales son fenómenos dependientes de la aparición y el crecimiento de la placa aterosclerótica. Al crecer la distancia entre el endotelio y el límite de la íntima con la media, el sector

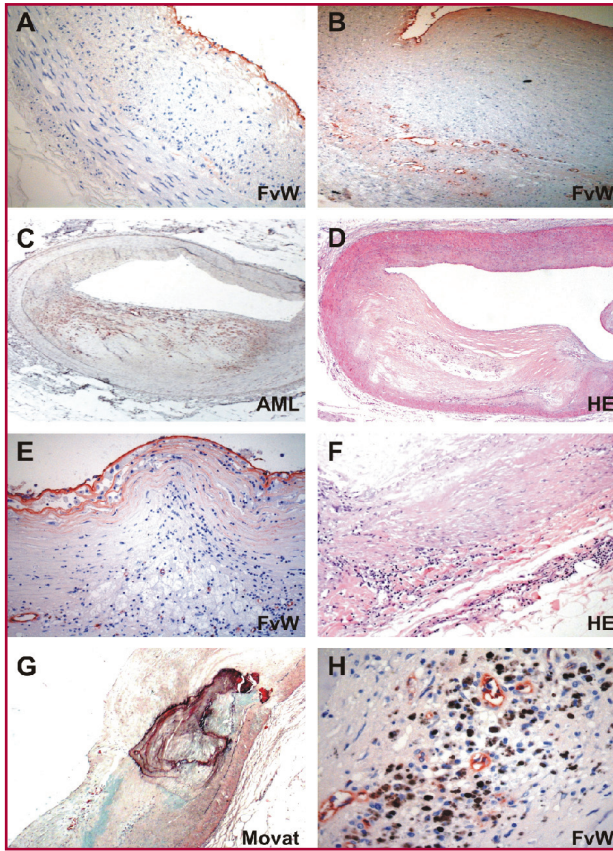


Fig. 1. A. Mujer de 48 años fallecida por un accidente cerebrovascular hemorrágico. Arteria coronaria derecha. Se observan hiperplasia miofibroblástica, fibrosis intimal y depósitos focales de lípidos superficiales [placa tipo II de la AHA (11)]. Esta sección se incubó con anticuerpos monoclonales anti-FvW (factor de von Willebrand), sin observarse angiogénesis. Aumento original X200. **B.** Varón de 55 años fallecido por un accidente cerebrovascular hemorrágico. Arteria descendente anterior. Hiperplasia miofibroblástica, fibrosis intimal y depósitos focales de lípidos [placa tipo III de la AHA (11)]. Se observa angiogénesis a nivel de la profundidad de la neoíntima, en adyacencia a la túnica media. Esta sección se incubó con anticuerpos monoclonales anti-FvW (factor de von Willebrand). Aumento original X100. **C.** Varón de 51 años, fallecido por traumatismo encefalocraneano. Arteria circunfleja con ateroma tipo IV de la AHA (11). Presencia de vascularización a nivel intimal. Esta sección se incubó con anticuerpos monoclonales antiactina de músculo liso (AML). Aumento original X25. **D.** Varón de 68 años fallecido por un accidente cerebrovascular isquémico. Arteria circunfleja. Presencia de placa excéntrica fibrolipídica [tipo V de la AHA (11)] con angiogénesis a nivel de la íntima superficial, en la parte media del espesor de la placa y periadventicial. Hematoxilina-eosina (HE). Aumento original X25. **E.** Mujer de 47 años fallecida por un accidente cerebrovascular isquémico. Arteria descendente anterior. Se observa sección de placa aterosclerótica con cúmulos de macrófagos espumosos, infiltrado inflamatorio linfocitario y neovascularización. Esta sección se incubó con anticuerpos monoclonales anti-FvW (factor de von Willebrand). Aumento original X200. **F.** Sección de sector subadventicial de arteria descendente anterior, correspondiente a la misma paciente de E. Se observan leve infiltrado inflamatorio periadventicial y secciones consecutivas de un vaso que penetra desde la adventicia. Este corte histológico se incubó con anticuerpos monoclonales anti-CD34. Aumento original X200. **G.** Varón de 60 años fallecido por un traumatismo encefalocraneano. Arteria descendente anterior. Presencia de placa fibrocalcificada [tipo Vb de la AHA (11)] con angiogénesis a nivel superficial. Tinción de Movat. Aumento original X25. **H.** Varón de 44 años fallecido por un accidente cerebrovascular hemorrágico. Arteria coronaria derecha. En una sección incubada con anticuerpos monoclonales anti-FvW (factor de von Willebrand) se observan vascularización y numerosos macrófagos con hemosiderina. Aumento original X400.

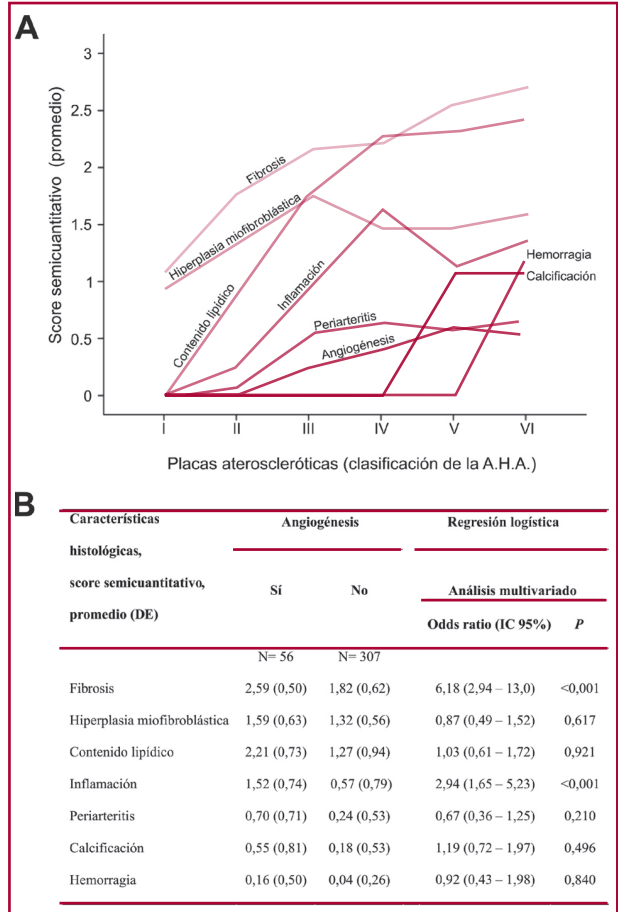


Fig. 2. Angiogénesis según características histológicas de las placas ateroscleróticas. **A.** Características histológicas de 363 placas ateroscleróticas, determinadas mediante un puntaje semicuantitativo (0 a 3), de acuerdo con la clasificación de la American Heart Association. (11) **B.** Análisis multivariado mediante regresión logística de la presencia de angiogénesis en 363 placas ateroscleróticas, de acuerdo con las características histológicas.

de la pared arterial que es oxigenado a partir de la luz vascular entraría en hipoxia. Dado que es sabido que la hipoxia es inductora de angiogénesis a través de la activación del factor inducible por hipoxia (HIF) y formación de factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), la neoformación de vasos a partir de la media y la adventicia (4, 16-18) proveería el oxígeno deficiente de esa zona.

Por otra parte, ese insuficiente aporte de oxígeno podría ocasionar la aparición de un proceso inflamatorio y de fibrosis. Ello contribuiría a la reducción luminal del vaso y además, a medida que ésta progresa, al adelgazamiento de la capa fibrosa, lo que hace que la placa sea más vulnerable. (19)

De un total de 363 placas investigadas en el presente estudio, el 15% presentaban angiogénesis, principalmente las lesiones tipos IV, V y VI, marcando así la división de la tradicional clasificación de Stary y colaboradores (11) en dos grandes grupos: las iniciales e inmaduras, conocidas también como lesiones en “xantoma” por Virmani y colaboradores, (20) que

Tabla 3. Angiogénesis según vaso arterial y de acuerdo con datos demográficos y características anatomopatológicas de 121 corazones

Variables	DA		Cx		CD	
	Análisis univariado (regresión logística)					
	Odds ratio (IC 95%)	P	Odds ratio (IC 95%)	P	Odds ratio (IC 95%)	P
Edad	1,02 (0,94-1,10)	0,619	0,97 (0,85-1,10)	0,648	1,01 (0,93-1,09)	0,762
Sexo masculino	6,75 (1,89-24,05)	0,003	1,02 (1,01-1,03)	0,021	2,21 (0,80-6,10)	0,124
Hipertensión arterial	3,47 (1,39-8,62)	0,008	1,82 (0,43-7,69)	0,412	1,16 (0,45-2,94)	0,759
Causa de muerte*	1,06 (0,5-1,97)	0,858	1,22 (0,41-3,61)	0,721	1,35 (0,67-2,72)	0,396
Peso del corazón	1,01 (1,00-1,01)	0,001	1,00 (1,00-1,01)	0,163	1,03 (1,01-1,05)	0,012
Espesor VD	1,37 (0,86-2,17)	0,180	1,25 (0,63-2,51)	0,523	1,51 (0,93-2,44)	0,093
Espesor VI anterior	1,30 (1,09-1,55)	0,004	1,12 (0,87-1,45)	0,385	1,13 (0,96-1,34)	0,142
Espesor VI lateral	1,32 (1,10-1,57)	0,003	1,09 (0,85-1,40)	0,494	1,08 (0,92-1,28)	0,336
Espesor VI posterior	1,30 (1,09-1,55)	0,003	1,06 (0,82-1,37)	0,648	1,06 (0,90-1,25)	0,481
Espesor SIV	1,11 (0,96-1,28)	0,155	1,04 (0,83-1,30)	0,745	1,04 (0,90-1,21)	0,567
Oclusión	1,03 (1,01-1,05)	0,002	1,06 (1,02-1,11)	0,001	1,03 (1,01-1,05)	0,012
Clasificación AHA	1,96 (1,37-2,80)	< 0,001	2,48 (1,34-4,58)	0,004	3,09 (1,92-4,97)	< 0,001
Fibrosis intimal	6,95 (2,90-16,67)	< 0,001	9,75 (2,44-39,02)	0,001	8,77 (3,37-23,36)	< 0,001
Hiperplasia miofibroblástica	3,79 (1,69-8,46)	0,001	5,86 (1,48-23,23)	0,012	9,74 (0,34-1,62)	0,452
Contenido lipídico	2,36 (1,14-3,94)	0,001	2,95 (1,34-6,46)	0,007	3,96 (2,03-7,76)	< 0,001
Inflamación	2,73 (1,60-4,68)	< 0,001	5,17 (1,93-13,83)	0,001	3,91 (2,08-7,37)	< 0,001
Periarteritis	2,40 (1,22-4,74)	0,011	2,56 (1,00-6,53)	0,049	3,24 (1,60-6,54)	0,001
Calcificación	1,48 (0,81-2,70)	0,202	1,57 (0,51-4,87)	0,434	3,15 (1,65-6,03)	0,001
Hemorragia	1,99 (0,42-9,39)	0,383	0,002 (0,00-1,00)	1,000	3,00 (1,17-7,69)	0,022

IC 95%: Intervalo de confianza del 95%. * Agrupada en traumatismo encefalocraneano, accidente cerebrovascular isquémico y accidente cerebrovascular hemorrágico. DA: Descendente anterior. Cx: Circunfleja. CD: Coronaria derecha. VD: Ventrículo derecho. VI: Ventrículo izquierdo. SIV: Septum interventricular. Clasificación American Heart Association. (11)

probablemente representen una evolución biológica natural de atesoramiento de grasa en los vasos, (21) y el conjunto de placas de mayor tamaño que, asociado con la inflamación, requieren una oxigenación intensa para la supervivencia de sus componentes, por lo que terminan promoviendo una eventual inestabilidad clínica.

La presencia de hierro en placas avanzadas, un indicador indirecto de una complicación hemorrágica de la lesión, (22, 23) fue poco frecuente en nuestro material.

El componente cálcico es un elemento de la placa relacionado con la necrosis celular y señala el estado avanzado de las lesiones. (24, 25) La ausencia de una relación clara entre la angiogénesis y el calcio en la presente investigación puede significar que la presencia de este último "oculta" la existencia de neovasos que con las técnicas habituales pueden no ser identificados.

Adicionalmente, encontramos vasos provenientes aparentemente de la luz vascular, aunque este hallazgo fue observado únicamente en las placas avanzadas (V y VI).

La sucesión de estos procesos que contribuyen al progreso de la placa aterosclerótica fueron investigados originalmente en modelos en animales, como el realizado en ratones hipercolesterolémicos deficientes en apoproteína E, el cual sugirió un proceso evolutivo similar al que se describe en el presente estudio. (26)

En nuestro trabajo, la presencia de mayor angiogénesis sólo en la DA en pacientes hipertensos podría explicarse por la mayor remodelación que sufre esta arteria en forma secundaria al aumento de la masa cardíaca.

Limitaciones

Dentro de la serie de técnicas de laboratorio practicadas, no efectuamos la identificación del VEGF. (8) Este elemento podría haber sugerido la existencia de neovasos propios de la placa e independientes de los vasos provenientes mayormente desde la adventicia. De todos modos, los estudios previamente conducidos en esta área sugieren que el hallazgo de VEGF es más un producto de la propia inflamación que tiene lugar en la placa que un indicador de vasos formados recientemente. (2)

CONCLUSIONES

La angiogénesis estuvo asociada en forma estadísticamente significativa con el grado de oclusión vascular, la infiltración de células inflamatorias, el núcleo lipídico y, sólo en la DA, al antecedente de HTA. A diferencia de registros anteriores, no encontramos una sólida asociación con la

hemorragia de placas o la calcificación, lo cual sugiere que este fenómeno podría anticipar la rotura de las placas.

ABSTRACT

Angiogenesis in Vulnerable Atherosclerotic Plaques in Apparently Healthy Human Hearts

Background

Angiogenesis or neovascularization involves the formation of new blood vessels adjacent to preexisting vessels. This vascular proliferation is prevalent in various clinical conditions, such as atherosclerosis. Microvessels in coronary artery atherosclerotic plaques may contribute to plaque instability.

Objectives

The aim of this study was to correlate the presence of angiogenesis in atherosclerotic plaques with the criteria of plaque vulnerability used by the American Heart Association (AHA).

Methods

One hundred and twenty one hearts from non-diabetic and apparently healthy transplant donors older than 40 years were selected. The coronary arteries were examined and all areas of cross-sectional luminal narrowing underwent histological, immunohistochemical and morphometric studies. A semi-quantitative score (scale 0-3) was used to identify of angiogenesis. Univariate and multivariate logistic regression analysis was performed to identify angiogenesis-related risk factors.

Results

On hundred and forty three high-risk lesions (AHA type IV, V and VI) in the left anterior descending coronary artery (46.3%), the circumflex coronary artery (28.9%) and the right coronary artery (43%) were identified. Angiogenesis had a statistically significant association with the severity of vascular occlusion, inflammatory cell infiltration, presence of a lipid core, fibrosis and periarteritis. A history of hypertension (HT) was associated with angiogenesis only in lesions of the left anterior descending coronary artery (LAD). According to the AHA classification angiogenesis was detected in 1 Type II, 5 Type III, 21 Type IV, 22 Type V, and 7 Type VI plaques.

Conclusions

Angiogenesis in vulnerable plaques was associated with the severity of vascular occlusion, inflammatory cell infiltration, fibrosis and presence of a lipid core, and with a history of HT in LAD lesions. There was no association between angiogenesis and plaque hemorrhage or calcification, suggesting that angiogenesis may anticipate plaque rupture.

Key words > Angiogenesis, Pathologic - Aorta - Plaque, Atherosclerotic - Hearth

BIBLIOGRAFÍA

- Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis: correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8.
- Mulligan-Kehoe MJ. The vasa vasorum in diseased and nondiseased arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010;298:295-305.
- Barger AC, Beeuwkes R 3rd, Lainey LL, Silverman KJ. Hypothesis: vasa vasorum and neovascularization of human coronary arteries. A possible role in the pathophysiology of atherosclerosis. *N Engl J Med* 1984;310:175-7.

- Kamat BR, Galli SJ, Barger AC, Lainey LL, Silverman KJ. Neovascularization and coronary atherosclerotic plaque: cinematographic localization and quantitative histologic analysis. *Hum Pathol* 1987;18:1036-42.
- Jeziorska M, Woolley DE. Neovascularization in early atherosclerotic lesions of human carotid arteries: its potential contribution to plaque development. *Hum Pathol* 1999;30:919-25.
- Tenaglia AN, Peters KG, Sketch MH, Jr, Annex BH. Neovascularization in atherectomy specimens from patients with unstable angina: implications for pathogenesis of unstable angina. *Am Heart J* 1998;135:10-4.
- Burke AP, Kolodgie FD, Farb A, Weber DK, Malcom GT, Smialek J, et al. Healed plaque ruptures and sudden coronary death. Evidence that subclinical rupture has a role in plaque progression. *Circulation* 2001;103:934-40.
- Couffignal T, Kearney M, Witzensbichler B, Chen D, Murohara T, Losordo DW, et al. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor (VEGF/VPF) in normal and atherosclerotic human arteries. *Am J Pathol* 1997;150:1673-85.
- Cliff WJ, Heathcote CR, Moss NS, Reichenbach DD. The coronary arteries in cases of cardiac and noncardiac sudden death. *Am J Pathol* 1988;132:319-29.
- Kumamoto M, Nakashima Y, Sueishi K. Intimal neovascularization in human coronary atherosclerosis: its origin and pathophysiological significance. *Hum Pathol* 1995;26:450-6.
- Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A Report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1995;92:1355-74.
- Burke AP, Kolodgie FD, Farb A, Weber DK, Malcom GT, Smialek J, et al. Healed plaque ruptures and sudden coronary death. Evidence that subclinical rupture has a role in plaque progression. *Circulation* 2001;103:934-40.
- Libby P, Ridker PM, Hansson GK, Leducq Transatlantic Network on Atherothrombosis. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:2129-38.
- Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005;352:1685-95.
- Burke AP, Virmani R, Galis Z, Haudenschild CC, Muller JE. 34th Bethesda Conference: Taks Force 2. What is the Pathologic Basis for New Atherosclerosis Imaging Techniques? *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1874-86.
- Ribatti D, Levi-Schaffer F, Kovanen PT. Inflammatory angiogenesis in atherosclerosis- a double-edged sword. *Ann Med* 2008;40:606-21.
- Sluimer JC, Daemen MJ. Novel concepts in atherosclerosis: angiogenesis and hypoxia in atherosclerosis. *J Pathol* 2009;218:7-29.
- Depre C, Havaux X, Wijns W. Neovascularization in human coronary atherosclerotic lesions. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1996;39:215-20.
- Virmani R, Burke AP, Farb A, Kolodgie FD. Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:13-8.
- Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, Fowler DR, Kruth HS, Deena K, et al. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. *N Engl J Med* 2003;349:2316-25.
- Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Finn AV, Gold HK, Tulenko TN, et al. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:2054-61.
- Gössl M, Versari D, Hildebrandt HA, Bajanowski T, Sangiorgi G, Erbel R, et al. Segmental heterogeneity of vasa vasorum neovascularization in human coronary atherosclerosis. *JACC Cardiovasc Imaging* 2010;3:32-40.
- Virmani R, Burke AP, Willerson JT, Kolodgie FD. Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:13-8.
- Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1262-75.
- Zhang Y, Cliff WJ, Schoefl GI, Higgins G. Immunohistochemical study of intimal microvessels in coronary atherosclerosis. *Am J Pathol* 1993;143:164-72.
- Moulton KS, Heller E, Konerding MA, Flynn E, Palinski W, Folkman J. Angiogenesis inhibitors endostatin or TNP-470 reduce intimal neovascularization and plaque growth in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 1999;99:1726-32.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran que no poseen conflicto de intereses.