

## Artículo original

## Análisis inmunohistológico del aspirado intracoronario en pacientes con IAMCEST: implicaciones clínicas de los hallazgos anatomopatológicos

Ana Blasco<sup>a,\*</sup>, Carmen Bellas<sup>b</sup>, Leyre Goicolea<sup>a</sup>, Ana Muñiz<sup>a</sup>, Víctor Abaira<sup>c</sup>, Ana Royuela<sup>d</sup>, Susana Mingo<sup>a</sup>, Juan Francisco Oteo<sup>a</sup>, Arturo García-Touchard<sup>a</sup> y Francisco Javier Goicolea<sup>a</sup><sup>a</sup> Servicio de Cardiología, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Majadahonda, Madrid, España<sup>b</sup> Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Majadahonda, Madrid, España<sup>c</sup> Departamento de Estadística, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España<sup>d</sup> Departamento de Estadística, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Majadahonda, Madrid, España

## Historia del artículo:

Recibido el 6 de marzo de 2016

Aceptado el 4 de julio de 2016

On-line el 5 de agosto de 2016

## Palabras clave:

Infarto de miocardio  
Angioplastia coronaria  
Trombo  
Anatomía patológica  
Inmunohistoquímica

## RESUMEN

**Introducción y objetivos:** La tromboaspiración permite analizar el material intracoronario en pacientes con infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST. Nuestro objetivo fue caracterizar este material mediante inmunohistología y estudiar su posible relación con el pronóstico.**Métodos:** Cohorte prospectiva de 142 pacientes sometidos a angioplastia primaria con tromboaspiración positiva. El examen histológico del material aspirado incluyó técnicas de inmunohistoquímica para detectar fragmentos de placa. Se estudiaron variables histológicas (antigüedad del trombo, grado de inflamación, presencia de placa), clínicas y angiográficas de los pacientes. Se realizaron análisis de supervivencia y regresión logística.**Resultados:** De los marcadores histológicos, solo la presencia de placa (el 63% de las muestras) se relacionó con los eventos clínicos. Los factores asociados a la supervivencia libre de eventos a los 5 años fueron: presencia de placa (el 82,2 frente al 66,0%;  $p = 0,033$ ), tabaquismo (el 82,5 frente al 66,7%;  $p = 0,036$ ), arteria responsable del infarto (el 83,3% en infartos de circunfleja o coronaria derecha frente al 68,5% de descendente anterior;  $p = 0,042$ ); flujo angiográfico final (el 80,8% de II–III frente al 30,0% de 0–I;  $p < 0,001$ ) y fracción de eyección  $\geq 35\%$  (el 83,7 frente al 26,7%;  $p < 0,001$ ). En el análisis multivariable de regresión (Cox) con dichas variables, se identificaron la presencia de placa (HR = 0,37; IC95%, 0,18–0,77;  $p = 0,008$ ) y la fracción de eyección (HR = 0,92; IC95%, 0,88–0,95;  $p < 0,001$ ) como predictores independientes de supervivencia libre de eventos.**Conclusiones:** La presencia de placa de ateroma en el aspirado coronario de los pacientes con infarto de miocardio transmural puede ser un marcador pronóstico independiente, y el análisis inmunohistoquímico con CD68 es un buen método para detectarlo.

© 2016 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

## Immunohistological Analysis of Intracoronary Thrombus Aspirate in STEMI Patients: Clinical Implications of Pathological Findings

## ABSTRACT

**Introduction and objectives:** Thrombus aspiration allows analysis of intracoronary material in patients with ST–segment elevation myocardial infarction. Our objective was to characterize this material by immunohistology and to study its possible association with patient progress.**Methods:** This study analyzed a prospective cohort of 142 patients undergoing primary angioplasty with positive coronary aspiration. Histological examination of aspirated samples included immunohistochemistry stains for the detection of plaque fragments. The statistical analysis comprised histological variables (thrombus age, degree of inflammation, presence of plaque), the patients' clinical and angiographic features, estimation of survival curves, and logistic regression analysis.**Results:** Among the histological markers, only the presence of plaque (63% of samples) was associated with postinfarction clinical events. Factors associated with 5-year event–free survival were the presence of plaque in the aspirate (82.2% vs 66.0%;  $P = .033$ ), smoking (82.5% smokers vs 66.7% nonsmokers;  $P = .036$ ), culprit coronary artery (83.3% circumflex or right coronary artery vs 68.5% anterior descending artery;  $P = .042$ ), final angiographic flow (80.8% II–III vs 30.0% 0–I;  $P < .001$ ) and left ventricular ejection fraction  $\geq 35\%$  at discharge (83.7% vs 26.7%;  $P < .001$ ). On multivariable Cox regression analysis with

## Keywords:

Myocardial infarction  
Coronary angioplasty  
Thrombus  
Pathology  
Immunohistochemistry\* Autor para correspondencia: Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, calle Manuel de Falla 1, 28222 Madrid, España.  
Correo electrónico: [ablasc@gmail.com](mailto:ablasc@gmail.com) (A. Blasco).

these variables, independent predictors of event-free survival were the presence of plaque (hazard ratio, 0.37; 95%CI, 0.18-0.77;  $P = .008$ ), and left ventricular ejection fraction (hazard ratio, 0.92; 95%CI, 0.88-0.95;  $P < .001$ ).

**Conclusions:** The presence of plaque in the coronary aspirate of patients with ST elevation myocardial infarction may be an independent prognostic marker. CD68 immunohistochemical stain is a good method for plaque detection.

Full English text available from: [www.revespcardiol.org/en](http://www.revespcardiol.org/en)

© 2016 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

## Abreviaturas

FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo  
IAMCEST: infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST  
ICP: intervención coronaria percutánea  
MACE: eventos adversos cardiovasculares mayores  
TIMI: *Thrombolysis in Myocardial Infarction*

## INTRODUCCIÓN

La génesis de la trombosis arterial depende de tres factores: las características de la pared arterial, las propiedades del flujo sanguíneo y ciertos factores circulantes en sangre (tríada de Virchow). En los estudios de autopsias de víctimas de muerte súbita, la trombosis asociada a la rotura de placa aparece como el mecanismo predominante que causa la aparición del síndrome coronario agudo. Este proceso patogénico puede comenzar días o semanas antes del infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST (IAMCEST) fatal<sup>1,2</sup> y las hemorragias en el interior de la placa, originadas por grietas o fisuras en la superficie de la luz arterial, pueden acelerar la progresión hacia su rotura<sup>3</sup>.

Muchas placas de ateroma rotas quedan cubiertas inicialmente por trombos murales que no causan síntomas clínicos<sup>4</sup>. Este trombo mural puede organizarse con el tiempo e incorporarse a la lesión aterosclerótica, con lo que se restaura la integridad de la pared del vaso. Este tipo de lesión «cicatrizal» se observa con mucha frecuencia en las arterias coronarias en autopsias<sup>4-6</sup>, mientras que en otros pacientes, la rotura de una placa aterosclerótica lleva a un proceso de trombosis repetida o continua, que finalmente resulta en un síndrome coronario agudo<sup>7,8</sup>.

El uso de la tromboaspiración en la intervención coronaria percutánea (ICP) primaria ofrece una oportunidad única para estudiar la composición del trombo y su formación dinámica *in vivo*<sup>9</sup>. Aunque las muestras así obtenidas no representan la totalidad de los componentes del trombo ni su distribución real, permiten estudiarlas sin los cambios histológicos que se desencadenan tras la muerte.

Varios investigadores han estudiado las características histológicas del material aspirado en pacientes con IAMCEST, analizando su composición y la edad del trombo coronario. En una alta proporción de los pacientes, el trombo tiene más de 24 h de evolución, lo que confirma que la oclusión coronaria súbita a menudo se precede de un periodo variable de inestabilidad de la placa y formación de trombos<sup>10,11</sup>.

Solo en 1 estudio<sup>12</sup> se analizó la relación entre la histología del aspirado coronario y la evolución de los pacientes con IAMCEST, y la edad del trombo resultó predictor independiente de mortalidad a largo plazo.

El objetivo del presente estudio es caracterizar mediante inmunohistología el material coronario aspirado durante la ICP primaria y analizar su valor en la predicción de los eventos clínicos en pacientes con IAMCEST.

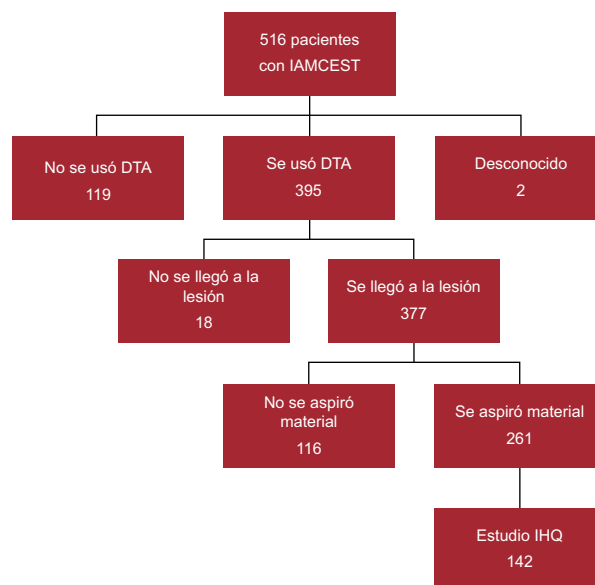
## MÉTODOS

### Sujetos de estudio

La cohorte del estudio consta de 142 pacientes con IAMCEST (figura 1) de los que se extrajo material durante la ICP primaria mediante un aspirador de trombo coronario. Las muestras se recogieron entre enero de 2005 y agosto de 2007 y durante todo el año 2009 (en 2008 se produjo el traslado del hospital a su actual ubicación y no se analizaron los trombos aspirados). La recogida de muestras se realizó consecutivamente solo en días laborables de 8.00 a 15.00 horas por razones logísticas (ausencia de personal para el envío y recogida de las muestras), por lo que, de las 261 ICP primarias en las que se aspiró material durante el periodo de estudio, se analizó un total de 142.

Las variables clínicas, angiográficas y relacionadas con el procedimiento se recogieron de forma prospectiva en una base de datos electrónica diseñada para este fin. La información recopilada incluye características epidemiológicas y antecedentes médicos de los pacientes, presencia de angina prodrómica, clase Killip, resolución del ST, parámetros analíticos, fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) al alta, tiempos relativos al procedimiento (inicio del dolor-balón, puerta-balón, etc.), información sobre la angioplastia y evolución de los pacientes.

Se revisaron todas las angiografías y se registraron, entre otros, la presencia de circulación colateral (0 a 3, según la clasificación Rentrop<sup>13</sup>), el flujo TIMI (*Thrombolysis in Myocardial Infarction*)



**Figura 1.** Diagrama de flujo de los pacientes con IAMCEST de los que se aspiró material coronario durante la ICP primaria incluidos en el estudio. DTA: dispositivo de tromboaspiración; IAMCEST: infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST; ICP: intervención coronaria percutánea; IHQ: inmunohistoquímico.

previo a la ICP y el resultado angiográfico final. Dicho resultado se evaluó mediante el flujo TIMI final, el *TIMI Frame Count* corregido<sup>14</sup>, y el grado de perfusión miocárdica, clasificado de 0 a 3 según la definición del *TIMI Group*<sup>15</sup>.

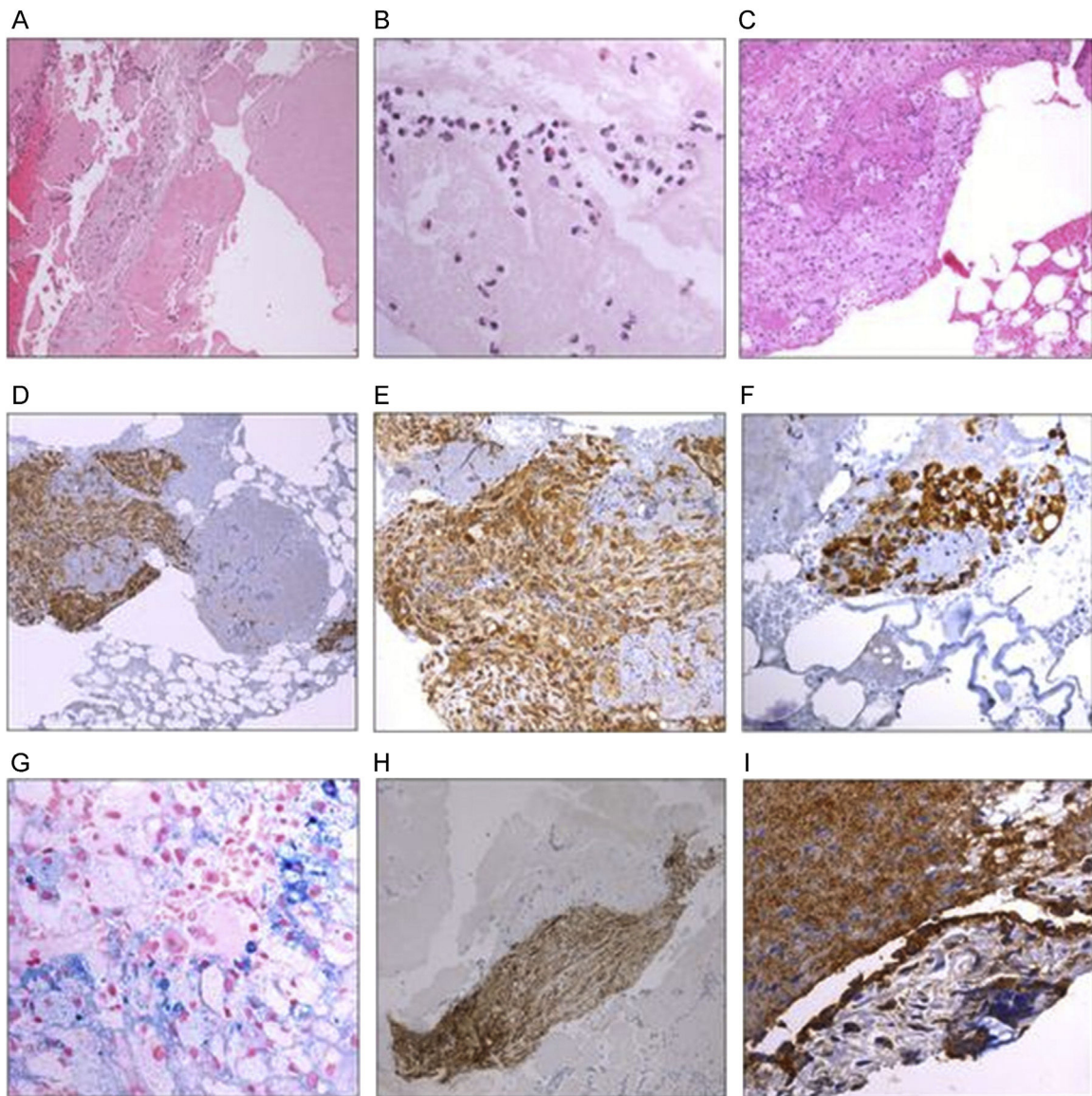
El tratamiento farmacológico antes de la ICP incluyó ácido acetilsalicílico y clopidogrel en dosis de carga de 300 y 600 mg respectivamente, y 5.000-10.000 UI de heparina no fraccionada. Los inhibidores de la glucoproteína IIb/IIIa se usaron sistemáticamente, salvo contraindicación, y la elección del dispositivo de aspiración fue decisión del operador en cada procedimiento.

### Procesamiento y análisis del material intracoronario

El material aspirado se lavó con suero fisiológico inmediatamente tras su extracción, se fijó en formalina neutra tamponada al 10% y se envió al departamento de anatomía patológica para su

procesamiento. Tras la fijación, el material se embebió en parafina y se realizaron cortes de 4  $\mu$ m, que se montaron en portaobjetos de vidrio. Las secciones se tiñeron con hematoxilina y eosina para microscopia de luz y con anticuerpos (Dako y Glostrup®, Denmark) contra macrófagos (CD68), moléculas de adhesión de células endoteliales y plaquetas (CD31) y filamentos de actina (HHF35). La tinción de Perls para detección de hierro pudo llevarse a cabo en 111 casos y sirvió para identificar áreas de hemorragia antigua en el interior de los fragmentos de placa (figura 2).

Una patóloga experimentada que no tenía acceso a la información sobre los pacientes realizó el análisis histopatológico. La edad del trombo se clasificó en 2 grupos según la definición histopatológica previamente aceptada<sup>10</sup>: el trombo fresco (< 1 día), que se compone de capas de fibrina, plaquetas, eritrocitos y granulocitos intactos, y el trombo antiguo (> 1 día), que consta de áreas líticas (1-5 días) y/u organizadas (> 5 días). Las



**Figura 2.** Imágenes microscópicas del material coronario extraído mediante tromboaspirador de pacientes con infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST. A: trombo heterogéneo con áreas de trombo fresco que incluyen células sanguíneas intactas (granulocitos, plaquetas y eritrocitos) y fibrina, junto a áreas líticas con desestructuración celular. B: detalle de un trombo fresco en el que se observan eosinófilos y neutrófilos con redes de fibrina. C: material coronario aspirado que incluye fragmentos de ateroma compuestos de macrófagos. D, E y F: imágenes representativas de placa de ateroma con tinciones inmunohistoquímicas: las células positivas para CD68 (macrófagos) permiten identificar fragmentos de «placa blanda». G: detalle de una tinción de Perls para hierro en la que los siderófagos permiten identificar zonas de hemorragia antigua. H: fragmentos de placa de ateroma identificados por tinción positiva para anticuerpos HF35 (actina). I: células teñidas con anticuerpos frente a moléculas de adhesión de células endoteliales y plaquetas (CD31) recubriendo el trombo organizado. Esta figura se muestra a todo color solo en la versión electrónica del artículo.



áreas líticas se caracterizan por necrosis colicuativa y cariorrexis de granulocitos y, las organizadas, por el desarrollo de neovasos capilares y células musculares lisas, con o sin depósitos de tejido conectivo. En el presente análisis, se distingue entre trombo fresco y antiguo, en el que se identifica al menos 1 zona lítica u organizada.

Se realizó un análisis semicuantitativo de las tinciones de Perls e inmunohistoquímicas de forma que se consideró: 0 cuando la tinción era negativa; 1 cuando se observaban escasas células positivas, y 2 cuando había frecuentes células positivas. Para el análisis estadístico, se agruparon los casos 1 y 2 y se mantuvo el grupo 0 como negativo.

Los fragmentos de placa se identificaron por la presencia de algún material constituyente de «placa blanda» (lípidos extracelulares, macrófagos espumosos —CD68 positivos— y/o cristales de colesterol), fibras musculares lisas (HHF35), células endoteliales (CD31), depósitos de hierro, calcio, tejido fibroelástico o combinaciones de estos componentes. Las tinciones con CD68 y CD31 solo se consideraron positivas cuando marcaban componentes de placa: macrófagos en el caso del CD68 —presentes en la placa y no en el trombo— y células endoteliales con el CD31.

El comité de ética local aprobó la manipulación y el análisis del material aspirado y todos los pacientes aceptaron participar en el estudio. Los procedimientos utilizados se llevaron a cabo de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki sobre los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos.

### Seguimiento clínico

El seguimiento de los pacientes se realizó a través de la consulta externa o por contacto telefónico durante una mediana de 2,4 (1-6) años, con solo un 1% de pérdidas durante el seguimiento. Tres médicos (A. Blasco, L. Goicolea y A. Muñoz) encargados de la base de datos registraron prospectivamente los eventos adversos cardiovasculares mayores (MACE): muerte, infarto de miocardio recurrente, revascularización urgente y trombosis del *stent* definitiva o probable (*Academic Research Consortium*)<sup>16</sup>.

### Análisis estadístico

Las variables categóricas se expresan como porcentajes y las continuas, como media  $\pm$  desviación estándar o como medianas [intervalo intercuartílico] en el caso de los tiempos. Las asociaciones entre variables cualitativas se evaluaron mediante la prueba de la  $\chi^2$  y entre variables continuas, mediante las pruebas de la t de Student o la U de Mann-Whitney. Las curvas de supervivencia para MACE se estimaron por el método de Kaplan-Meier y se compararon mediante *log-rank test*.

Para identificar predictores independientes de MACE en el seguimiento, se aplicó el análisis de regresión de Cox multivariable con selección hacia atrás, de modo que las variables se eliminaban si  $p < 0,05$ . El poder discriminativo del modelo se evaluó mediante el índice C de Harrell<sup>17</sup>, equivalente al área bajo la curva ROC en modelos de supervivencia; C = 0,5 indica predicciones al azar y C = 1 corresponde a una perfecta discriminación.

Todas las pruebas fueron bilaterales y los valores de  $p < 0,05$  se consideraron estadísticamente significativos. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS versión 18.0.

## RESULTADOS

Se estudió a 142 pacientes con IAMCEST de los que se obtuvo material mediante aspiración durante la ICP primaria. En la *tabla 1* se muestran las características histológicas de los aspirados coronarios.

**Tabla 1**

Características histológicas e inmunohistoquímicas de los aspirados coronarios en pacientes con IAMCEST

	n (%)
<i>Tipo de trombo (n = 138)</i>	
Fresco	54 (39)
Lítico	76 (55)
Organizado	8 (6)
<i>Técnicas IHQ (n = 142)</i>	
CD68+	70 (49)
CD31+	28 (20)
HHF35+	23 (16)
<i>Tinción de Perls + (n = 111)</i>	29 (26)
<i>Presencia de placa (n = 142)</i>	90 (63)

CD31: anticuerpos contra moléculas de adhesión de células endoteliales y plaquetas; CD68: anticuerpos contra macrófagos; HHF35: anticuerpos contra filamentos de actina; IAMCEST: infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST; IHQ: inmunohistoquímica.

En 4 de las 142 muestras estudiadas, no se identificó trombo o este era insuficiente para categorizar su antigüedad. Del resto (138 pacientes), el trombo era fresco en 54 (39%), lítico en 76 (55%) y organizado en 8 pacientes (6%). La infiltración granulocítica estaba ausente o era leve en 77 de 138 pacientes (56%) y moderada o intensa en 61 (44%).

Se identificaron componentes de placa aterosclerótica en 90 de los 142 pacientes (63%). La tinción de anticuerpos contra macrófagos (CD68) resultó positiva en el 49% de las muestras; solo en 6 muestras negativas para CD68 alguna de las otras 2 técnicas inmunohistoquímicas resultó positiva (HHF35 en 5 casos, CD31 en 2). En 4 casos fueron los depósitos de hemosiderina (Perls+) los que permitieron identificar la placa.

La mediana del peso del material aspirado fue 0,046 [0,02-0,1] g. El análisis univariable mostró que el peso del aspirado se asoció inversamente a la presencia de placa (mediana del peso sin placa, 0,07 [0,03-0,12]; con placa, 0,04 [0,02-0,10];  $p = 0,017$ ). Es decir, los aspirados más abundantes contenían fragmentos de placa con menor frecuencia.

Las características clínicas y angiográficas de los pacientes se resumen en la *tabla 2*. Los eventos clínicos durante el seguimiento fueron: muerte de cualquier causa, 24 pacientes (4,4/1.000 personas-mes); muerte cardiaca, 15 (2,7/1.000 personas-mes), y reinfarcto, 7 (1,3/1.000 personas-mes). La variable combinada MACE fue positiva en 32 pacientes (7/1.000 pacientes-mes).

En la *tabla 3* se comparan los pacientes con y sin eventos clínicos adversos a los 5 años del IAMCEST respecto a sus características clínicas y angiográficas y a la histología del aspirado coronario. La presencia de placa en el aspirado es la única variable histológica que se asoció significativamente a la aparición de MACE, y no se encontró asociación de esta con ninguna otra variable previa a la aspiración que pudiera ser indicativa de efecto confusor (*tabla 2*). La antigüedad del trombo no se asoció con la evolución de los pacientes en esta serie.

Las curvas de supervivencia para MACE fueron significativamente diferentes con respecto a: hábito tabáquico, arteria responsable del infarto, flujo TIMI tras la ICP primaria, FEVI al alta y presencia de placa en el aspirado coronario (*figuras 3 y 4*). Las tasas de supervivencia libre de MACE a 5 años fueron: el 82,5% de los fumadores frente al 66,7% de los no fumadores ( $p = 0,036$ ); el 83,3% de los pacientes con infarto de las arterias coronaria derecha o circunfleja frente al 68,5% de aquellos con infarto de la arteria descendente anterior ( $p = 0,042$ ); el 80,8% de los pacientes con flujo TIMI II-III frente al 30,0% de los que presentaron flujo final TIMI 0-I ( $p < 0,001$ ); el 83,7% de los pacientes con FEVI  $\geq 35\%$  frente al 26,7% de los que tenían FEVI  $< 35\%$  antes del alta hospitalaria ( $p < 0,001$ ),

**Tabla 2**

Características clínicas y angiográficas de los pacientes y asociación de las variables previas a la aspiración coronaria con la presencia de placa en el aspirado

	Total	Sin placa	Placa	p
<i>Antes de la aspiración coronaria</i>				
Sexo masculino	116 (81,7)	36 (32,4)	75 (67,6)	0,340
Edad (años)	60 ± 13	60 ± 11	60 ± 14	0,917
Fumadores	97 (68,3)	31 (32,9)	63 (67,0)	0,628
Hipertensión	68 (47,9)	26 (40,6)	38 (59,4)	0,145
Hipercolesterolemia	54 (38,0)	22 (51,5)	31 (58,5)	0,158
Diabetes mellitus	32 (22,5)	10 (32,3)	21 (67,7)	0,785
Angina preinfarto	38 (27,7)	14 (38,9)	22 (61,1)	0,407
Enfermedad multivaso	43 (30,3)	14 (33,3)	28 (66,7)	0,873
Arteria responsable DA	54 (39,1)	18 (35,3)	33 (64,7)	0,586
Flujo TIMI pre-ICP 0-1	118 (88,7)	41 (35,7)	74 (64,3)	0,134
Circulación colateral	45 (36,6)	14 (31,8)	30 (68,2)	0,859
Tiempo de isquemia <sup>*</sup> (min)	221 [170-310]	217 [180-325]	233 [170-310]	0,620
Inhibidores de GPIIb/IIIa	112 (78,7)	39 (84,8)	68 (75,6)	0,214
<i>Tras la aspiración coronaria</i>				
Uso de <i>stent</i>	134 (95,0)			
Diámetro del <i>stent</i> (mm)	3,3 ± 0,5			
Descenso de ST ≥ 50% tras la ICP	87 (74,4)			
Flujo TIMI II-III tras la ICP	130 (92,9)			
cTFC tras la ICP	26 [21-41]			
FEVI al alta (%)	47,1 ± 11,3			

cTFC: *TIMI frame count* corregido; DA: descendente anterior; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo; GPIIb/IIIa: glucoproteína IIb/IIIa; IAMCEST: infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST; ICP: intervención coronaria percutánea; TIMI: *Thrombolysis in Myocardial Infarction*.

Las variables continuas se presentan como medias ± desviación estándar o como mediana [percentiles 25-75] y las variables categóricas, como n (%).

<sup>\*</sup> Tiempo desde el inicio de los síntomas hasta la reperusión mecánica.

**Tabla 3**

Comparación de las características clínicas y angiográficas de los pacientes con y sin eventos adversos a los 5 años de evolución tras el IAMCEST (HR ajustadas por la aparición de MACE en el seguimiento)

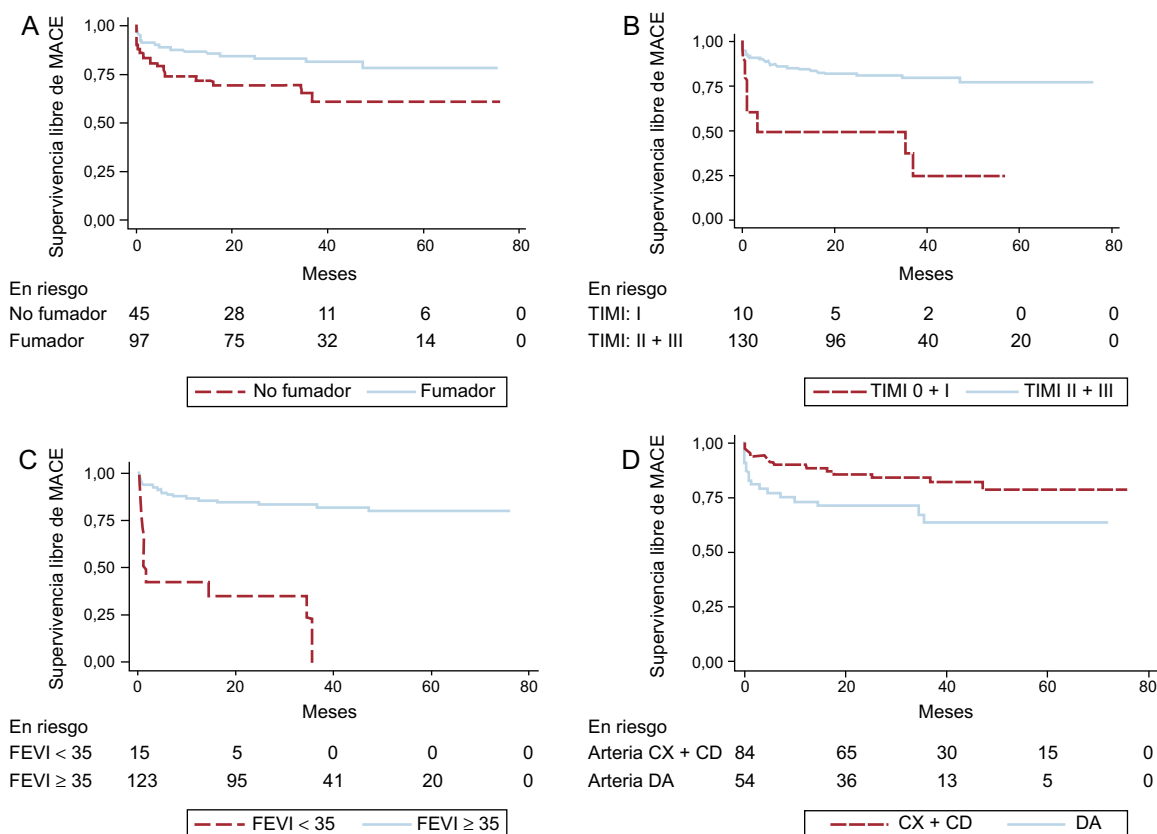
	Sin MACE	MACE	p	HR (IC95%)	p
Sexo masculino	91 (78,4)	25 (21,6)	0,554		
Edad (años)	59 ± 12	64 ± 15	0,084		
Fumadores	80 (82,5)	17 (17,5)	0,036 <sup>b</sup>	0,62 (0,30-1,29)	0,201
Hipertensión	51 (75,0)	17 (25,0)	0,500		
Hipercolesterolemia	39 (72,2)	15 (27,8)	0,241		
Diabetes mellitus	23 (71,9)	9 (28,1)	0,390		
Angina preinfarto	28 (73,7)	10 (26,3)	0,523		
Enfermedad multivaso	31 (72,1)	12 (27,9)	0,313		
Arteria responsable CD o CX	70 (83,3)	14 (16,7)	0,042 <sup>b</sup>	0,63 (0,25-1,57)	0,321
Flujo TIMI pre-ICP 0-1	91 (77,1)	27 (22,9)	0,552		
Circulación colateral	37 (82,2)	8 (17,8)	0,316		
Tiempo de isquemia <sup>a</sup>	222 [164-293]	221 [185-329]	0,459		
Inhibidores de GPIIb/IIIa	86 (77,5)	25 (22,5)	0,767		
Uso de <i>stent</i>	104 (77,6)	30 (22,4)	0,657		
Diámetro del <i>stent</i> (mm)	3,4 ± 0,5	3,2 ± 0,4	0,284		
Descenso del ST tras la ICP ≥ 50%	70 (80,5)	17 (19,5)	0,235		
Flujo TIMI II-III tras la ICP	105 (80,8)	25 (19,2)	0,001 <sup>b</sup>	0,64 (0,25-1,61)	0,341
cTFC tras la ICP	27 [20-41]	25 [21-43]	0,772		
FEVI ≥ 35% al alta	103 (83,7)	20 (16,3)	0,001 <sup>b</sup>	0,91 (0,87-0,95)	< 0,001 <sup>b</sup>
Trombo coronario no fresco	67 (80)	17 (20)	0,306		
Placa en aspirado coronario	74 (82)	16 (18)	0,033 <sup>b</sup>	0,37 (0,17-0,78)	0,009 <sup>b</sup>

CD: coronaria derecha; cTFC: *TIMI frame count* corregido; CX: circunfleja; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo; GPIIb/IIIa: glucoproteína IIb/IIIa; HR: *hazard ratio*; IAMCEST: infarto de miocardio con elevación del segmento ST; IC95%: intervalo de confianza del 95%; ICP: intervención coronaria percutánea; MACE: eventos cardiovasculares adversos mayores (muerte, infarto recurrente, revascularización urgente y/o trombosis del *stent*); TIMI: *Thrombolysis in Myocardial Infarction*.

Las variables continuas se presentan como medias ± desviación estándar o como mediana [intervalo intercuartílico] y las variables categóricas, como n (%).

<sup>a</sup> Tiempo desde el inicio de los síntomas hasta la reperusión mecánica.

<sup>b</sup> Diferencia estadísticamente significativa (p < 0,05).



**Figura 3.** Curvas de Kaplan-Meier comparativas de las tasas de supervivencia libre de MACE. A: pacientes fumadores frente a no fumadores. B: pacientes con flujo TIMI II-III tras la intervención coronaria percutánea frente a pacientes con flujo TIMI final 0-I. C: pacientes con FEVI ≥ 35% frente a pacientes con FEVI < 35% al alta. D: pacientes con infartos de las arterias CX o CD frente a pacientes con infartos de la DA. CD: coronaria derecha; CX: circunfleja; DA: descendente anterior; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo; MACE: eventos adversos cardiovasculares mayores; TIMI: *Thrombolysis in Myocardial Infarction*.

y el 82,2% de los pacientes cuyas muestras contenían placa frente al 66,0% de aquellos con aspirados sin placa ( $p = 0,033$ ).

Las variables asociadas a la aparición de eventos adversos en el análisis univariable se pusieron a prueba en el modelo de regresión de Cox multivariable; la presencia de fragmentos de placa en el aspirado (*hazard ratio* [HR] = 0,37; intervalo de confianza del 95% [IC95%], 0,18-0,77;  $p = 0,008$ ) y la FEVI (HR = 0,92; IC95%, 0,88-0,95;  $p < 0,001$ ) resultaron predictores independientes de MACE a largo plazo (tabla 3). El índice C de Harrell del modelo con las 5 variables (placa en el aspirado coronario, hábito tabáquico, flujo TIMI tras la ICP, FEVI y arteria responsable del infarto) fue de 0,723, lo cual

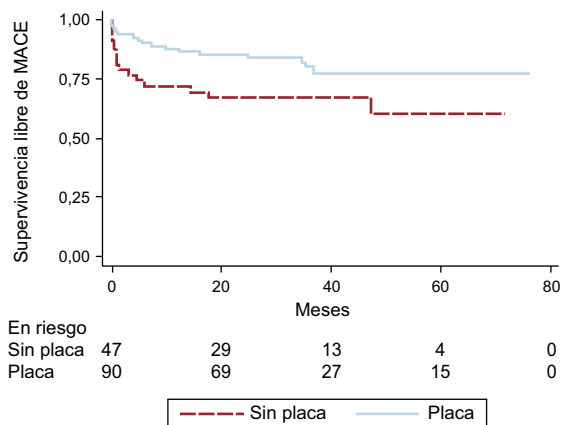
indica una buena capacidad predictiva de MACE. La variable «placa en el aspirado coronario» mejora la capacidad de discriminación del modelo con solo 4 variables ( $C = 0,708$ ).

### DISCUSIÓN

El principal hallazgo de este estudio es la asociación entre la presencia de ateroma en los aspirados coronarios de pacientes con IAMCEST y la supervivencia libre de eventos que, hasta donde sabemos, no se ha publicado previamente. La presencia de fragmentos de placa en el aspirado coronario comunicada en estos pacientes oscila entre el 39 y el 57%<sup>10,18-20</sup>. En nuestra serie, la proporción fue ligeramente superior (63%), lo cual puede deberse a la utilización de técnicas de inmunohistoquímica que facilitaron su identificación.

Solo en una pequeña serie<sup>19</sup> de 49 pacientes, se estudió la asociación entre la presencia de ateroma en el aspirado coronario y algún factor relacionado con el pronóstico. En dicha serie se analizan el grado de opacificación o *blush* miocárdico, el tamaño del infarto estimado analíticamente (pico de creatininasas y su isoenzima MB) y la FEVI. En el grupo de pacientes con placa en el aspirado (57,1%), se halló una mayor proporción de *blush* miocárdico 3 (el 82,1 frente al 52,4%;  $p = 0,025$ ), menores concentraciones de creatininasas ( $1.705 \pm 1.647$  frente a  $2.629 \pm 2.013$  U/l;  $p = 0,042$ ) y una FEVI mayor ( $0,59 \pm 0,10$  frente a  $0,52 \pm 0,08$ ;  $p = 0,012$ ). Estos hallazgos estarían en concordancia con los nuestros, dado de que la presencia de ateroma se asoció a marcadores pronósticos favorables.

En nuestra serie, 5 variables se asociaron con la aparición de MACE a largo plazo: FEVI al alta, flujo TIMI tras la ICP, arteria responsable del infarto, tabaquismo y presencia de placa de



**Figura 4.** Curvas de Kaplan-Meier comparativas de las tasas de supervivencia libre de MACE de los pacientes con síndrome coronario agudo con elevación del ST cuyos aspirados coronarios contienen fragmentos de placa frente a aquellos sin placa. MACE: eventos adversos cardiovasculares mayores.

ateroma en el aspirado coronario. La influencia de los primeros 3, así como el efecto protector del tabaquismo, coincide con lo publicado por otros autores en series amplias de pacientes con infarto agudo de miocardio<sup>21-23</sup>, aunque la causa de esta última asociación no está aclarada. En el modelo de regresión multivariable de Cox se incluyeron estas 5 variables, y fueron la FEVI y la presencia de placa en el aspirado las que resultaron predictoras independientes de MACE a largo plazo. La aspiración de placa se asoció inversamente a la tasa acumulada de MACE.

Con base en estos resultados, se postula que la presencia de placa de ateroma en los aspirados coronarios se asocia con un mejor pronóstico en pacientes con IAMCEST. La causa de esta asociación no se puede aclarar con nuestros datos. Solo se puede especular que los aspirados que contienen fragmentos de ateroma podrían identificar un grupo de pacientes con placas más grandes y/o más friables, en contraposición a otro grupo con más componente trombótico pero con menos ateroma. Este hecho podría ser reflejo de 2 mecanismos diferentes en la oclusión coronaria: el primero, resultado principalmente del sustrato de la pared arterial (rotura de la placa) y el segundo, dependiente sobre todo de factores sistémicos en la sangre circulante. Sin embargo, la obtención de placa también podría ser la consecuencia de una aspiración más completa o exitosa, aunque en nuestra serie el peso del aspirado se asoció inversamente a la presencia de fragmentos de ateroma, lo cual hace poco probable esta última teoría.

Por otra parte, en la mayoría de los casos, se identificaron fragmentos de placa a través de la tinción diferencial de macrófagos con anticuerpos específicos (CD68). La tinción con CD68 resulta ser la técnica más útil para este fin, aunque en algunos casos (17%) la placa no contenía macrófagos y fue la presencia de fibras musculares lisas, células endoteliales, cristales de colesterol o depósitos de hierro lo que permitió identificarlos.

Está documentado que la proporción de macrófagos presentes en la placa después de la endarterectomía carotídea también puede predecir la reestenosis. Helling et al.<sup>24</sup> encontraron que los pacientes con placas ricas en macrófagos tienen menor riesgo de reestenosis (*odds ratio* [OR] = 0,43; IC95%, 0,26-0,72), independiente de otros factores. También la existencia de un núcleo lipídico grande (> 40%) se asocia a menor riesgo de reestenosis (OR = 0,40; IC95%, 0,19-0,81) en dicho estudio. Nuestros datos no nos permiten explorar esta hipótesis, dado que el seguimiento no incluyó una angiografía, lo cual podría representar un objetivo potencial de la investigación.

Varios autores han realizado análisis histológicos de los aspirados coronarios de pacientes con IAMCEST en series de tamaño variado, centrándose en diferentes aspectos histopatológicos<sup>11,12,18,19,25-28</sup>. La mayor serie es la publicada por Kramer et al.<sup>12</sup>, con 1.315 pacientes. En ese estudio, el 40% de los aspirados coronarios contenía trombo lítico u organizado (> 1 día), y esta característica histológica se asoció de manera independiente con la mortalidad a largo plazo (HR = 1,83; IC95%, 1,14-2,93; p = 0,01). Sin embargo, los autores reconocen que el perfil de riesgo de los pacientes con trombo de larga evolución puede ser diferente del de los pacientes con trombo fresco. La presencia de placa no se asoció con la supervivencia en esta serie, en la que no se realizaron análisis inmunohistoquímicos. En nuestros casos, dicho análisis fue fundamental para la caracterización del aspirado.

En otro estudio de 892 pacientes<sup>11</sup>, el riesgo de recuperación incompleta del ST tendió a ser mayor entre los pacientes con trombo antiguo (OR = 1,33; IC95%, 0,95-1,85; p = 0,097), y la recuperación del ST fue un fuerte predictor de mortalidad a largo plazo en esta serie. Aunque nuestros datos no respaldan la relación entre la edad del trombo y el resultado clínico, sí hubo asociación entre la edad del trombo y el tiempo de isquemia, de modo que el tiempo de isquemia total (inicio del dolor-balón) en pacientes con trombo antiguo era

casi el doble que el de los pacientes con trombo fresco (4,3 y 2,4 h respectivamente; p = 0,007).

## Limitaciones

Nuestro estudio presenta varias limitaciones. En primer lugar, el pequeño número de pacientes, lo que aumenta la probabilidad de pasar por alto asociaciones entre las variables. Ello nos impide también analizar de manera independiente los componentes de la variable combinada MACE. En segundo lugar, la formación del trombo arterial depende no solo de la trombogenicidad de la pared vascular, sino también de factores circulantes y de las características del flujo sanguíneo, que no han sido evaluados. En tercer lugar, la técnica de aspiración no permite la recuperación completa del material trombótico de la mayoría de los pacientes con IAMCEST.

## CONCLUSIONES

La principal conclusión de este estudio es que la presencia de fragmentos de placa de ateroma en el aspirado coronario de pacientes con IAMCEST puede proporcionar información pronóstica adicional, y el estudio inmunohistoquímico con CD68 es un buen método para detectarlos. La presencia de placa podría estar asociada a una evolución más favorable, independientemente de otros factores de riesgo ya conocidos, y su ausencia podría constituir un marcador para aplicar estrategias preventivas más intensivas en cuanto al uso de fármacos antiagregantes y anticoagulantes.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido posible gracias a la colaboración del equipo de enfermería de hemodinámica y a los médicos de cardiología de nuestro centro que participaron en la recopilación de la información clínica de los pacientes. Mención especial a Diego García Fresnadillo, técnico del laboratorio de anatomía patológica, por el procesamiento de las muestras.

## CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno.

## ¿QUÉ SE SABE DEL TEMA?

- La relación entre la histología del aspirado coronario y la evolución de los pacientes con IAMCEST solo se ha analizado en un estudio previo, en el que la edad del trombo fue predictor de mortalidad.
- En las series publicadas, más de un tercio de los aspirados contiene fragmentos de placa; sin embargo, desconocemos los factores que determinan su presencia y si esta tiene alguna relación con el pronóstico.

## ¿QUÉ APORTA DE NUEVO?

- La principal aportación de este estudio es que la presencia de fragmentos de placa de ateroma en el aspirado coronario de pacientes con IAMCEST puede proporcionar información pronóstica adicional.
- El estudio inmunohistoquímico con CD68 es de gran ayuda para identificarlos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Stone GW, Webb J, Cox DA, et al. for the Enhanced Myocardial Efficacy and Recovery by Aspiration of Liberated Debris (EMERALD) Investigators. Distal micro-circulatory protection during percutaneous coronary intervention in acute ST-segment elevation myocardial infarction: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2005;293:1063-1072.
- Svilaas T, Vlaar PJ, Van der Horst IC, et al. Thrombus aspiration during primary percutaneous coronary intervention. *N Engl J Med*. 2008;358:557-567.
- Davies MJ, Thomas AC. Plaque fissuring: the cause of acute myocardial infarction, sudden ischaemic death, and crescendo angina. *Br Heart J*. 1985;53:363-373.
- Mann J, Davies MJ. Mechanisms of progression in native coronary artery disease: role of healed plaque disruption. *Heart*. 1999;82:265-268.
- Burke AP, Kolodgie FD, Farb A, et al. Healed plaque ruptures and sudden coronary death: evidence that subclinical rupture has a role in plaque progression. *Circulation*. 2001;103:934-940.
- Henriques de GR, Van Der Wal AC, Van der Loos CM, Becker AE. Sudden unexpected death in young adults. Discrepancies between initiation of acute plaque complications and the onset of acute coronary death. *Eur Heart J*. 2002;23:1433-1440.
- Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 1992;326:242-250.
- Fernández-Ortiz A, Badimon JJ, Falk E, et al. Characterization of the relative thrombogenicity of atherosclerotic plaque components: implications for consequences of plaque rupture. *J Am Coll Cardiol*. 1994;23:1562-1569.
- Ramaola I, Padro T, Peña E, et al. Changes in thrombus composition and proinflammatory release in acute myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2015;36:965-975.
- Rittersma SZ, Van der Wal AC, Koch KT, et al. Plaque instability frequently occurs days or weeks before occlusive coronary thrombosis. A pathological thrombectomy study in primary percutaneous coronary intervention. *Circulation*. 2005;111:1160-1165.
- Verouden NJ, Kramer MC, Li XF, et al. Histopathology of aspirated thrombus and its association with ST segment recovery in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention with routine thrombus aspiration. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2011;77:35-42.
- Kramer MCA, Van der Wal AC, Koch KT, et al. Presence of older thrombus is an independent predictor of long-term mortality in patients with ST-elevation myocardial infarction treated with thrombus aspiration during primary percutaneous coronary intervention. *Circulation*. 2008;118:1810-1816.
- Rentrop KP, Cohen M, Blanke H, Phillips RA. Changes in collateral channel filling immediately after controlled coronary artery occlusion by an angioplasty balloon in human subjects. *J Am Coll Cardiol*. 1985;5:587-592.
- Gibson CM, Murphy SA, Rizzo MJ, et al. Relationship between TIMI frame count and clinical outcomes after thrombolysis administration. Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) Study Group. *Circulation*. 1999;99:1945-1950.
- Gibson CM, Cannon CP, Murphy SA, et al. Relationship of TIMI myocardial perfusion grade to mortality after administration of thrombolytic drugs. *Circulation*. 2000;101:125-130.
- Cutlip DE, Windecker S, Mehran R, et al. on behalf of the Academic Research Consortium. Clinical end points in coronary stent trials: a case for standardized definitions. *Circulation*. 2007;115:2344-2351.
- Harrell Jr FE, Lee KL, Mark DB. Multivariable prognostic models: issues in developing models, evaluating assumptions and adequacy, and measuring and reducing errors. *Stat Med*. 1996;15:361-387.
- Sakai T, Inoue S, Matsuyama T, et al. Eosinophils may be involved in thrombus growth in acute coronary syndrome. Histologic examination of aspiration samples. *Int Heart J*. 2009;50:267-277.
- Zhao HJ, Yan HB, Li D, et al. Pathological analysis of aspirated materials from the culprit lesion in patients with acute myocardial infarction. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*. 2009;37:785-789.
- Kramer MC, Van der Wal AC, Koch KT, et al. Histopathological features of aspirated thrombi after primary percutaneous coronary intervention in patients with ST-elevation myocardial infarction. *PLoS One*. 2009;4:e5817.
- Rosell-Ortiz F, Mellado-Vergel FJ, Ruiz-Bailén M, Perea-Milla E; en representación del grupo de investigadores del proyecto PEFEX. Tratamiento extrahospitalario y supervivencia al año de los pacientes con infarto agudo de miocardio con elevación de ST. Resultados del Proyecto para la Evaluación de la Fibrinólisis Extrahospitalaria (PEFEX). *Rev Esp Cardiol*. 2008;61:14-21.
- Andrés E, Cordero A, Magán P, et al. Mortalidad a largo plazo y reingreso hospitalario tras infarto agudo de miocardio: un estudio de seguimiento de ocho años. *Rev Esp Cardiol*. 2012;65:414-420.
- García-García C, Molina L, Subirana I, et al. Diferencias en función del sexo en las características clínicas, tratamiento y mortalidad a 28 días y 7 años de un primer infarto agudo de miocardio. Estudio RESCATE II. *Rev Esp Cardiol*. 2014;67:28-35.
- Hellings WE, Moll FL, De Vries JP, et al. Atherosclerotic plaque composition and occurrence of restenosis after carotid endarterectomy. *JAMA*. 2008;299:547-554.
- Silvain J, Collet JP, Nagaswami C, et al. Composition of coronary thrombus in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:1359-1367.
- Nishihira K, Yamashita A, Ishikawa T, Hatakeyama K, Shibata Y, Asada Y. Composition of thrombi in late drug-eluting stent thrombosis versus de novo acute myocardial infarction. *Thromb Res*. 2010;126:254-257.
- Cook S, Ladich E, Nakazawa G, et al. Correlation of intravascular ultrasound findings with histopathological analysis of thrombus aspirates in patients with very late drug-eluting stent thrombosis. *Circulation*. 2009;120:391-399.
- Hoshida Y, Hatakeyama K, Tanabe T, Asada Y, Goto S. Co-localization of von Willebrand factor with platelet thrombi, tissue factor and platelets with fibrin, and consistent presence of inflammatory cells in coronary thrombi obtained by an aspiration device from patients with acute myocardial infarction. *J Thromb Haemost*. 2006;4:114-120.