

## ORIGINAL

## Marcadores analíticos de enfermedad vascular del injerto en el trasplante cardiaco

### Laboratory test markers of graft vascular disease in heart transplant patients

Gómez Moreno S, Lage Gallé E, Jiménez Díaz J, Caro Pérez A, Sánchez González A, Martínez Martínez A

Servicio de cardiología. Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla

#### Resumen

La enfermedad vascular del injerto (EVI) afecta a más del 40% de los pacientes trasplantados cardiacos a los 5 años de seguimiento y es la primera causa de muerte después del primer año postraplante cardiaco. El objetivo es demostrar la relación entre las concentraciones de adiponectina y otras citocinas con el desarrollo de EVI y sus distintos grados de severidad.

**Material y metodología:** incluimos 21 pacientes a los que se realiza coronariografía-IVUS (ecografía intracoronaria) para el diagnóstico de EVI y determinamos las cifras de adiponectina. Tenían EVI por coronariografía 10 pacientes y por IVUS 14 pacientes.

**Resultados:** No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de adiponectina en función de la existencia de EVI diagnosticada por coronariografía ni en función del grado de severidad de la EVI por IVUS. Se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre la existencia de EVI diagnosticada por IVUS y las concentraciones de IL-6 ( $p=0,025$ ) con mayores concentraciones de IL6 en los que no tenían EVI o era de grado leve y entre la existencia de EVI por coronariografía y los niveles de BNP ( $p=0,014$ ) con niveles más elevados de BNP en los que tenían EVI. Se encontró una relación entre el sexo y los niveles de adiponectina ( $p=0,025$ ) con niveles superiores en las mujeres. Había una relación estadísticamente significativa entre la aparición de eventos cardiacos mayores (MACE) y la existencia de EVI diagnosticada por coronariografía ( $p=0,012$ ).

**Palabras clave:**

Enfermedad vascular del injerto, adiponectina.

#### Abstract

Graft vascular disease (GVD) affects over 40% of all heart transplant patients after 5 years of follow-up, and is the first cause of death after the first post-transplantation year. A study is made of the relationship between the concentrations of adiponectin and other cytokines and the development of GVD and its different degrees of severity.

**Material and methods:** The study included 21 patients subjected to coronariography-intravascular ultrasound (IVUS) for the diagnosis of GVD, with the determination of adiponectin levels. GVD was identified by coronariography in 10 patients and by IVUS in 14 patients.

**Results:** There were no statistically significant differences in adiponectin levels according to the existence of GVD diagnosed by coronariography, or according to the severity of GVD as determined by IVUS. Statistically significant correlations were recorded between the presence of GVD diagnosed by IVUS and the concentrations of IL-6 ( $p=0.025$ ), with higher IL-6 levels in those without GVD or with only mild GVD; and between the presence of GVD determined by coronariography and the levels of BNP ( $p=0.014$ ) – higher levels of this protein being found in the patients with GVD. A relationship was observed between patient gender and adiponectin levels ( $p=0.025$ ), with higher concentrations in women. A statistically significant relationship was seen between the appearance of major adverse cardiac events (MACEs) and the existence of GVD as diagnosed by coronariography ( $p=0.012$ ).

**Key words:**

Graft vascular disease, adiponectin.

---

#### Correspondencia

S. Gómez Moreno  
Luis Montoto, nº 16, escalera 1,1ªA. 41003 Sevilla  
silviagomezmoreno@gmail.com

## Introducción

La enfermedad vascular del injerto (EVI), conocida como rechazo crónico, es la principal causa de fallo del injerto y muerte en pacientes que sobreviven más de un año al trasplante cardiaco (TC).

Desde el punto de vista morfológico, la EVI típica es una forma de aterosclerosis acelerada del injerto que se caracteriza por engrosamiento difuso y concéntrico de la íntima de las arterias epicárdicas e intramurales. En la fase tardía, genera estenosis de arterias epicárdicas y oclusión de ramas intramurales.

A los 5 años del trasplante, el 42% de los pacientes presentan algún dato de EVI angiográfica [1].

La expresión clínica puede incluir angina o infarto agudo de miocardio, sin embargo, la denervación del injerto hace que la enfermedad curse habitualmente silente hasta su fase terminal y frecuentemente el debut de la enfermedad es como arritmias ventriculares, insuficiencia cardiaca o muerte súbita. La insuficiencia cardiaca puede producirse por disfunción sistólica del injerto pero también por mecanismo diastólico. Algunos pacientes fallecen de forma súbita y se atribuye a arritmias ventriculares o trastornos graves de la conducción.

Su presencia tiene gran importancia pronóstica y se han descrito incidencias de muerte o retrasplante a 1 y 3 años del 36 y 80%, respectivamente [2]. Sin embargo, diversas medidas de prevención y tratamiento parecen haber mejorado el pronóstico y se estima que en la última década la supervivencia media tras el diagnóstico ha pasado de 2 a 4,2 años [3].

Aunque el mecanismo exacto de su patogénesis no se conoce, es creciente la evidencia que la EVI es una manifestación de una respuesta inmune crónica al corazón trasplantado sobre la que inciden factores no inmunológicos. En el presente trabajo nos hemos planteado determinar las diferencias en los niveles de adiponectina basales entre los pa-

cientes trasplantados cardiacos con EVI demostrada mediante coronariografía e IVUS y los que no han desarrollado EVI, así como la relación entre los niveles de adiponectina y la gravedad de la EVI. Además de evaluar la relación entre las concentraciones de adiponectina, el EVI y las citocinas inflamatorias (TNF, IL6, IL1) y PCR y, por último, la relación de las concentraciones de adiponectina seriadas y del desarrollo de EVI con la aparición de eventos coronarios.

## Pacientes y metodología

Se estudiaron pacientes trasplantados cardiacos consecutivos que fueron sometidos a la realización de coronariografía-IVUS según el protocolo de estudio de la Unidad de Trasplante Cardiaco del Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla. Todos los pacientes fueron informados sobre las características y finalidad del estudio y firmaron el consentimiento informado. Este estudio cumple las normas éticas recomendadas por la VII declaración de Helsinki de la asociación Médica Mundial (2002) y por el convenio de Oviedo (1997-2000).

En la visita inicial, se realizó la historia clínica protocolizada. Se registraron las variables demográficas, de factores de riesgo coronario, historia de rechazos agudos y de infección por citomegalovirus (CMV). Se efectuó una extracción sanguínea para determinar los marcadores inflamatorios. El paciente fue sometido a la coronariografía-IVUS que estaba programada según protocolo. Posteriormente se realizaron visitas semestrales de seguimiento con una valoración clínica y de la incidencia de eventos coronarios.

La clasificación de la existencia de EVI y de su grado de severidad por coronariografía siguió la clasificación de Costanzo et al (Tabla 1) y por IVUS seguimos la clasificación de Stanford (Tabla 2).

Analizamos las variables sexo, edad, índice de masa corporal, tabaquismo, hipertensión, diabetes mellitus (tipo 1 y 2),

**Tabla 1.** Categorización de la enfermedad vascular del injerto según angiografía

Clase	Tronco coronario izquierdo	Varios primarios	Ramas
Leve	≤50%	Lesión máxima ≤ 70%	Estenosis aislada de una rama > 70% o cualquier estenosis de rama < 70% (incluyendo estrechamiento difuso)
Moderada	50-70%	Un vaso	Estenosis aislada de ramas > 70% en ramas de 2 sistemas
Severa	> 70%	2 ó más vasos > 70%	Estenosis aisladas de ramas > 70% en los 3 sistemas

**Tabla 2.** Clasificación de Stanford de la severidad de la Enfermedad Vascolar del Injerto según ecografía intravascular coronaria. Valantine et al [4].

Clase	Grado	Engrosamiento intimal (mm)	Circunferencia del vaso
0		Ninguno	Ninguno
I	Mínima	< 0,3	< 180°
II	Leve	< 0,3	> 180°
III	Moderada	0,3-0,5	> 180°
IV	Severa	> 0,5	> 180°

cifras de triglicéridos, LDL colesterol, HDL colesterol, glucemia, aclaramiento de creatinina, tiempo desde el trasplante cardiaco, rechazo agudo y su gravedad, enfermedad vascular periférica, etiología de la cardiopatía por la que se indicó el TC, edad del donante, HTA en el donante, sexo del donante, infección por CMV, presencia de EVI y su gravedad.

El seguimiento se efectuó a los 6, 12, 18 y 24 meses y evaluamos una serie de marcadores analíticos. Pro-BNP, cuyo rango de medida se encuentra entre 5-35.000 µg/ml. La adiponectina, marcador bioquímico de disfunción endotelial. La extracción se realizó en ayunas, por la mañana. Después del centrifugado, la muestra se almacenó a una temperatura entre -70°C y -130°C. La determinación de adiponectina (µg/ml) se realizó en suero por EIA mediante técnica comercial (R&D Int). También analizamos PCR, TNF, IL-6 e IL-1 como marcadores de inflamación. La determinación de PCR ultrasensible (µg/L) se midió en suero mediante técnica comercial (DADE Behring Inc) por inmunonefelometría. La IL-6, IL-1 y TNF-α (µg/ml), se midieron por EIA mediante técnica comercial (Biosource Int) en suero. Además se obtuvieron la actividad antioxidante total, los ácidos grasos libres y la vitamina E.

Los datos fueron codificados, introducidos y analizados en el programa SPSS 15.0 para Windows. Para la descripción de las variables se utilizó la estadística descriptiva. El ajuste a la normalidad de la muestra para las siguientes variables cuantitativas se realizó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Para la comparación entre variables numéricas se utilizó la prueba de Mann-Witney. Se calculó el coeficiente de correlación lineal «r de Pearson» para evaluar el grado de asociación de las diferentes variables cuantitativas.

## Resultados

Entre los 21 pacientes sometidos a coronariografía para diagnóstico de EVI de los cuales a 16 se les había realizado también IVUS, el 81% de los pacientes eran varones y en el

57,1% de los casos la indicación para el trasplante fue cardiopatía isquémica.

La media de peso de los pacientes fue de 82,02 (DS = 13,79) kg, con unas cifras medias de colesterol LDL de 104,13 (DS = 45,3) mg/dl, cifras medias de HDL colesterol de 44,88 (DS = 8,9) mg/dl, TG basales de 142,10 (DS = 72,2) mg/dl, la cifra mediana de adiponectina fue de 6,4 mg/l (2,5-9,7), la cifra media de BNP de 337 pg/l (129-551) y el tiempo medio desde el trasplante era de 97,25 meses.

El 90,5% de los pacientes estaban en tratamiento con micofenolato, el 47,6% con tacrólimus y el 42,9% con sirolimus como agentes inmunosupresores.

El tiempo medio desde el TC hasta el diagnóstico del grupo 3 fue de 96 meses (48-144) y del grupo 4 de 104 (65-142), del grupo 1, de 91 (57-25) meses y del grupo 2, de 104 meses (71-137).

Se agruparon los pacientes con EVI por IVUS en 2 grupos; grupo 1, cuando no padecieron EVI o fue de grado leve (8 pacientes), y un segundo grupo, cuando la EVI era de grado moderado-severo (8 pacientes). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,5$ ) en los niveles de adiponectina entre ambos grupos. Asimismo, se clasificaron los pacientes diagnosticados de EVI en función de la coronariografía en otros dos grupos; grupo 3, los que no tenían EVI (11 pacientes) frente al grupo 4, que tenían EVI de cualquier grado (10 pacientes). Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en relación con las concentraciones de adiponectina.

Los valores de adiponectina fueron significativamente inferiores en varones ( $p=0,025$ ). El valor mínimo en los varones fue 0,08 mg/l mientras que en las mujeres el menor valor fue 8,18 mg/l.

Se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre la existencia de EVI diagnosticada por IVUS y las concentraciones de IL-6 ( $p=0,025$ ), con mayores concentraciones en los que no tenían EVI o era de grado leve (7,25 µg/ml frente a 3,20 µg/ml) y también entre la existencia de EVI por coronariografía y los niveles de BNP ( $p=0,014$ ) siendo más elevadas las concentraciones en pacientes que padecían EVI (7,5 frente a 3).

También encontramos una relación estadísticamente significativa entre la aparición de eventos cardiacos mayores (MACE) y la existencia de EVI diagnosticada por coronariografía ( $p=0,012$ ). Todos los pacientes que sufrieron MACE (5 pacientes) tenían EVI diagnosticada por coronariografía mientras que de los 16 pacientes que no tuvieron MACE, sólo al 31,3% de los pacientes se les diagnosticó EVI por coronariografía (Tabla 3).

**Tabla 3.** Relación entre la aparición de eventos cardiacos mayores (MACE) y la existencia de EVI diagnosticada por coronariografía

			Grado EVI Coronariografía		
			No	Si	Total
Eventos Cardiacos adversos mayores basal	No	Recuento	11	5	16
		% del total	52,4%	23,8%	76,2%
	Si	Recuento	0	5	5
		% del total	,0%	23,8%	23,8%
Total	Recuento	11	10	21	
	% del total	52,4%	47,6%	100,0%	

$p=0,012$  (test exacto de Fisher)

## Discusión

Una de las limitaciones del estudio es que las concentraciones de adiponectina se han mostrado más bajas en los pacientes con síndrome coronario agudo (IAM o angina inestable frente a la angina estable), lo que podría haber limitado el hallazgo de diferencias estadísticamente significativas en nuestro estudio que se ha desarrollado sobre pacientes en los que no se exigía como criterio de inclusión el haber sufrido un evento coronario agudo. Sin embargo, en el estudio de Pischon [7] se siguió durante 6 años a 18.225 varones libres de enfermedad cardiovascular y se encontraron que las concentraciones más elevadas de adiponectina se asociaban con un menor riesgo de IAM a largo plazo en varones. En ellos por tanto la determinación de adiponectina se realizó en situación basal, fuera del contexto de un síndrome coronario agudo.

El tiempo medio desde el TC hasta el diagnóstico del grupo 3 fue de 96,38 meses (48,87-143,88) y del grupo 4 de 103,88 (65,42-142,33), del grupo 1 de 91,45 (57,39-125,52) y del grupo 2 de 104,33 meses (71,65-137,02). Por tanto estos resultados están en consonancia con la conocida relación entre el aumento de la incidencia y severidad de EVI con el mayor tiempo transcurrido desde el TC.

Los niveles de adiponectina circulantes según estudios previos oscilan entre 2 y 3 mg/l, que son concentraciones inferiores a las obtenidas en nuestra serie de pacientes trasplantados cardiacos, mediana de 6,4 mg/l (2,5-9,7). El paciente con la cifra inferior de adiponectina tenía 80 µg/ml (0,08 mg/l) que tenía EVI severa. Los 2 pacientes con las concentraciones superiores de adiponectina (19,5 y 17,2 mg/l) tenían EVI leve y ausencia de EVI por coronariografía [4].

En nuestro estudio los niveles de adiponectina son inferiores en hombres que en mujeres con diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,025$ ) lo que concuerda con lo

publicado en la literatura y con el hecho conocido del mayor riesgo cardiovascular de los varones comparados con las mujeres al mismo rango de edad [5-8].

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la existencia de EVI diagnosticada por IVUS o coronariografía y los niveles de adiponectina que podría también estar motivado por el pequeño tamaño muestral y por la ausencia de grupo control que pudiera hacer más evidentes las diferencias.

Se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre la existencia de EVI diagnosticada por IVU y las concentraciones de IL-6 ( $p=0,025$ ) y entre la existencia de EVI por coronariografía y los niveles de BNP ( $p=0,014$ ). El BNP es un marcador muy sensible de la disfunción ventricular izquierda, incluso en pacientes asintomáticos. Tiene implicaciones diagnósticas y pronósticas en la insuficiencia cardiaca y podría también servir de marcador analítico de la existencia de EVI. Había una relación estadísticamente significativa entre la aparición de MACE y la existencia de EVI diagnosticada por coronariografía ( $p=0,012$ ) con el test exacto de Fisher. Todos los pacientes que sufrieron MACE (5 pacientes) tenían EVI diagnosticada por coronariografía mientras que de los 16 pacientes que no tuvieron MACE, sólo el 31,3% de los pacientes tenían EVI diagnosticada por coronariografía. Esto explica que la EVI sea la primera causa de muerte después del primer año postraplante cardiaco.

Pese a no haber encontrado en este estudio asociación estadísticamente significativa entre los valores de adiponectina y la existencia o gravedad de la EVI, ello puede deberse al escaso número de pacientes incluidos en el estudio. Ningún trabajo ha aplicado esa relación demostrada entre concentraciones de adiponectina y aterosclerosis a la EVI en pacientes trasplantados cardiacos y dada la alta prevalencia de esta entidad en estos pacientes, el mal pronóstico que



implica y la existencia de medidas terapéuticas, el identificar a estos pacientes sin necesidad de pruebas invasivas y de alto coste económico sería de gran utilidad para dirigir la necesidad de realizar estas pruebas cruentas a pacientes seleccionados y no de forma indiscriminada dada la falta de indicadores de esta enfermedad en la actualidad. El disponer de un marcador analítico como la adiponectina u otros de esta entidad sería de gran importancia porque cambiaría radicalmente el manejo y el pronóstico, por lo que el poder obtener esta información con una simple determinación de laboratorio ahorraría costes, demoras en el diagnóstico etiológico y eliminaría los riesgos que pueden derivarse del empleo de otro tipo de técnicas que se emplean con este fin, como coronariografía-IVUS. **I**

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Costanzo MR, Naftel DC, Pritzker MR, Heilman JK 3rd, Boehmer JP, Brozena SC et al. Heart transplant coronary artery disease detected by coronary angiography: a multi-institutional study of pre-operative donor and recipient risk actors. *J Heart Lung Transplant* 1998; 17:744-53.
2. Keogh AM, Valantine HA, Hunt SA, Schroeder JS, McIntosh N, Oyer PE et al. Impact of proximal or midvessel discrete coronary artery stenosis on survival after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1992; 11:892-901.
3. Cantin B, Gao SZ, Kwok BWK, et al: Prognosis of patients with significant angiographically diagnosed cardiac allograft coronary disease. *J Heart Lung Transplant* 2002; 21(abstr):96.
4. Valantine H, Pinto F, St-Goar G, Alderman E, Popp R. Intracoronary ultrasound imaging in heart transplant recipients: The Stanford Experience. *J Heart Lung Transplant* 1992; 11:S60-S64.
5. Pischon T, Girman C, Hotamisligil G, Rifai N, Hu FB, Rimm EB et al. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA* 2004; 291:1730-7.
6. Maahs D, Orden L, Kinney G, Wadwa P, Snell-Bergeon JK, Dabelea D et al. Low plasma adiponectin levels predict progression of coronary artery calcification. *Circulation* 2005; 111:747-53.
7. Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Nishida M, Kumada M et al. Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation* 2003; 107:671-4.
9. Maruyoshi H, Kojima S, Funahashi T, Miyamoto S, Hokamaki J, Soejima H et al. Adiponectin is inversely related to plasminogen activator inhibitor type I in patients with stable exertional angina. *Thromb Haemost* 2004; 91:1026-30.
10. Miyazaki T, Shimada K, Moruno H, Daida H. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin is associated with smoking status in patients with coronary artery disease. *Heart* 2003; 89:663-4.

#### Conflicto de intereses

Los autores no hemos recibido ayuda económica alguna para la realización de este trabajo. Tampoco hemos firmado ningún acuerdo por el que vayamos a recibir beneficios u honorarios por parte de alguna entidad comercial. Ninguna entidad comercial ha pagado, ni pagará, a fundaciones, instituciones educativas u otras organizaciones sin ánimo de lucro a las que estamos afiliados.