

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

**APLICACIÓN DE LA LONGITUD TELOMÉRICA Y LOS
POLIMORFISMOS DE LA TELOMERASA EN EL
ESTUDIO DE PACIENTES CON SINDROME
CORONARIO AGUDO**

TESIS DOCTORAL

José Ángel Pérez Rivera

2013

DIRECTORES:

Prof. Dr. D. PEDRO PABÓN OSUNA. Profesor Titular del Departamento de Medicina de la Universidad de Salamanca. Jefe de Sección en el Servicio de Cardiología del Hospital Universitario de Salamanca.

Prof. Dr. ROGELIO GONZÁLEZ SARMIENTO. Catedrático del Departamento de Medicina de la Universidad de Salamanca. Jefe de la Unidad de Medicina Molecular de la Universidad de Salamanca.

Prof. Dr. D. PEDRO PABÓN OSUNA. Profesor Titular del Departamento de Medicina de la Universidad de Salamanca. Jefe de Sección en el Servicio de Cardiología del Hospital Universitario de Salamanca.

Prof. Dr. ROGELIO GONZÁLEZ SARMIENTO. Catedrático del Departamento de Medicina de la Universidad de Salamanca. Jefe de la Unidad de Medicina Molecular de la Universidad de Salamanca.

CERTIFICAN:

Que el trabajo realizado bajo nuestra dirección por D. José Ángel Pérez Rivera titulado “APLICACIÓN DE LA LONGITUD TELOMÉRICA Y LOS POLIMORFISMOS DE LA TELOMERASA EN EL ESTUDIO DE PACIENTES CON SÍNDROME CORONARIO AGUDO” reúne las condiciones de originalidad requeridas para la obtención del título del grado de Doctor en Medicina.

Y para que así conste a todos los efectos oportunos, firmamos la siguiente certificación en Salamanca a 11 de Noviembre de 2013.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'P. Osuna', written over a light blue rectangular background.

Fdo: Dr. D. Pedro Pabón Osuna

Fdo: Dr. D. Rogelio González Sarmiento

AGRADECIMIENTOS

A los directores de este trabajo:

Al Dr. Pedro Pabón por la confianza depositada en mí cuándo yo prácticamente era un recién llegado al Servicio de Cardiología. Desde un primer momento supo transmitirme su ilusión en esta idea suya que se ha materializado en estas páginas. Además, su apoyo y estímulo constante han determinado directamente mi formación como investigador y como médico. Gracias también por su cercanía y buen humor que hacen fácil el trabajo diario.

Al Dr. Rogelio González por su aliento en los momentos más complicados de esta investigación y por su facilidad para solucionar siempre las vicisitudes propias de este tipo de proyectos. Por su seguridad en mi capacidad para sacar adelante este trabajo y por su motivación permanente que me ha facilitado la compatibilidad de mi actividad asistencial con la investigación básica.

A Clara Cieza por ser mi guía en el trabajo de laboratorio y por su comprensión durante mi período de adaptación. Por poner a mi disposición todos sus conocimientos y su material siempre de forma generosa. Por estar en todo momento disponible para resolver mis múltiples dudas. Por su profesionalidad en el trabajo y su amabilidad en el trato personal; en definitiva, por su amistad.

Al Dr. Francisco Martín por su implicación desinteresada en todos los aspectos de este trabajo. Por el tiempo empleado en las múltiples correcciones del material que le hacía llegar, a veces a horas intempestivas. Por ayudarme a comprender los métodos estadísticos necesarios en la investigación médica. Por su preocupación por la docencia que me ha servido de ejemplo durante mi formación.

Al resto de miembros del Servicio de Cardiología de Salamanca por sus ánimos. Por haber influido en mi crecimiento como médico y como persona. Especialmente, gracias a todos los compañeros residentes con los que he tenido la suerte de trabajar por ser siempre refugio, consejo y estímulo para mi práctica diaria.

A mis padres por su cariño durante todos estos años. Por su consuelo en los malos momentos y por su sacrificio permanente por mi bienestar. Por enseñarme a

superarme y a esforzarme para conseguir las cosas por mí mismo. Por su interés en mi trabajo, a pesar de resultar en ocasiones lejano a su ocupación habitual, y por su paciencia y consejo que me ayudan a afrontar el cansancio y frustración que a veces se deriva de él.

A María por su atención durante mis frecuentes charlas sobre pipetas, placas, polimorfismos y telómeros tras volver del laboratorio. Por su comprensión y respeto ante mis tardes y noches delante del ordenador durante la redacción de este trabajo. Por escucharme siempre y conocerme tan bien. Por su apoyo en el día a día y su cariño que me hacen la vida más feliz. Por ser la mejor compañera que uno puede tener para disfrutar de la vida.

Sin ellos este trabajo no habría sido posible.

ÍNDICE

1 INTRODUCCIÓN.....	6
1.1 <i>El proceso del envejecimiento</i>	7
1.1.1 Datos estadísticos	7
1.1.2 Teorías del envejecimiento	9
a) Envejecimiento celular.....	10
1.1.3 Telómeros y telomerasa	11
a) Regulación de la longitud telomérica	14
b) Telómeros y telomerasa en el envejecimiento biológico.....	15
c) Relación con las enfermedades humanas.....	17
1.2 <i>Enfermedad aterosclerótica como manifestación del envejecimiento..</i>	20
1.2.1 Concepto y recuerdo histórico	20
1.2.2 Fisiopatología.....	21
1.2.3 Aterosclerosis y envejecimiento	25
1.2.4 Manifestaciones clínicas	26
1.3 <i>Cardiopatía isquémica.....</i>	26
1.3.1 Epidemiología	27
1.3.2 Factores de riesgo.....	29
a) Diabetes mellitus.....	30
b) Tabaquismo.....	31
c) Hipertensión arterial.....	32
d) Dislipidemia.....	33
1.3.3 Sintomatología y formas clínicas	34
a) Angina crónica estable	36
1.3.4 Síndrome coronario agudo	37
a) SCASEST	38
b) SCACEST.....	40

c) Pronóstico y estratificación del riesgo en el SCA.....	41
1.4 Bases genéticas del envejecimiento cardiovascular. Papel de los telómeros y la telomerasa.....	43
1.4.1 Telómeros, telomerasa y aterosclerosis	43
1.4.2 Telómeros, telomerasa y enfermedad cardiovascular	45
a) Enfermedad coronaria	45
b) Insuficiencia cardíaca	47
c) Factores de riesgo cardiovascular	48
2 HIPÓTESIS	50
3 OBJETIVOS.....	52
3.1 Principal	53
3.2 Secundarios.....	53
4 IMPORTANCIA DEL ESTUDIO	54
5 MATERIAL Y MÉTODOS	56
5.1 Diseño y población de estudio	57
5.2 Definición de SCA.....	57
5.3 Variables estudiadas.....	58
5.3.1 Variables medidas al ingreso	58
5.3.2 Variables medidas en el seguimiento.....	59
5.4 Extracción de DNA	59
5.5 Medición de la longitud telomérica.....	60
5.6 Análisis de los polimorfismos TERC-63G>A (rs2293607) y TERT-1327C>T (rs2735940).....	64

5.7	<i>Análisis estadístico</i>	67
6	RESULTADOS	69
6.1	<i>Descripción de la muestra</i>	70
6.1.1	Características basales de la población	70
6.1.2	Medición de la longitud telomérica	71
6.1.3	Estudio de los polimorfismos de la telomerasa	71
6.1.4	Características de la enfermedad coronaria	72
6.1.5	Presentación de eventos en el seguimiento	73
	a) Estancia hospitalaria	73
	b) Seguimiento a largo plazo	73
6.2	<i>Contraste de hipótesis</i>	74
6.2.1	Relación de la longitud telomérica con la presencia de factores de riesgo cardiovascular	74
6.2.2	Relación entre longitud telomérica y características de la enfermedad coronaria	76
	a) Forma de presentación	76
	b) Tamaño del infarto	76
	c) Gravedad de la enfermedad coronaria	77
6.3	<i>Relación entre longitud telomérica y los sucesos cardiovasculares</i>	77
6.3.1	Estancia hospitalaria	77
	a) Mortalidad hospitalaria	78
	b) Angina recurrente durante la hospitalización	79
	c) Evento combinado intrahospitalario	80
6.3.2	Seguimiento a largo plazo	81
	a) Mortalidad	82
	b) Angina recurrente	83

c) Necesidad de revascularización	84
d) Insuficiencia cardiaca	86
e) Evento combinado	87
6.4 <i>Análisis de los polimorfismos de la telomerasa</i>	91
6.4.1 Modelo general	92
a) TERC-63G>A (rs2293607)	92
b) TERT-1327C>T (rs2735940)	93
6.4.2 Modelo dominante	94
a) TERC-63G>A (rs2293607)	94
b) TERT-1327C>T (rs2735940)	96
7 DISCUSIÓN	98
7.1 <i>Análisis de la población estudiada. Relación con otras series</i>	99
7.1.1 Características basales.....	99
7.1.2 Manejo hospitalario.....	100
7.2 <i>Presentación de sucesos cardiovasculares adversos</i>	102
7.2.1 Sucesos cardiovasculares adversos durante la hospitalización	102
a) Tasas de presentación	102
b) Determinantes de mortalidad y angina recurrente	103
7.2.2 Sucesos cardiovasculares adversos durante el seguimiento.....	105
a) Tasas de presentación	105
b) Determinantes de mortalidad y otros eventos desfavorables en el seguimiento.....	107
7.3 <i>Estudio de la longitud telomérica</i>	110
7.3.1 Técnica de medida	110
7.3.2 Relación con factores de riesgo cardiovascular	111
7.3.3 Relación con características de la enfermedad coronaria	113

7.3.4	Relación con sucesos cardiovasculares adversos.....	113
7.4	<i>Análisis de los polimorfismos de la telomerasa.....</i>	<i>116</i>
7.4.1	Técnica de medida	116
7.4.2	Relación con la cardiopatía isquémica: factores de riesgo y pronóstico intrahospitalario y en el seguimiento.....	118
8	CONCLUSIONES.....	120
9	LIMITACIONES	122
10	BIBLIOGRAFÍA.....	125
11	ANEXO	163
11.1	<i>Comunicaciones científicas</i>	<i>164</i>
11.1.1	Congresos internacionales.....	164
11.1.2	Congresos nacionales.....	164
11.1.3	Congresos regionales	165
11.2	<i>Artículos publicados en revistas científicas.....</i>	<i>167</i>

1 INTRODUCCIÓN

1.1 El proceso del envejecimiento

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS)¹, el envejecimiento es el conjunto de modificaciones morfológicas y fisiológicas que aparecen como consecuencia de la acción del tiempo sobre los seres vivos, que supone una disminución de la capacidad de adaptación en cada uno de los órganos, aparatos y sistemas, así como de la capacidad de respuesta a los agentes lesivos que inciden en el individuo.

La esperanza de vida del ser humano ha aumentado significativamente en los últimos años, un logro en parte atribuible al avance en las políticas de salud pública y del estado de bienestar, pero también un reto para una sociedad que debe adaptarse a esta nueva realidad. Con el envejecimiento, comienza una serie de procesos de deterioro paulatino de órganos y sus funciones asociadas. Muchas enfermedades, como ciertos tipos de demencia, enfermedades articulares, cardíacas y algunos tipos de cáncer se asocian al proceso del envejecimiento; todo ello ha suscitado el creciente interés de la investigación médica en el conocimiento de los mecanismos implicados en el proceso al que llamamos “envejecer”.

1.1.1 Datos estadísticos

En España, el descenso de la mortalidad y el aumento en la esperanza de vida, junto con el descenso del número de nacimientos, están invirtiendo la pirámide de la población, que se refleja en un aumento progresivo de la edad media de la población española, con las consecuencias socio-sanitarias que este hecho ocasiona.

Datos del Instituto Nacional de Estadística² reflejan que la media de edad de la población en España es hoy casi 10 años mayor que la de 1975 (figura 1). Este hecho se debe principalmente al aumento significativo en la esperanza de vida que se ha acelerado en la última década debido a los avances sociales, económicos y sanitarios acontecidos en estos años (figura 2). Este cambio demográfico se vislumbra mejor cuando estudiamos el índice de envejecimiento, es decir, el número de personas mayores de 65 años que viven en España por cada 100 personas menores de 15 años. Este índice era de 35 en 1975 mientras que hoy hay 108 ancianos por cada 100 niños (figura 3).

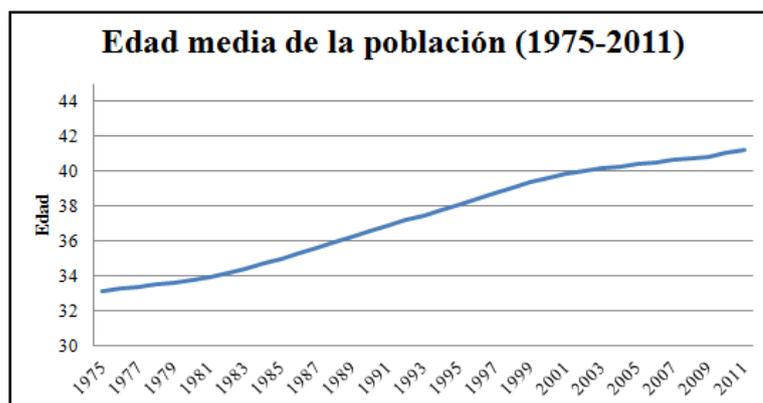


Figura 1.- Edad media de la población española (1975-2011)



Figura 2.- Esperanza de vida al nacimiento en España en la última década

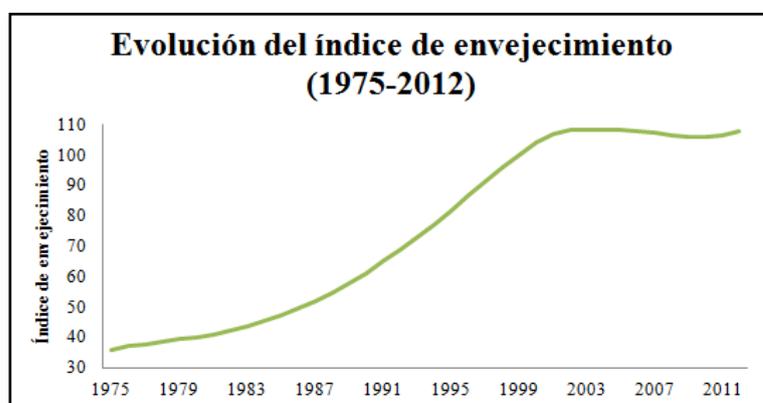


Figura 3.- Índice de envejecimiento en España (1975-2012)

A escala mundial los datos son semejantes. Según la OMS¹, la esperanza de vida ha aumentado 20 años desde 1950 y es ahora de 66 años, previéndose que para el año 2050 haya aumentado otros 10 años. Debido a esto, el número de personas de más de 60 años, que era de alrededor de 600 millones en el año 2000, llegará a casi 2.000 millones en el 2050. Este envejecimiento poblacional será más acusado en países en vías de desarrollo donde la población de edad se cuadruplicará en los próximos 50 años.

Una transformación demográfica mundial de este tipo tiene profundas consecuencias para cada uno de los aspectos de la vida individual, comunitaria, nacional e internacional. Todas las facetas de la humanidad (sociales, económicas, políticas, culturales, psicológicas y espirituales) experimentarán una importante transformación.

1.1.2 Teorías del envejecimiento

Las investigaciones sobre los aspectos biológicos, epidemiológicos y demográficos del envejecimiento han generado multitud de teorías acerca de las causas y procesos que determinan el envejecimiento y su consecuencia inevitable, la muerte. Sin embargo, en los últimos años se ha desestimado que una sola etiología, como un determinado gen o la disfunción de un determinado sistema, ocasione el envejecimiento sino que éste es consecuencia de un proceso complejo y multifactorial³. En este sentido, se han descrito docenas de teorías que hoy en día no se consideran mutuamente excluyentes sino que explican cada una determinados aspectos del envejecimiento.

Las teorías evolucionistas relacionan el proceso del envejecimiento con la selección natural. De esta forma, el envejecimiento y la longevidad son específicos de cada especie y dependen de las presiones del entorno. Algunos autores evolucionistas entienden que el envejecimiento está provocado por el efecto combinado de muchos genes pleiotrópicos, cada uno de los cuales tendría un efecto beneficioso al principio de la vida del organismo, siendo más tarde adverso. Esta teoría está apoyada por experimentos realizados en *Drosophila* en la que, al eliminar células germinales, los individuos son más longevos, es decir, existe un antagonismo entre fertilidad y longevidad⁴. Este hecho también se observa en humanos, de tal forma que por ejemplo los andrógenos regulan el crecimiento y desarrollo de la próstata a edades tempranas pero, en los ancianos, estas mismas hormonas contribuyen a la aparición del cáncer de próstata, una de las causas más frecuentes de muerte en este sector de la población⁵.

Otros autores sin embargo señalan mecanismos moleculares como los determinantes del envejecimiento, de tal forma que la longevidad dependería de cambios en la expresión génica. Uno de los descubrimientos que apoyan esta teoría es la reciente descripción de un factor de transcripción que regula la esperanza de vida de diferentes especies como los ratones, las moscas y los gusanos⁶. Además, estudios en humanos han puesto de manifiesto que determinados genes localizados en el cromosoma 4 promueven la longevidad⁷. Sin embargo, aunque se conoce que algunos

genes modifican su expresión a lo largo de la vida, es poco probable que este mecanismo regule la senescencia de forma exclusiva⁸.

Los defensores de las teorías neuroendocrinas afirman que el envejecimiento es consecuencia directa de la pérdida de función de los sistemas neurológico y hormonal, que son fundamentales para mantener la homeostasis y la supervivencia. Estos sistemas actuarían como “relojes biológicos” encargados de responder mediante señales neuroendocrinas a los cambios en el medio⁹. Dentro de este sistema, el eje hipotálamo-hipofiso-suprarrenal actuaría como el “marcapasos” regulador del envejecimiento. A lo largo de la vida, la exposición crónica a estímulos estresantes ya sean emocionales, físicos o biológicos provocarían el debilitamiento del sistema y conducirían a la aparición de enfermedades y la muerte.

a) Envejecimiento celular

Hoy en día sin embargo, la teoría preponderante es la del envejecimiento celular. Envejecemos porque las macromoléculas que componen nuestro organismo (ácidos nucleicos, proteínas y lípidos) van acumulando daños que provocan progresivamente su pérdida de función. Debido a estas alteraciones, el funcionamiento normal de las células se modifica y ello causará a su vez la disfunción de los diferentes órganos. Nuestro organismo es un sistema dinámico, en estado de degradación y reparación permanente. El envejecimiento corresponde a una ruptura de ese equilibrio cuando la acumulación de daños sobrepasa la capacidad de reparación. Para entender este proceso es necesario conocer dos conceptos: el estrés oxidativo y la senescencia celular.

El proceso normal de producción de energía en nuestras células, esencial para mantener las funciones vitales, tiene lugar en el interior de las mitocondrias. Sin embargo, de forma colateral, durante este proceso se generan especies reactivas del oxígeno que son compuestos moleculares inestables, extremadamente reactivos que alteran todos los componentes celulares (ácidos nucleicos, proteínas y lípidos)¹⁰. El DNA contenido en el interior de las mitocondrias está mucho más expuesto que el DNA del núcleo, ya que está más próximo a la fuente de los radicales libres de oxígenos (RLO) y está menos protegido, al carecer de histonas. Puesto que el DNA mitocondrial codifica sobre todo componentes de la maquinaria de producción de energía, estos componentes acumulan alteraciones que contribuyen a disminuir su funcionalidad, lo que produce una disminución de la producción de energía detectable a partir de los 50

años¹¹. Cuando la producción de energía disminuye por debajo de un umbral, la célula se hace incompetente, por lo que se desencadena el proceso de muerte celular por apoptosis, de manera que disminuye el número de células productoras de energía, que contribuye al proceso de envejecimiento¹².

La protección natural frente a los efectos nocivos de los RLO (como el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno o el ion hidroxilo), se realiza a través de mecanismos antioxidantes presentes en el plasma, los fluidos tisulares y las células. Entre ellos destacan sistemas enzimáticos como la superóxido dismutasa¹³ o la catalasa¹⁴ y compuestos de origen alimentario como el ácido ascórbico (vitamina C)¹⁵, los carotenos¹⁶, los tocoferoles (como la vitamina E)¹⁷ y los polifenoles (como la quercetina)¹⁸.

Por tanto, los efectos indeseables de los RLO aparecen cuando las agresiones celulares derivadas de estos superan a los mecanismos reguladores. Se piensa que los RLO están involucrados en varias enfermedades como la Enfermedad de Alzheimer¹⁹ y la artritis reumatoide²⁰; además, su papel en el desarrollo de la aterosclerosis a través de la oxidación de las lipoproteínas es bien conocido²¹. Sobre su influencia en el proceso del envejecimiento, estudios animales corroboran una relación entre el nivel de estrés oxidativo y la longevidad^{22, 23}.

El concepto de senescencia celular se refiere al hecho de que las células somáticas normales tienen una capacidad proliferativa limitada que depende de forma directa de la edad del individuo. A partir de los años ochenta, este fenómeno se ha relacionado de forma directa con la disminución de longitud de los telómeros.

1.1.3 Telómeros y telomerasa

El estudio en este campo cobró notoriedad a partir de 2009 cuando Elisabeth Blackburn, Jack Szostak y Carol Greider fueron galardonados con el Premio Nobel de Medicina por sus investigaciones sobre la estructura y el mantenimiento de los telómeros. Estos científicos descubrieron que los telómeros son secuencias de DNA que protegen a los cromosomas de la erosión y que existe una enzima específica, la telomerasa, encargada de su reparación tras la mitosis^{24, 25}.

Los telómeros consisten en secuencias de DNA situadas en los extremos de los cromosomas (figura 4) que están recubiertas por unas proteínas llamadas shelterinas que

se encargan de evitar su degradación y favorecer su estabilidad^{26, 27}. En las células humanas, los telómeros están formados por cientos de miles de repeticiones en tándem de la secuencia TTAGGG en la hebra conductora²⁸. Su función proteger el genoma frente a la degradación que tiene lugar, de forma natural, durante la replicación de las moléculas lineales de ADN tras completarse cada ciclo de replicación. Durante este proceso, la DNA polimerasa, la enzima encargada de sintetizar la nueva molécula de DNA, precisa de un cebador de RNA con un grupo hidroxilo-3' donante para iniciar la replicación²⁹. Al disociarse del cebador, la DNA polimerasa se mueve sobre la cadena molde dejando atrás un espacio al final de la cadena, es decir, esta enzima es incapaz de copiar los extremos de los cromosomas. Como consecuencia, la nueva hebra sintetizada sería más corta que la original perdiéndose parte de la de información genética codificada en el genoma, un efecto denominado “problema del final de la replicación” (figura 5). Los telómeros aminoran este problema proporcionando una plantilla repetitiva para la reparación enzimática.

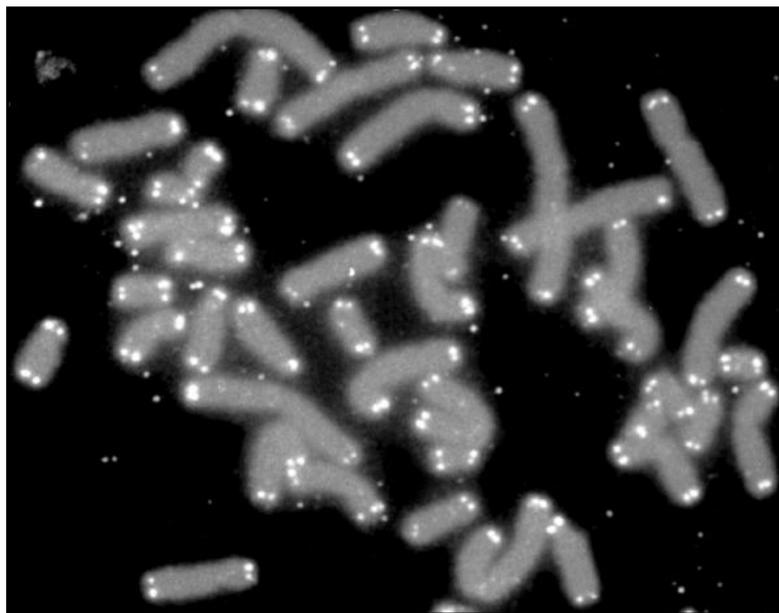


Figura 4.- Telómeros en los extremos de los cromosomas visualizados con FISH (*fluorescence hybridization in situ*)

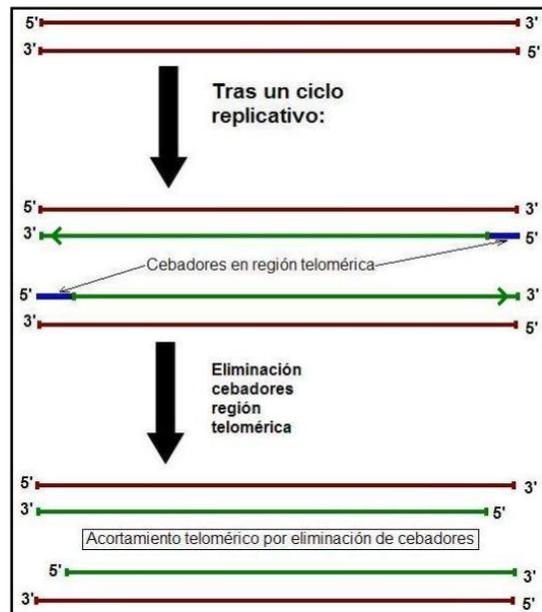


Figura 5.- Problema del final de la replicación

Como hemos comentado anteriormente, los extremos de los cromosomas lineales no pueden ser replicados por la DNA polimerasa en condiciones normales, por lo tanto se requiere un mecanismo especial. Estas secuencias cromosómicas terminales son los telómeros y se replican mediante la acción de una enzima específica, la telomerasa, que es capaz de mantener estables los telómeros catalizando su síntesis sin necesidad de una hebra molde de DNA. Esta enzima se compone de dos partes (figura 6), una con actividad catalítica de polimerasa reversa, *Telomeric End Reverse Transcriptase* (TERT) y un fragmento de RNA complementario a las repeticiones teloméricas, *Telomerase RNA Component* (TERC)^{30, 31}. La transcriptasa inversa usa el componente de RNA como molde para sintetizar múltiples copias de las secuencias de DNA telomérico y así evitar el acortamiento cromosómico.

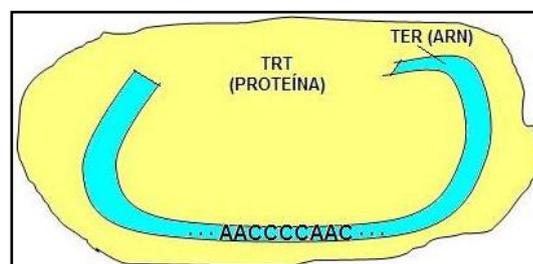


Figura 6.- Estructura de la telomerasa con sus dos componentes, TERT y TERC

Sin embargo, la expresión de la telomerasa en los mamíferos está restringida a ciertas etapas tempranas del desarrollo embrionario y, en adultos, a determinados compartimentos de las células madre adultas y los linajes celulares altamente

proliferativos, como son los linfocitos, los queratinocitos o las células germinales³². Es por esto que los telómeros se acortan progresivamente en cada división causando inestabilidad genómica hasta un punto, el límite de Hayflick, en el cual se desencadenan mecanismos de fin de proliferación, senescencia y apoptosis³³⁻³⁵. Por lo tanto, la longitud telomérica se relaciona de forma inversa con el envejecimiento celular.

a) Regulación de la longitud telomérica

Existen varios factores que conducen al acortamiento telomérico y por lo tanto aceleran el envejecimiento celular. Estos factores pueden ser endógenos o ambientales.

Entre los factores endógenos es necesario citar en primer lugar la edad biológica³⁶ y la división celular³⁷ ya que han sido tradicionalmente los mejor estudiados. Sin embargo, existen otros factores estudiados más recientemente que merece la pena mencionar. Se han descrito síndromes de envejecimiento prematuro que se producen por mutaciones en los componentes de la telomerasa (TERC y TERT) en el caso de la disqueratosis congénita²⁹ y en el gen WRN en el caso del Síndrome de Werner³⁸ que dan lugar a telómeros extremadamente cortos; estos pacientes presentan aterosclerosis, tumores y otras patologías asociadas a la vejez a edades muy tempranas. Se han descrito también polimorfismos que afectan tanto a TERT como a TERC y que condicionan por tanto la función de la telomerasa. Entre los más estudiados destacan TERC-63G>A (rs2293607) y TERT-1327C>T (rs2735940) cuyos alelos G y C se relacionan con una menor actividad de la enzima^{39, 40}. Además, otras mutaciones como las que afectan a las sirtuinas, enzimas involucradas en mecanismos de resistencia al estrés oxidativo, se han relacionado también con una menor longitud telomérica y aparición de envejecimiento prematuro⁴¹.

Aparte de factores genéticos, tanto el estrés oxidativo⁴² como la inflamación⁴³ son dos factores importantes en el acortamiento telomérico y es por este mecanismo por el cual influyen principalmente en el proceso del envejecimiento. Por último, es obligado mencionar también que recientemente se ha asociado un nivel elevado de colesterol plasmático con una menor longitud telomérica⁴⁴.

Además de estos factores que conducen a un acortamiento telomérico progresivo, existen otros mecanismos endógenos involucrados en el mantenimiento de la longitud telomérica. Entre ellos destacan, aparte de la actividad de la telomerasa, los antioxidantes y los estrógenos. La superóxido dismutasa ha sido el factor antioxidante

más relacionado con el mantenimiento de la longitud telomérica⁴²; sin embargo, no existen datos disponibles actualmente acerca de cómo emplear este hecho con el objeto de retrasar artificialmente la erosión telomérica. Los estrógenos promueven la actividad de la telomerasa⁴⁵, hecho que explica por qué las mujeres tienen habitualmente telómeros más largos que los hombres de su misma edad.

Acerca de los factores ambientales implicados en la regulación de la longitud telomérica, la información es diversa aunque poco concluyente. Entre los factores más estudiados destacan algunos factores de riesgo cardiovascular como el tabaquismo⁴⁶ y la obesidad⁴⁷. Sin embargo, aunque de una forma menos consistente, multitud de factores han sido asociados con una menor longitud telomérica como por ejemplo el consumo excesivo de alcohol⁴⁸ o factores psicosociales como el estrés⁴⁹ o el hecho de haber sufrido maltrato en la infancia⁵⁰. Los mecanismos que ayudan a evitar la erosión telomérica son más escasos aunque al parecer la administración de algunos tratamientos como estatinas⁵¹, complejos vitamínicos⁵², ácidos grasos omega-3⁵³ o terapia hormonal sustitutiva con estrógenos⁴⁵ pueden frenar el acortamiento telomérico y por lo tanto el envejecimiento celular.

b) Telómeros y telomerasa en el envejecimiento biológico

Existe una gran variabilidad inter e intraindividuos en la forma de envejecimiento que afecta a las funciones cognitiva, sensorial y motora. Esta variabilidad se encuentra en individuos de la misma edad, lo que pone de manifiesto que la edad cronológica es una medida imprecisa del estado funcional y de salud un determinado individuo^{54, 55}. Las células humanas tienen una vida limitada determinada entre otras cosas, por la erosión telomérica, de modo que mientras que las células humanas normales no transformadas son mortales porque los telómeros se acortan en cada división³⁵, las células cancerígenas con una elevada actividad de la telomerasa son inmortales debido a la estabilidad de sus telómeros^{56, 57}. Estos hallazgos sugieren que los telómeros actúan como un reloj biológico que incide en el envejecimiento, una hipótesis sustentada en estudios realizados en ratones en los que la supresión de la actividad de la telomerasa se asoció con una pérdida prematura de la viabilidad en sus órganos⁵⁸.

En humanos, los telómeros se acortan con la edad cronológica en numerosos tejidos como las células sanguíneas, la piel, el riñón...⁵⁹, sin embargo este acortamiento

es discontinuo en el tiempo⁶⁰ y hay tejidos como el cerebro y el miocardio que no presentan acortamiento telomérico⁶¹. La observación de que los telómeros están involucrados en el envejecimiento celular y biológico lleva a considerarlos como biomarcadores de envejecimiento⁶². En apoyo de esta teoría destacan los numerosos estudios que relacionan una longitud telomérica corta con enfermedades crónicas y síndromes de envejecimiento prematuro como la disqueratosis congénita⁶³ y el Síndrome de Werner⁶⁴.

Además, los telómeros se han relacionado también con la mortalidad. En varios estudios, los individuos con longitud telomérica más corta han mostrado mayor tasa de muerte, especialmente por enfermedad cardiovascular e infecciones^{65, 66}. Sin embargo, estas diferencias no son tan evidentes al examinar poblaciones de edades más avanzadas ya que, aunque algunos autores han publicado que la relación se mantiene⁶⁷, otros trabajos que estudian población anciana (por encima de los 75 años) descartan esta asociación⁶⁸ e, incluso, señalan a la edad biológica como mejor marcador de envejecimiento⁶⁹.

A pesar de estos hallazgos, la posibilidad de que la longitud telomérica se relacione con el envejecimiento “normal” y no sea una simple consecuencia de las enfermedades asociadas está aún en cuestión. Para ser considerada un marcador de envejecimiento, la longitud telomérica debe relacionarse con los procesos que subyacen al envejecimiento como el deterioro cognitivo, sensorial y motor. Sobre este punto existen pocos estudios aunque sí que hay cierta evidencia acerca de su papel en la función cognitiva^{70, 71}.

Por lo tanto, los datos que soportan la creencia de que la longitud telomérica es un marcador fiel de envejecimiento no son definitivos y los trabajos disponibles muestran resultados en ocasiones contradictorios. Una de las razones que podía justificar este hecho es que quizás existan otros marcadores relacionados como la longitud del telómero más corto o la tasa de acortamiento de los telómeros que reflejen más fielmente el proceso del envejecimiento⁶².

Además de la longitud telomérica, la actividad de la telomerasa también se ha relacionado con el envejecimiento. En un estudio realizado en ratones que habían sido modificados para promover la expresión de la telomerasa, la mortalidad era mayor en un primer momento debido al desarrollo de tumores⁷² pero, sin embargo, en los

supervivientes se encontró una menor mortalidad que en el grupo control⁷³. En los estudios postmortem, no se detectó una longitud telomérica significativamente mayor en aquellos ratones modificados por lo que el efecto de la telomerasa en el envejecimiento debe deberse a otros factores añadidos⁷³.

Se objetivó que en los ratones la sobreexpresión de la telomerasa se relacionaba con menor índice de atrofia testicular y ovárica y menor número de lesiones renales⁷³ lo cual es de una gran importancia ya que la insuficiencia renal es una de las mayores causas de morbimortalidad en humanos. Otros estudios han revelado que la sobreexpresión de la telomerasa favorece la degradación del TGF beta que está implicado en enfermedades renales⁷⁴. Por otro lado, se ha relacionado la telomerasa con efectos antiapoptóticos especialmente en los miocitos cardiacos⁷⁵ y en células de estirpe neuronal⁷⁶, lo que se traduce en una mejoría en la regeneración tisular. Por todo esto, parece que la telomerasa tiene efectos antienvjecimiento a varios niveles aunque los mecanismos concretos a través de los cuales actúa están aún en estudio⁷⁷.

c) Relación con las enfermedades humanas

El complejo telómeros-telomerasa fue relacionado de forma casual con las enfermedades humanas cuando se detectaron mutaciones en el gen DKC1, que codifica para una proteína del complejo de la telomerasa llamada disquerina, en la disqueratosis congénita, una forma rara de aplasia medular^{78, 79}. Esta enfermedad se caracteriza por atrofia ungueal, hiperpigmentación cutánea y leucoplaquia oral; aunque estos son los signos más frecuentes en la infancia, el pronóstico de la enfermedad viene marcado por la aparición de anemia aplásica en la primera o segunda década de la vida que suele ser fatal⁸⁰. Además, la disqueratosis congénita implica un aumento en la susceptibilidad a padecer tumores de diferentes estirpes, por lo que se debe plantear una adecuada estrategia de prevención primaria y detección precoz en todos los pacientes⁸¹.

Tras el descubrimiento de mutaciones en DKC1, se observó una longitud telomérica muy corta en los pacientes con disqueratosis congénita. Además de mutaciones en DKC1, localizado en el cromosoma X, se describieron otros genes implicados en las formas de herencia autosómica que daban lugar a mutaciones en TERC y TERT, otras proteínas del complejo telomerasa⁸² y recientemente en las shelterinas lo cual provoca telómeros extremadamente cortos⁸³. Aunque no existe una relación clara entre genotipo y fenotipo, la longitud telomérica sí tiene implicaciones en

los pacientes con disqueratosis congénita ya que se ha visto que los pacientes con los telómeros más cortos tienen formas más agresivas de la enfermedad y, además, algunas familias presentan un empeoramiento creciente en la forma de presentación generación tras generación por el acortamiento progresivo de los telómeros en las células germinales⁸⁴.

El 10% de los pacientes con formas adquiridas de anemia aplásica presentan mutaciones en genes teloméricos⁸⁵. Estas mutaciones se asocian con una longitud telomérica menor, especialmente en los leucocitos, así como con una disminución en la actividad de la telomerasa. Los pacientes que presentan telómeros más cortos tienen una médula ósea más hipocelular y en ocasiones se han asociado con fallo del injerto²⁹.

La fibrosis pulmonar se caracteriza clínicamente por tos y disnea objetivándose en las pruebas diagnósticas disminución del volumen pulmonar y alteraciones en el intercambio gaseoso. En muchos pacientes con disqueratosis congénita se detecta fibrosis pulmonar como complicación en el curso de la enfermedad⁸⁰; esta asociación ha llevado a detectar mutaciones en los genes teloméricos en hasta el 15% de los pacientes con fibrosis pulmonar idiopática familiar⁸⁶. Además, también se han descrito mutaciones en la telomerasa en pacientes con formas esporádicas de la enfermedad⁸⁷. En cualquier caso, los pacientes con fibrosis pulmonar presentan con más frecuencia telómeros cortos que mutaciones claramente identificadas lo que hace suponer la existencia de alteraciones genéticas aún no descritas⁸⁸.

Algunos pacientes con disqueratosis congénita presentan complicaciones hepáticas tras el trasplante de médula ósea⁸⁹ y además la cirrosis hepática complica frecuentemente la evolución de los pacientes con fibrosis pulmonar⁹⁰. Estos datos han permitido detectar alteraciones teloméricas en pacientes con hepatopatía⁹¹. La afectación hepática asociada a mutaciones en TERC y TERT suele consistir en fibrosis con inflamación e hiperplasia nodular regenerativa que conduce a hipertensión portal no cirrótica⁹².

Diversos estudios han puesto de manifiesto que la erosión telomérica es un mecanismo que provoca la ganancia o pérdida de cromosomas, que es uno de los procesos relacionados en la oncogénesis⁹³. En ratones *knockout* (TERC -/-), el acortamiento telomérico daba lugar a inestabilidad cromosómica a través de fusiones

entre los extremos, lo que conlleva, especialmente en aquellos que eran también deficientes en p53, a la aparición de multitud de estirpes tumorales diferentes⁹⁴.

En este contexto, la longitud telomérica se ha relacionado con diversos tipos de tumores sólidos. El hallazgo de telómeros cortos en el cáncer colorrectal sugiere que este factor está relacionado con la génesis tumoral y la inestabilidad genética de las células malignas⁵⁶. Este hecho se corroboró al comprobar que la presencia de telómeros cortos en células no displásicas de pacientes con colitis ulcerosa se asociaba con el desarrollo de cáncer colorrectal⁹⁵. Además, en pacientes con esófago de Barret, la longitud telomérica está relacionada de forma inversa con el riesgo de presentar cáncer de esófago en el seguimiento⁹⁶. Aparte de en el cáncer colorrectal y el de esófago, una longitud telomérica corta se ha involucrado en el riesgo de padecer diversos tipos de tumores sólidos, aunque no siempre ya que, por ejemplo, el cáncer de mama es una excepción⁹⁷. También los polimorfismos de la telomerasa han sido estudiados como factores predisponentes de determinados tumores, así el alelo C del polimorfismo TERT-1327C>T (rs2735940) se ha relacionado con el desarrollo de cáncer de pulmón⁹⁸ y el polimorfismo TERC-63G>A (rs2293607) ha sido estudiado en pacientes con cáncer colorrectal⁹⁹.

Los tumores hematológicos también se han relacionado con los telómeros en diversos estudios. En pacientes con aplasia medular, los telómeros cortos fueron el predictor de mayor importancia de transformación clonal a síndrome mielodisplásico y leucemia aguda mieloide. Además, la leucemia mieloide aguda aparece con mayor frecuencia en pacientes con disqueratosis congénita que en la población general y en estos casos, mutaciones en TERT se asociaron de forma consistente con anomalías citogenéticas¹⁰⁰.

Grandes estudios poblacionales han encontrado asociaciones entre polimorfismos de TERT y diversos tipos de tumores entre los que se encuentran el carcinoma basocelular, el carcinoma de cérvix, de próstata o de pulmón aunque el incremento del riesgo era relativamente pequeño¹⁰¹. Todos estos tumores se relacionan con factores ambientales, por lo que los polimorfismos podían suponer una susceptibilidad a padecer la enfermedad, siendo estos factores ambientales los desencadenantes del proceso.

1.2 Enfermedad aterosclerótica como manifestación del envejecimiento

1.2.1 Concepto y recuerdo histórico

El término aterosclerosis proviene de dos palabras griegas, *athéro-* (pasta) y *sklerós* (duro) y según el diccionario de la Real Academia Española de la Lengua en su 22ª edición se define como un “endurecimiento de los vasos sanguíneos, en especial de ciertas arterias, por la formación de ateromas”¹⁰². A su vez, ateroma se define como la “acumulación local de fibras y lípidos, principalmente colesterol, en la pared interna de una arteria, con estrechamiento de su luz y con posible infarto del órgano correspondiente”¹⁰².

La aterosclerosis constituye un grave problema de salud y, de hecho, es la causa más frecuente de muerte e incapacidad en el mundo desarrollado, habiendo desplazado en el último siglo a las enfermedades infecciosas, como resultado de la mejora en los hábitos higiénico-sanitarios. Su desarrollo es discontinuo en el tiempo, siendo asintomática habitualmente en las primeras décadas de la vida¹⁰³ y manifestándose de forma diversa en cada individuo a partir de la cuarta o quinta década¹⁰⁴. Las manifestaciones clínicas de la aterosclerosis son muy variadas y afectan a todos los sistemas vasculares del organismo.

Aunque tradicionalmente se ha relacionado la aterosclerosis a los cambios del estilo de vida asociados con la revolución industrial, en realidad la enfermedad aterosclerótica ha estado presente desde los albores de la humanidad. Un trabajo reciente ha demostrado la presencia de manifestaciones ateroscleróticas en el 60% de los especímenes de momias de 4000 años de antigüedad y el mismo estudio demuestra la relación entre la extensión de la aterosclerosis y la edad del fallecimiento del individuo¹⁰⁵.

El estudio de la aterosclerosis se inició en el siglo XV cuando Leonardo da Vinci afirmó que “los vasos sanguíneos de los ancianos dificultan el paso de la sangre mediante el engrosamiento de las paredes”¹⁰⁶. Más adelante, en 1768, el británico William Heberden describió los síntomas típicos de la angina de pecho¹⁰⁷ y en el año 1799 el también británico Caleb Hillier Parry, mientras realizaba experimentos en ovejas sobre la circulación sanguínea, descubrió durante una autopsia una sustancia arenosa en la luz de las arterias coronarias. En un primer momento pensó que algo de yeso había caído del techo, pero posteriormente observó que aquella sustancia provenía

de las propias arterias¹⁰⁸. El primer caso de muerte atribuible a la aterosclerosis coronaria no se comunicó hasta 1844, cuando en la autopsia del artista danés Bertel Thorvaldsen, que murió de forma súbita en Teatro Real de Copenhague, se describió la presencia de varias placas ateromatosas en la arteria coronaria izquierda, una de ellas “claramente ulcerada que vertía su contenido en la luz arterial”.

A finales del siglo XVIII dos teorías dominaban el discurso sobre la verdadera etiología de la aterosclerosis: la teoría trombogénica defendida por Carl von Rokitansky y la inflamatoria propuesta por Rudolf Virchow¹⁰⁹. El primero aseveraba que la placa de ateroma provenía de la degradación de productos de la fibrina y otras proteínas que se depositaban en la pared del vaso sanguíneo. Por otro lado, Virchow afirmaba que el origen de la aterosclerosis se encontraba en un proceso inflamatorio, originado por daño mecánico directo, en la íntima de la arteria y que, posteriormente, se producía una reacción fibrótica reactiva que recubría y endurecía la pared arterial. Posteriormente, las bases de la teoría inflamatoria de Virchow han seguido vigentes y sirvieron, ya en el siglo XX, para que Russel Ross postulase que la aterosclerosis se debía a un daño focal sobre el endotelio que daba lugar a una cascada de adherencia y agregación plaquetaria¹¹⁰.

1.2.2 Fisiopatología

Actualmente sabemos que el fenómeno de la aterosclerosis afecta a todo el árbol circulatorio, especialmente a arterias de mediano y gran calibre¹¹¹. Estas arterias tienen una capa interna, llamada íntima, que juega un papel crucial en el desarrollo de la aterosclerosis y está formada por células endoteliales que tienen capacidad antitrombótica. La íntima descansa sobre una membrana basal rica en colágeno y células musculares lisas. Bajo esa membrana basal se encuentra la capa media, clave en las grandes arterias porque soporta toda la energía de la sístole ventricular. Separada de la capa media mediante la lámina elástica externa, se encuentra la capa más externa o adventicia que contiene colágeno, pequeños vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas fundamentales para mantener la dinámica vascular. La estructura de la pared arterial se esquematiza en la figura 7.

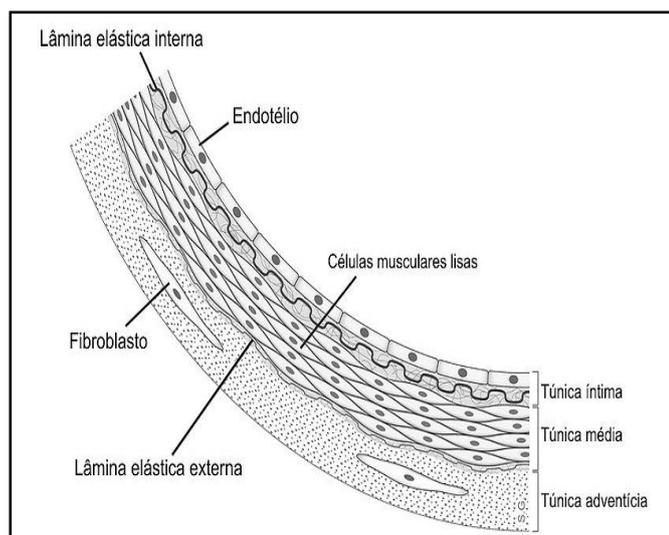


Figura 7.- Esquema de las capas de la pared arterial

Gracias a estudios experimentales, hoy se conoce que la aterosclerosis comienza con el desarrollo de la estría grasa¹¹². De hecho, la dislipidemia favorece el acúmulo de lipoproteínas de baja densidad (*low density proteins*, LDL) en la capa íntima arterial, tanto por un aumento de permeabilidad de la pared arterial (por efecto directo de los factores de riesgo cardiovascular, como la hipertensión arterial) como por la unión de estas LDL a factores propios de la matriz extracelular, como los proteoglicanos, especialmente el biglicano. Esta sustancia es capaz de unir no sólo LDL sino otras lipoproteínas como lipoproteínas de muy baja densidad (*very low density proteins*, VLDL), lipoproteínas de alta densidad (*high density proteins*, HDL) o la apolipoproteína E. Una vez en el espacio extracelular de la íntima arterial, las LDL unidas a las macromoléculas de la matriz sufren modificaciones químicas consistentes sobre todo en procesos de glucosilación no enzimática favorecida por la hiperglucemia mantenida que experimentan los pacientes diabéticos y otros de oxidación que inducen la producción de radicales libres.

El siguiente paso en la formación de la placa aterosclerótica es el reclutamiento de los leucocitos, especialmente monocitos y linfocitos que se adhieren a la superficie endotelial pasando posteriormente a la íntima¹¹³. Este proceso es iniciado por las lipoproteínas acumuladas en la matriz extracelular de la íntima arterial que han sufrido procesos de modificación química, especialmente oxidación, ya que inducen la liberación de moléculas de adherencia leucocitaria en la superficie endotelial¹¹⁴ tanto de forma directa como a través del desencadenamiento de una respuesta inflamatoria local que da lugar a la liberación de citocinas, como la interleucina (IL)-1 y el factor de

necrosis tumoral (*tumor necrosis factor*, TNF)- α ¹¹⁵ que facilitan a su vez la adherencia leucocitaria. El flujo laminar presente en la mayoría del árbol arterial somete al endotelio vascular a una fuerza de cizallamiento que evita la expresión de moléculas de adhesión leucocitaria¹¹⁶, es por esto que la mayoría de las lesiones ateroscleróticas aparecen en puntos de ramificación o bifurcaciones donde existe una alteración del patrón de flujo sanguíneo. Además, el cizallamiento producido por el flujo laminar induce la liberación de óxido nítrico por las células endoteliales que actúa como mecanismo antiinflamatorio¹¹⁷.

A continuación, los leucocitos que llegan a la estría grasa se dividen y expresan en su superficie receptores depuradores de lipoproteínas modificadas que les permiten fagocitar los lípidos de la estría, pasando entonces a denominarse células espumosas¹¹⁸. Algunas de estas células pueden salir de nuevo al torrente circulatorio y favorecer así la limpieza de lípidos de la pared arterial; sin embargo, cuando la entrada de lípidos en la íntima es superior a la capacidad de limpieza de los fagocitos, una parte de éstos perecen por apoptosis formando el núcleo necrótico característico de la placa de ateroma.

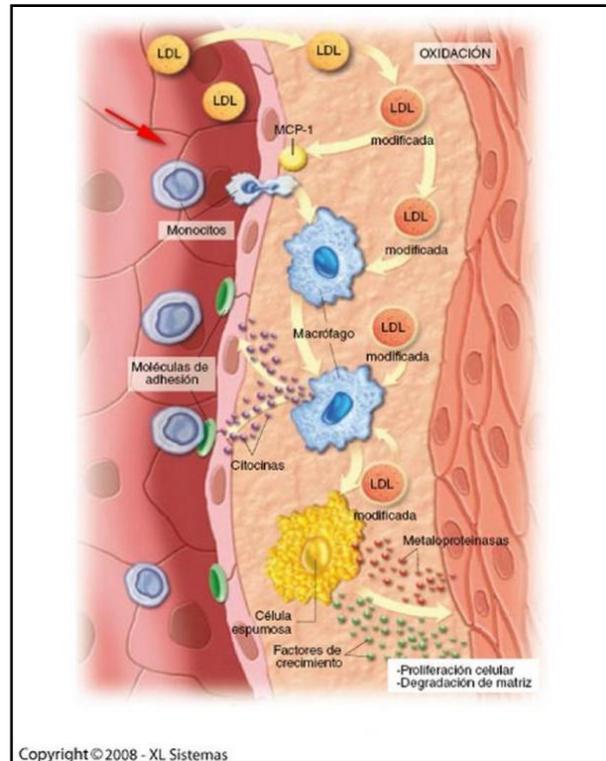


Figura 8.- Adhesión leucocitaria y formación de células espumosas

Una vez establecida la estría grasa, se ponen en marcha otros mecanismos que dan lugar a lesiones más complejas. En primer lugar, factores liberados por los fagocitos cargados de lípidos y por células de la propia pared vascular favorecen la proliferación de células musculares lisas que migran desde la capa media a la íntima y comienzan a sintetizar colágeno y matriz extracelular, transformando la primitiva estría grasa en una lesión fibrosa más evolucionada.

Posteriormente, cuánto más evoluciona la placa, más se acentúa la formación de nuevos plexos microvasculares a partir de los *vasa vasorum* de la adventicia arterial¹¹⁹. Estos neovasos son friables y tienden a romperse, por lo que aparecen microhemorragias que activan la cascada de la coagulación formándose trombina¹²⁰. La trombina actúa como factor acelerante en la liberación de citocinas a partir de las células endoteliales y de los fagocitos, multiplicándose así la respuesta inflamatoria local.

Llegados a este punto, la lesión aterosclerótica puede evolucionar de diferente manera lo que va a condicionar de forma directa las manifestaciones clínicas que presentará el paciente más adelante. En ocasiones, la placa crece lentamente sin alterar el flujo sanguíneo en reposo pero, otras veces, la placa se inestabiliza y se rompe dando lugar a una trombosis intraluminal. No se conocen por completo los factores que favorecen la rotura de una placa, pero estudios histológicos han puesto de manifiesto que las lesiones con tendencia a romperse, conocidas como placas vulnerables, tienen una cápsula fibrosa muy fina, un importante contenido lipídico y un alto número de linfocitos T y macrófagos¹²¹ a la vez que una baja proporción de células musculares lisas.

Al romperse físicamente la placa aterosclerótica, el colágeno de la matriz extracelular se pone en contacto con el torrente sanguíneo ocasionando un efecto trombogénico en el que colabora el factor tisular liberado por las células espumosas de la placa¹²². En la pared arterial existen factores fibrinolíticos como la trombomodulina, la prostaciclina o el óxido nítrico y es en el momento en el que el coágulo supera estos mecanismos antitrombóticos cuando se propaga ocasionando la oclusión de la luz arterial. En otras ocasiones, la fibrosis inducida por la trombina consigue recubrir el coágulo organizándose este en un trombo mural que no ocluye por completo la luz del vaso.

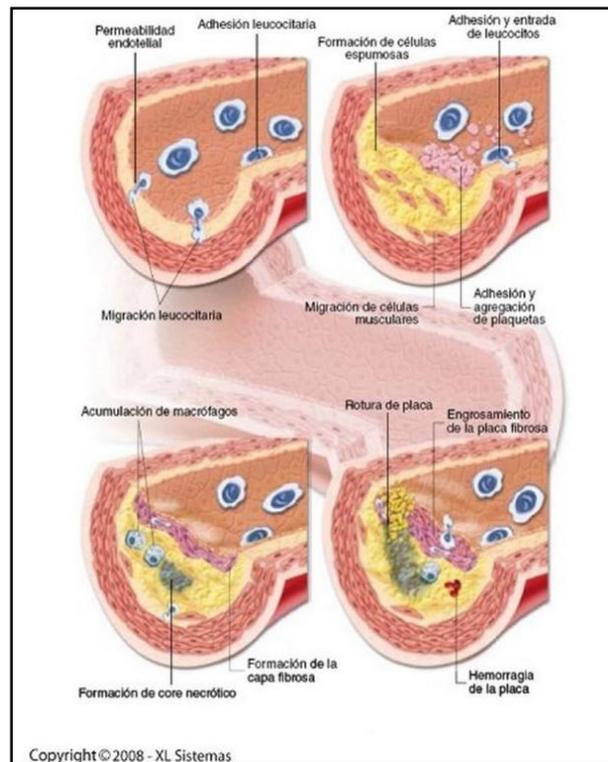


Figura 9.- Resumen de los diferentes estadios de formación de la placa aterosclerótica

1.2.3 Aterosclerosis y envejecimiento

Incluso en ausencia de aterosclerosis, el envejecimiento vascular conlleva engrosamiento de las capas íntima y media (remodelado vascular) y pérdida gradual de la elasticidad¹²³. Además, en los vasos envejecidos se ha detectado una baja proporción de células musculares lisas y un aumento en el depósito de colágeno, lo que provoca mayor rigidez vascular y por lo tanto hipertensión¹²⁴. La propia hipertensión acelera estos cambios y afecta la homeostasis endotelial, lo que se traduce en un incremento en la expresión de moléculas de adhesión y en la permeabilidad vascular apareciendo por tanto una elevada tasa de lipoproteínas en la matriz vascular¹²⁵. Como hemos visto anteriormente, todos estos procesos conducen a la aterosclerosis, por lo que los cambios en la estructura vascular acontecidos durante el envejecimiento fisiológico y la aterosclerosis son superponibles.

Diversas enfermedades genéticas asociadas con envejecimiento prematuro se asocian también con la aparición de aterosclerosis a edades tempranas. En el caso del Síndrome de Hutchinson Gilford o progeria, debido a la mutación en la laminina A, los pacientes presentan un envejecimiento prematuro y acelerado y en sus arterias se han detectado cambios compatibles con un proceso aterosclerótico avanzado¹²⁶. Las

complicaciones cardiovasculares son una de las más frecuentes causas de muerte en estos pacientes. Otro ejemplo es el Síndrome de Werner, otra enfermedad genética que tiene una expresión clínica similar a la progeria. Los pacientes con Síndrome de Werner presentan, además de aterosclerosis a edades tempranas, otros fenómenos relacionados con el envejecimiento vascular como resistencia insulínica o aumento en el depósito de colesterol en las paredes arteriales¹²⁷.

Estos dos trastornos genéticos sirven como ejemplo para ilustrar la íntima conexión que existe entre envejecimiento y aterosclerosis. Es difícil distinguir si el envejecimiento induce aterosclerosis o es la aterosclerosis la que “envejece” las arterias. Probablemente los dos escenarios son compatibles y los cambios sucedan al mismo tiempo de forma recíproca¹²⁸.

1.2.4 Manifestaciones clínicas

Habitualmente la aterosclerosis no produce síntomas hasta que estrecha gravemente la luz arterial o provoca una obstrucción súbita. Las manifestaciones clínicas dependen de donde asiente la enfermedad aterosclerótica:

- Arterias coronarias: cardiopatía isquémica.
- Circulación cerebrovascular: accidente cerebrovascular ya sea isquémico o hemorrágico. También se ha asociado a otros procesos neurológicos como la demencia.
- Arterias de miembros inferiores: claudicación intermitente e isquemia arterial aguda.
- Circulación esplácnica: colitis isquémica.
- Circulación genitourinaria: disfunción eréctil.
- Aorta: aneurisma de aorta y síndrome aórtico agudo.

1.3 Cardiopatía isquémica

La cardiopatía isquémica se refiere al proceso patológico que afecta a las arterias coronarias, habitualmente debido a aterosclerosis. Comprende principalmente la angina estable y el síndrome coronario agudo (SCA). El SCA agrupa a su vez a la angina inestable que se da cuando no hay elevación de marcadores de daño miocárdico (especialmente troponinas) y el infarto agudo de miocardio (IAM) cuando sí la hay. En

los países industrializados, la cardiopatía isquémica es la causa más frecuente de muerte de origen cardiovascular y supone entre el 30 y el 50% de todas las muertes¹²⁹.

1.3.1 Epidemiología

La cardiopatía isquémica es una de las enfermedades más prevalentes y supone además la principal causa de muerte y discapacidad en el mundo desarrollado. Según la última Encuesta de Morbilidad Hospitalaria elaborada por el INE² las enfermedades cardiovasculares fueron la principal causa de ingreso en los hospitales españoles tanto en hombres como en mujeres (excluidos los ingresos relacionados con el parto y el puerperio) en el año 2011, siendo la cardiopatía isquémica la patología más frecuente con una tasa de 268 ingresos por 100.000 habitantes (123.767 personas) seguida de otras enfermedades del sistema circulatorio, enfermedades del aparato digestivo y enfermedades respiratorias.

En cuanto a datos de mortalidad, según el INE², la cardiopatía isquémica en España causó 35.259 muertes en el año 2010, de las cuales, más de la mitad se debieron a un IAM. Estos números hacen de esta patología la principal causa de defunciones en nuestro país en ambos sexos aunque en distinto orden; en el caso de los hombres la causa más frecuente de mortalidad es la cardiopatía isquémica pero, en el caso de las mujeres, es la segunda por detrás de las enfermedades cerebrovasculares. Si prestamos atención a la evolución de la mortalidad por cardiopatía isquémica en nuestro país en los últimos años observamos una tendencia descendente progresiva (figura 10) probablemente debida a los avances en el tratamiento, que incluyen estrategias de revascularización precoz del SCA o mejoras en la prevención secundaria, y a un abordaje más eficaz de los factores de riesgo como prevención primaria¹³⁰. En el caso concreto del IAM, los registros españoles PRIAHMO I y II y MASCARA muestran un descenso de la mortalidad precoz del 12,6% al 6% entre los años 1995 y 2005¹³¹. Por último, deben reseñarse las consecuencias socioeconómicas derivadas de la presencia de esta patología en nuestro país que se traducen en una media de 11,5 años potenciales de vida perdidos de en 2010.

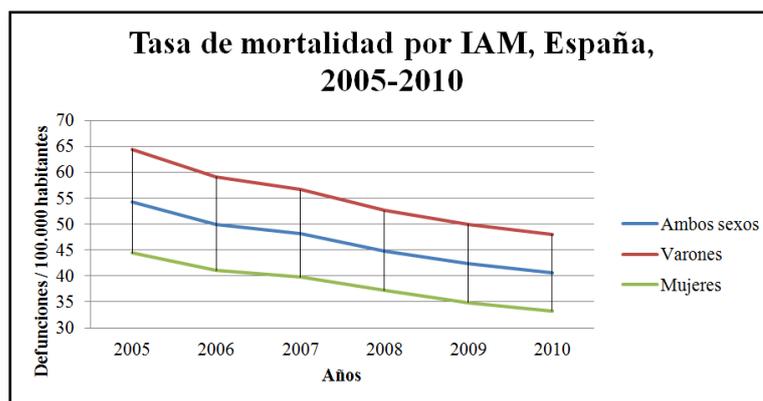


Figura 10.- Tasa de defunciones por IAM en España entre los años 2005 y 2010

Analizando la situación de la cardiopatía isquémica en otras partes del mundo desarrollado, la situación es similar. En el caso de Europa, los últimos datos aportados por Eurostat¹³² correspondientes al año 2009 señalan a las enfermedades cardiovasculares como la principal causa de defunciones con una tasa de 217,3 muertes por 100.000 habitantes, siendo la cardiopatía isquémica la responsable de una mayor mortalidad entre todas ellas originando 79,8 defunciones por cada 100.000 habitantes. Sin embargo, al igual que en España, en el conjunto de Europa la mortalidad ha descendido paulatinamente en la última década (figura 11).

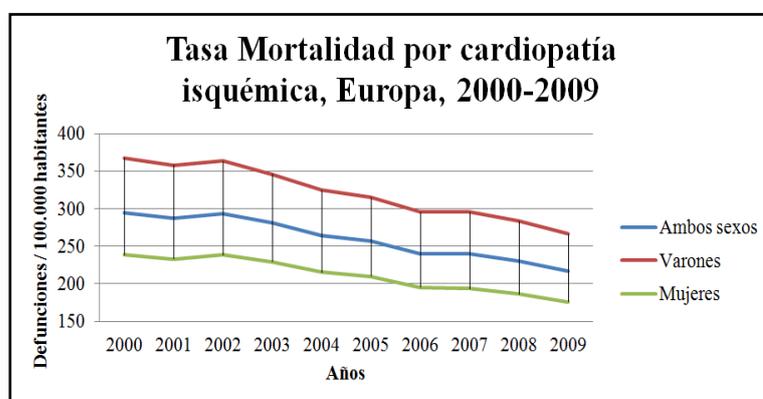


Figura 11.- Tasa de defunciones por en cardiopatía isquémica en Europa entre los años 2000 y 2009

En Estados Unidos (EEUU), la prevalencia de enfermedad coronaria en la última década se calcula en 6,4% de toda la población adulta siendo mayor en hombres (7,9%) que en mujeres (5,1%) y se estima que se incremente hasta un 18% en el año 2030¹³³. A pesar de que la incidencia de cardiopatía isquémica ha descendido en EEUU de 274 pacientes por 100.000 habitantes en 1999 hasta 208 en 2008¹³⁴, en el año 2013, 635.000 estadounidenses tendrán un nuevo evento coronario¹³⁵, lo que se traduce en un nuevo IAM cada 44 segundos. La mortalidad por cardiopatía isquémica ha disminuido más de

un 40% anualmente en la última década, pese a lo cual, esta patología fue responsable de 386.324 muertes en EEUU en el año 2009, es decir 1 de cada 6 defunciones¹²⁹.

Las enfermedades cardiovasculares, en especial la cardiopatía isquémica, son la principal causa de muerte en la Latinoamérica, provocando casi un tercio de todas las defunciones, y su incidencia es creciente probablemente debido a un aumento en la esperanza de vida y en la exposición a factores de riesgo cardiovascular¹³⁶. Los resultados de varios estudios revelan que el pronóstico de los pacientes con SCA en Latinoamérica es peor que Norteamérica y Europa Occidental^{137, 138}. Este hecho se debe a principalmente a un menor uso de fármacos como los betabloqueantes y las estatinas¹³⁹ así como a un abordaje invasivo más tardío¹⁴⁰, aunque podrían estar involucrados otros factores de tipo socioeconómico¹⁴¹. En otras áreas en desarrollo, como India, China, el África subsahariana y Oriente Medio, la epidemiología de la cardiopatía isquémica es análoga a la resumida anteriormente para Latinoamérica basada en una incidencia creciente y un aumento progresivo de la mortalidad que se estima que pase de 9 millones de defunciones en 1990 a 19 millones en el año 2020^{142, 143}.

1.3.2 Factores de riesgo

Una adecuada salud cardiovascular se define como una combinación de varios factores clínicos, analíticos y de hábitos de vida (tabla 1)¹⁴⁴. Sin embargo, la mayoría de la población no los identifica adecuadamente a pesar de que la relación de estos factores con la enfermedad cardiovascular se conoce desde hace varias décadas, siendo el Framingham Heart Study uno de los primeros trabajos que pone de manifiesto este punto¹⁴⁵.

Tabla 1.- Factores asociados con una adecuada salud cardiovascular

Abstención tabáquica
Presión arterial menor de 120/80 mmHg
Glucosa plasmática menor de 100 mg/dl
Hábito dietético saludable
Índice de masa corporal menor de 25 kg/m ²
Colesterol total menor de 200 mg/dl
Actividad física adecuada

En general, la prevalencia de estos factores de riesgo cardiovascular ha ido aumentando en los últimos años¹⁴⁶. Si comparamos la situación actual con la de los años 80, la glucosa plasmática media de la población mundial ha aumentado en este tiempo entre 1,3 mg/dl y 1,6 mg/dl y el índice de masa corporal (IMC) hasta 0,5 kg/m² por década, siendo la prevalencia de diabetes y de obesidad casi el doble^{147, 148}. Por otro lado, el impacto de otros factores ha mejorado ligeramente, como en el caso de la HTA ya que la presión sistólica media ha bajado aproximadamente 1mmHg en este tiempo¹⁴⁹ así como el colesterol total que lo ha hecho en casi 2 mg/dl¹⁵⁰.

A pesar de que en nuestro país los datos sobre mortalidad en pacientes con cardiopatía isquémica son esperanzadores, aún existen aspectos que mejorar. Estudios recientes revelan una alta tasa de reingresos tras un IAM probablemente relacionada con un mal control de los factores de riesgo cardiovascular¹⁵¹. Es esencial por tanto, mejorar las estrategias disponibles en prevención secundaria.

a) Diabetes mellitus

La diabetes mellitus (DM) comprende un grupo de trastornos metabólicos que tienen en común la hiperglucemia. La etiología de la DM es diversa, incluyendo factores genéticos, ambientales y de estilo de vida. Las circunstancias que conducen a la hiperglucemia incluyen desde un déficit en la secreción de insulina hasta la resistencia tisular a los efectos de ésta, pasando por la disminución en el consumo de glucosa. La DM tipo 2 es una enfermedad altamente invalidante de incidencia creciente que se fundamenta en la resistencia insulínica y en cuya patogenia están involucrados diferentes factores como la obesidad y el envejecimiento.

La relación entre DM y aterosclerosis está bien estudiada, ya que se sabe que la mayor parte de los pacientes diabéticos muere por aterosclerosis o sus complicaciones¹⁵². En pacientes con DM 2 existe un perfil anormal de lipoproteínas, conocido como dislipidemia diabética y que explica parte del elevado riesgo cardiovascular de estos pacientes

Aproximadamente un tercio de los pacientes con un evento coronario son diabéticos y, al menos, otro tercio tiene diabetes no diagnosticada^{153, 154}. Habitualmente, los pacientes diabéticos con cardiopatía isquémica son más ancianos y presentan más comorbilidades, en especial insuficiencia renal. Además, padecen complicaciones con más frecuencia, sobre todo hemorragias e insuficiencia cardiaca. Respecto a las

características de la enfermedad coronaria en los diabéticos, ésta suele ser más extensa y las reestenosis después de un procedimiento de revascularización son más frecuentes¹⁵⁵. Por todo esto, la diabetes es un potente predictor independiente de mortalidad en el contexto de SCA, estimándose este incremento de mortalidad en casi el doble^{156, 157}.

Ante estos datos, se han desarrollado diversos estudios con objeto de analizar qué enfoques terapéuticos son los más adecuados para esta población de riesgo. En primer lugar, se recomienda la estrategia invasiva frente al tratamiento conservador en pacientes con cardiopatía isquémica estable^{158, 159}. En lo referente a la técnica de revascularización de elección, la evidencia científica apoya el uso de la cirugía de revascularización coronaria frente a la angioplastia. En concreto, un metaanálisis con más de 7000 pacientes mostró una mortalidad significativamente menor en el grupo de pacientes sometidos a cirugía respecto a los tratados con angioplastia¹⁶⁰. Resultados similares muestran tanto el estudio SYNTAX¹⁶¹, en la enfermedad coronaria multivazo, como el Registro de Nueva York¹⁶². Por otro lado, sobre el material de revascularización se prefieren los injertos arteriales y los stent farmacoactivos ya que la tasa de nuevas revascularizaciones es menor en estos casos¹⁶³.

b) Tabaquismo

El hábito de fumar es el principal factor de riesgo modificable de enfermedad aterosclerótica y conlleva importantes consecuencias tanto para el fumador activo como en aquellos no fumadores que están expuestos al humo del tabaco. Se considera que el riesgo aterosclerótico es mayor cuanto mayor es el número de cigarrillos consumidos reduciéndose éste desde el primer momento que se abandona el hábito. Por otro lado, el tabaquismo está interconectado con otros factores de riesgo cardiovascular, como se ha podido comprobar recientemente mediante la descripción en fumadores de anomalías en algunas lipoproteínas que conducen a un aumento en la resistencia insulínica¹⁶⁴.

El tabaquismo se asocia a todas las manifestaciones de la enfermedad cardiovascular y aumenta el riesgo de presentar un evento cardiovascular fatal hasta dos veces y aún más en los jóvenes que tienen, por el hecho de fumar, casi cinco veces más riesgo¹⁶⁵. Este riesgo es también mayor proporcionalmente en las mujeres¹⁶⁶ probablemente debido a un metabolismo más rápido de la nicotina que se incrementa en

aquellas que toman anticonceptivos orales¹⁶⁷. El riesgo asociado al tabaquismo es mayor en aquellos que inhalan el humo pero los consumidores de tabaco no inhalado, como los fumadores en pipa tienen también mayor riesgo cardiovascular¹⁶⁸. Los fumadores pasivos tienen hasta un 30% más de posibilidades de presentar un evento cardiovascular que aquellos no expuestos al humo del tabaco¹⁶⁹.

El cese del hábito tabáquico produce una disminución en el riesgo cardiovascular casi inmediata siendo significativo a partir de los 6 meses¹⁷⁰ y asemejándose al de los no fumadores a partir de los 10 años del cese. Tras un IAM, el abandono del tabaco es la medida preventiva más efectiva, consiguiendo reducir la mortalidad hasta en un 0,64%¹⁷¹, por lo que debe recomendarse en todos los casos mediante un abordaje intensivo con terapias sustitutivas de la nicotina o con fármacos como el bupropion¹⁷². Sin embargo, la aplicación de estrategias de apoyo para el abandono del tabaquismo en pacientes tras un síndrome coronario es baja¹⁷³.

Además, diversas medidas sociosanitarias como la prohibición de fumar en lugares públicos son también mecanismos eficaces para disminuir los eventos cardiovasculares en la población¹⁷⁴.

c) Hipertensión arterial

La hipertensión arterial (HTA) fue definida en 2003 por el Joint National Commitee (JNC 7) como una presión arterial sistólica (PAS) mayor o igual a 140 mmHg y una presión arterial diastólica (PAD) mayor o igual a 90 mmHg tomadas adecuadamente en dos o más ocasiones¹⁷⁵. Estas definiciones son muy similares a las aportadas por las últimas guías de la Sociedad Europea de Cardiología y la Sociedad Europea de Hipertensión de 2007 salvo que estas sociedades subdividen a los pacientes con presión arterial menor de 140/90 mmHg en tres categorías (“óptima”, “normal” y “normal-alta”)¹⁷⁶.

La relación entre la HTA y la aterosclerosis ha sido demostrada en múltiples estudios, en concreto, su efecto es más significativo en la circulación coronaria y cerebral¹⁷⁷. De hecho, recientemente se ha observado que la HTA es uno de los principales factores involucrados en el crecimiento de las placas ateroscleróticas carotídeas¹⁷⁸.

La HTA se ha considerado siempre un importante factor de riesgo para el desarrollo de todo el espectro de las enfermedades cardiovasculares¹⁷⁹. La mortalidad por ictus y enfermedad coronaria aumenta linealmente con las cifras de presión arterial¹⁸⁰. Por otro lado, los pacientes hipertensos suelen presentar otras patologías como insuficiencia renal o deterioro cognitivo¹⁸¹ que se asocian a un peor pronóstico en el contexto de la cardiopatía isquémica.

Los pacientes que sufren un evento coronario agudo y presentan durante su ingreso cifras elevadas de presión arterial tienen un peor pronóstico¹⁸² y presentan con más frecuencia complicaciones, especialmente hemorragias¹⁸³. Por otro lado, la HTA suele asociar disfunción diastólica que dificulta el manejo hemodinámico de los pacientes ingresados por un evento coronario así como el desarrollo de arritmias, sobre todo FA¹⁸⁴, que alteran de forma significativa el curso clínico de la enfermedad coronaria.

d) Dislipidemia

Los niveles altos de lípidos, especialmente de colesterol-LDL se asocian a una mayor tasa de eventos cardiovasculares. El tratamiento intensivo con hipolipemiantes, sobre todo estatinas, ha demostrado disminuir el riesgo de enfermedad coronaria y de ictus en individuos de riesgo como los diabéticos libres de enfermedad coronaria^{185, 186}. Además, este efecto es mayor con dosis altas de fármacos que con las dosis convencionales¹⁸⁷.

La reducción de los niveles de lípidos en los pacientes que han sufrido un evento coronario tiene una traducción directa en unos mejores resultados en términos de morbimortalidad a largo plazo¹⁸⁸. Además de una mejora en la supervivencia, la terapia hipolipemiente se relaciona con menores tasas de ictus¹⁸⁹ y de isquemia coronaria recurrente¹⁹⁰.

A diferencia de las LDL, los niveles elevados de HDL en plasma se relacionan con propiedades antiaterogénicas; de hecho, niveles de HDL por encima de 60 mg/dl fueron considerados factor protector de enfermedad cardiovascular en el Framingham Heart Study. Estos efectos se basan, por un lado en el mantenimiento de la función endotelial mediante el incremento en la secreción de óxido nítrico¹⁹¹ y la inhibición de la expresión de moléculas de adhesión¹⁹² y, por otro lado, en significativos efectos antitrombóticos¹⁹³.

La relación entre hipertrigliceridemia y enfermedad aterosclerótica ha sido motivo de debate en los últimos años. Por un lado, no está claro que la reducción de los niveles de triglicéridos en sangre produzca una disminución significativa del riesgo cardiovascular¹⁹⁴. Sin embargo, varios estudios han puesto de manifiesto la mayor incidencia de eventos cerebrovasculares en pacientes con hipertrigliceridemia^{195, 196} aunque los mecanismos por los cuales esta relación se establece no están claros.

Por último, la lipoproteína a (Lp (a)) también se ha relacionado con la enfermedad aterosclerótica. Esta lipoproteína es una modificación de las LDL con una estructura similar a la del plasminógeno. Esta semejanza hace que la Lp (a) interfiera en la activación del plasminógeno deteriorando así la fibrinólisis endógena^{197, 198}. Por otro lado, la Lp (a) se une a los macrófagos favoreciendo su transformación en células espumosas y facilitando el depósito de colesterol en la placa aterosclerótica¹⁹⁹. La relación entre los títulos altos de Lp (a) y enfermedad cardiovascular está bien establecida²⁰⁰, dependiendo ésta no sólo de la cantidad de Lp (a) en plasma sino también de la presencia de diversas isoformas pequeñas que confieren un incremento del riesgo de hasta el doble²⁰¹.

1.3.3 Sintomatología y formas clínicas

La clínica fundamental de la cardiopatía isquémica es el dolor torácico²⁰². El dolor anginoso típico se caracteriza por opresión centrotorácica o en región precordial irradiado a cara interna de ambos brazos, a mandíbula o espalda. Se agrava con el ejercicio o con situaciones que aumenten el consumo de oxígeno como el estrés y suele aliviarse con vasodilatadores como la nitroglicerina sublingual. La duración no suele superar los 10 minutos aunque suele ser mayor en caso de síndrome coronario agudo y se asocia con síntomas vegetativos como náuseas o sudoración²⁰³.

A pesar de una anamnesis minuciosa no siempre es fácil diagnosticar con precisión la causa del dolor torácico. Este síntoma es el más frecuente motivo de consulta en los servicios de urgencias¹⁵⁵ y abarca multitud de posibilidades diagnósticas, desde problemas osteomusculares hasta patologías extremadamente graves como la disección aórtica o el infarto de miocardio pasando por otros factores como la ansiedad que, de hecho, es la causa más frecuente. Y es que, aunque las características del dolor anginoso están bien definidas, a veces la isquemia miocárdica se presenta con de forma atípica, especialmente en ancianos, mujeres y diabéticos²⁰⁴. En estas

ocasiones, el dolor puede tener una duración más prolongada, aparecer únicamente en las zonas de irradiación, con ausencia de factores precipitantes y de síntomas asociados e incluso, a veces el paciente no refiere dolor sino disnea o mareo.

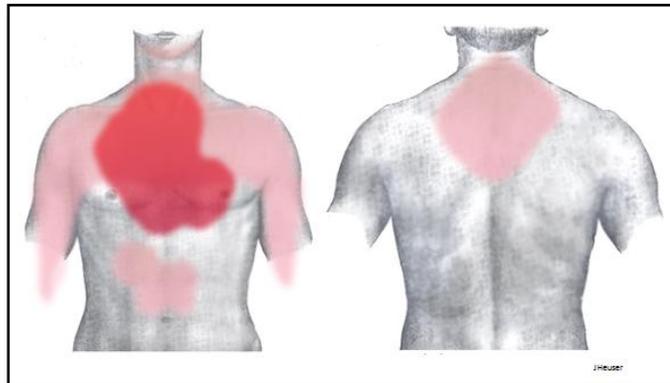


Figura 12.- Principales localizaciones del dolor anginoso (en rojo oscuro las más frecuentes)

Como hemos mencionado previamente, la cardiopatía isquémica comprende varias formas clínicas, tanto crónicas, la angina estables como agudas, el síndrome coronario que se asocian con mecanismos fisiopatológicos bien diferenciados. En el caso de la angina crónica estable existe una placa aterosclerótica coronaria que origina una obstrucción al flujo en situaciones de mayor demanda de oxígeno como el ejercicio físico pero no en reposo. Sin embargo, en el caso del SCA, existe rotura de la placa aterosclerótica y trombosis intracoronaria dando lugar a una obstrucción de la luz bien completa, hablando entonces de SCA con elevación del segmento ST (SCACEST) o incompleta, SCA sin elevación del segmento ST (SCASEST). La mayoría de los SCACEST son IAM con elevación del ST (IAMCEST), es decir, existe elevación de troponinas y necrosis miocárdica, aunque una pequeña proporción se deben a vasoespasmos de las arterias coronarias epicárdicas, tratándose entonces de angina variante en la que no suele existir necrosis miocárdica. En el caso de los SCASEST hablamos de angina inestable cuando no hay elevación de troponinas y de IAM sin elevación del ST (IAMSEST) cuando sí la hay. En la figura 13 se esquematizan las diferentes formas clínicas de la cardiopatía isquémica.

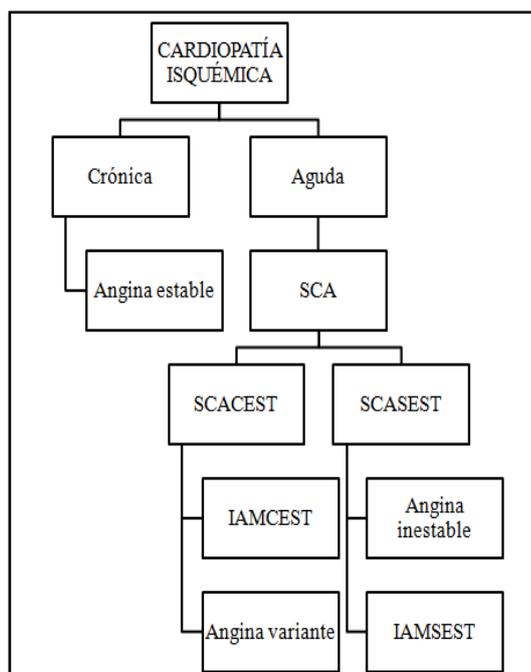


Figura 13.- Formas clínicas de la cardiopatía isquémica

a) Angina crónica estable

La angina estable traduce una obstrucción en una arteria coronaria dando lugar a sintomatología en situaciones que suponen un aumento de la demanda de oxígeno por el miocardio. Los síntomas típicos de la angina estable, especialmente el dolor torácico de características coronarias, aparece habitualmente ante un mismo nivel de esfuerzo y desaparece rápidamente tras cesar el ejercicio.

El diagnóstico de la angina estable es esencialmente clínico mediante una anamnesis dirigida que pondrá de manifiesto las características típicas del dolor torácico ya mencionadas anteriormente y un electrocardiograma (ECG) que suele ser normal en los períodos en los que el paciente no tiene síntomas. A continuación, se recomienda realizar un test de esfuerzo en todos los pacientes para confirmar el diagnóstico y obtener información pronóstica²⁰⁵.

Una vez realizado el test, la actitud a seguir con el enfermo dependerá de los resultados del mismo. Pacientes con un test de riesgo bajo o intermedio pueden ser controlados con tratamiento farmacológico, mientras que los que presenten un test de alto riesgo deben ser considerados para revascularización coronaria. En los casos en los que se ha optado por un tratamiento invasivo, la extensión de la enfermedad coronaria y la función sistólica del ventrículo izquierdo son los principales indicadores a la hora de decidir entre una estrategia revascularizadora percutánea o quirúrgica²⁰⁶.

En cuanto a la terapia farmacológica, varias drogas antitischémicas han demostrado su utilidad²⁰⁷. Los betabloqueantes se consideran primera línea de tratamiento para disminuir los síntomas anginosos y aumentar la capacidad de ejercicio. La eficacia terapéutica de los betabloqueantes se basa en la disminución de la frecuencia cardíaca, bajando así el trabajo cardíaco y por lo tanto el consumo de oxígeno, al mismo tiempo que se alarga la diástole y mejora el flujo coronario. Además, también disminuyen la contractilidad cardíaca y la presión arterial. Los calcioantagonistas son también muy usados en el contexto de la angina estable en combinación con los betabloqueantes cuando estos son insuficientes para el control de síntomas (los más usados en este caso serían las dihidropiridinas como el amlodipino que son potentes vasodilatadores arteriales) o en sustitución de éstos cuando están contraindicados (de elección en estas situaciones son el verapamil y diltiazem que son inotrópicos y cronotrópicos negativos). Finalmente, otras drogas como los nitratos (vasodilatadores venosos), la ivabradina (inhibidor selectivo del nodo sinusal) y la ranolazina (inhibidor de la corriente lenta de sodio en las células cardíacas)²⁰⁸ se usan también como antianginosos.

Por otro lado, están indicadas medidas preventivas en todos los pacientes con angina estable²⁰⁵. Se aconseja tratamiento con antiagregantes, preferiblemente ácido acetil salicílico (AAS), y control exhaustivo de los factores de riesgo cardiovascular. Además, estos pacientes deben recibir una dosis anual de la vacuna contra el virus de la gripe²⁰⁹ y deben ser instruidos en la realización de ejercicio aeróbico regular ya que disminuye los requerimientos de oxígeno permitiendo una mejor tolerancia al esfuerzo²¹⁰.

1.3.4 Síndrome coronario agudo

Los pacientes que sufren un SCA tienen habitualmente una reducción brusca en el flujo de una arteria coronaria como consecuencia de la obstrucción de su luz producida en la mayor parte de los casos por la formación de un trombo tras la rotura de una placa aterosclerótica. Los SCA se clasifican en función de las características electrocardiográficas en SCACEST y SCASEST. En el caso de los SCACEST el trombo suele ser oclusivo y el tratamiento irá dirigido a la desobstrucción de la arteria mientras que en los SCASEST el trombo suele ser lábil y el tratamiento se basará en el uso de fármacos antitrombóticos para evitar la oclusión del vaso.

a) SCASEST

En la práctica el SCASEST comprende un grupo heterogéneo de pacientes que se presentan con dolor torácico sugerente de origen coronario y en el ECG no presentan elevación del ST pudiendo existir alteraciones en la onda T, descenso del ST o incluso un ECG normal. Posteriormente, podremos distinguir IAMSEST y angina inestable en función de que exista o no elevación de marcadores de daño miocárdico.

El diagnóstico es esencialmente clínico y se basa, además de en el ECG cuyas alteraciones acabamos de comentar, en la historia clínica, la exploración física y el electrocardiograma. La historia clínica debe orientarse a definir en detalle las características del dolor, consiguiéndose así en la mayor parte de los pacientes establecer el diagnóstico. La exploración física detallada nos permite obtener datos sobre patologías asociadas como valvulopatías, así como establecer el grado de insuficiencia cardiaca. Con este fin se desarrolló la escala de Killip que establece 4 grupos (I-IV) que traducen grados crecientes de insuficiencia cardiaca y que tiene una clara significación pronóstica.

En un siguiente paso debemos establecer la diferencia entre IAMSEST y angina inestable mediante la determinación de marcadores de daño miocárdico. Los marcadores deben solicitarse en todo paciente con dolor torácico aunque sólo sirven para confirmar el diagnóstico en un momento relativamente tardío (más de una hora tras el inicio de los síntomas)²¹¹. La mioglobina es el marcador que se eleva más precozmente pero su especificidad es pobre. La creatín quinasa isoforma-MB (CKMB) es más específica pero no tanto como las troponinas, que son el marcador más usado en los servicios de urgencias²¹². Recientemente se han introducido las troponinas ultrasensibles que permiten rebajar el límite de detección e identificar la necrosis miocárdica más precozmente²¹³.

El tratamiento del SCASEST se organiza en cuatro pasos: tratamiento antitrombótico, antianginoso, revascularizador y medidas de prevención secundaria y enfoque posthospitalización. El tratamiento antitrombótico se compone de fármacos antiagregantes y anticoagulantes. En cuanto al tratamiento antiagregante, todos los pacientes deben recibir AAS en primer lugar con dosis de carga seguida una dosis diaria de mantenimiento que se mantendrá crónicamente^{214, 215}. La eficacia del AAS en la cardiopatía isquémica se conoce desde hace años a través de estudios en los que el AAS

consiguió reducir la tasa de IAM recurrente y muerte en pacientes ingresados por síndrome coronario²¹⁶⁻²¹⁸.

Además de AAS, todos los pacientes con SCASEST deben recibir doble antiagregación añadiendo un inhibidor del receptor plaquetario P2Y₁₂¹⁵⁵. El primero de estos antiagregantes en estudiarse fue el clopidogrel; este fármaco, añadido al AAS, ha mostrado una reducción del riesgo de muerte, IAM recurrente o accidente cerebrovascular (ACV) mayor que con el AAS en monoterapia²¹⁹. Este beneficio se mantiene en el seguimiento, durante al menos un año²²⁰. La reciente incorporación de nuevos inhibidores del receptor P2Y₁₂, prasugrel²²¹ y ticagrelor²²², ambos con una acción antiagregante más rápida y potente, han relegado al clopidogrel a un papel secundario para aquellos pacientes que no puedan recibir ninguno de estos nuevos fármacos.

Aparte de fármacos antiagregantes, todos los pacientes con SCASEST deben recibir anticoagulación en la fase aguda siempre que no exista contraindicación²²³. De los anticoagulantes disponibles, el más utilizado es la enoxaparina²²⁴ aunque recientemente se han introducido nuevos fármacos como el fondaparinux, un inhibidor del factor Xa con muy buen perfil de seguridad^{225, 226} y la bivalirudina, un inhibidor directo de la trombina especialmente útil en los pacientes de alto riesgo^{227, 228}. El tratamiento antianginoso básico es superponible al descrito en el apartado de la angina estable.

Hoy en día se acepta que la estrategia invasiva precoz con coronariografía es la más beneficiosa y efectiva en los pacientes con SCASEST²²⁹. Acerca del método de revascularización ideal, la decisión se tomará en función de la anatomía coronaria, el perfil de riesgo del paciente y la experiencia de los equipos de hemodinámica y cirugía. En la mayoría de los pacientes, la recomendación es tratar la lesión causal con intervencionismo percutáneo inmediatamente tras la coronariografía diagnóstica. En pacientes de riesgo como los diabéticos y en aquellos con enfermedad multivazo, la cirugía presenta un papel más favorable.

En todos los pacientes ingresados por SCASEST debe ponerse en marcha un enérgico programa de prevención secundaria que impedirá que resulten ineficaces todos los esfuerzos terapéuticos realizados durante el ingreso. Se darán recomendaciones sobre una alimentación saludable y se recomendará la práctica de ejercicio físico

habitual. El tratamiento antiagregante doble debe mantenerse al menos un año y el AAS se mantendrá de por vida. Los betabloqueantes^{230, 231} y el tratamiento hipolipemiante con estatinas²³² deben también continuarse en la mayoría de los casos pues se asocian con una mejoría en la supervivencia. Finalmente, debe iniciarse tratamiento con inhibidores del enzima convertidor de la angiotensina (IECAs) al menos en aquellos pacientes con disfunción ventricular o insuficiencia cardiaca^{233, 234}.

b) SCACEST

En este apartado comentaremos los aspectos diferenciales del SCACEST respecto al SCASEST. Dado que la mayoría de los SCACEST son IAMCEST, usaremos ambos términos como sinónimos. En el término SCACEST se incluyen todos los pacientes que presentan un SCA y en el ECG se detecta elevación del segmento ST de al menos 1 milímetro en dos derivaciones consecutivas o aquellos en los que se evidencia un bloqueo de rama izquierda de nueva aparición.

El SCACEST ocurre habitualmente como consecuencia de la oclusión de una arteria coronaria epicárdica. Este fenómeno suele ser secundario a la rotura de una placa aterosclerótica con la consecuente trombosis intravascular que origina una oclusión completa de la luz vascular. La rápida desobstrucción de la arteria para restaurar lo antes posible el flujo coronario es esencial para limitar la necrosis miocárdica y reducir el tamaño del infarto.

El diagnóstico, al igual que en el SCASEST, se realiza mediante la historia clínica y el ECG. Los cambios del ECG en SCACEST son típicos en función del tiempo transcurrido desde el inicio del infarto. En un primer momento aparecen ondas T acuminadas seguidas de la elevación del segmento ST a las pocas horas. Transcurridas 12 o 24 horas la onda T se invierte y aparecen ondas Q patológicas en las derivaciones correspondientes al área infartada. Habitualmente se considera diagnóstico de SCACEST una elevación del ST de más de 1 mm en dos derivaciones contiguas o la presencia de nuevas ondas Q acompañando a una clínica sugerente²³⁵.

El tratamiento inicial del IAMCEST se basa en la rápida desobstrucción de la arteria responsable; cuánto antes se consiga, menores serán las tasas de mortalidad y complicaciones derivadas del IAM como insuficiencia cardiaca o arritmias^{236, 237}. Para la reperfusión existen dos mecanismos esenciales, la fibrinólisis y la angioplastia primaria. La fibrinólisis está disponible prácticamente de forma universal y no requiere

un equipamiento sofisticado; sin embargo, actúa mejor cuando el trombo está fresco y aumenta el riesgo de hemorragia, especialmente la intracraneal. Por otro lado, la angioplastia primaria consigue una reperfusión más eficaz y estable y se asocia con bajas tasas de sangrado. La elección entre uno u otro procedimiento depende de la disponibilidad y del tiempo de evolución del cuadro clínico²³⁵. El tratamiento de reperfusión está indicado de forma clara cuando el tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas es inferior a 12 horas^{238, 239} y, en los pacientes inestables, hasta las 24 horas²⁴⁰. La revascularización de pacientes estables con más de 24 horas de evolución no ha demostrado beneficios²⁴¹.

Los agentes fibrinolíticos más usados en este contexto son la tenecteplasa y la reteplasa y basan su efecto en la disolución del trombo mediante la activación del plasminógeno. Aunque ambos fármacos son similares en su eficacia, la menor tasa de hemorragias con tenectaplase hace que se uso resulte más atractivo²⁴². La fibrinólisis presenta una excepcional tasa de éxito cuando se administra en las primeras horas del infarto²⁴³ por lo que es de elección en el ámbito prehospitalario²⁴⁴. Cuando existan datos que apunten a que la fibrinólisis no ha sido exitosa (persistencia de la elevación del ST y/o síntomas), el paciente debe referirse a un centro con angioplastia primaria para revascularizar la arteria responsable lo antes posible²⁴⁵.

La angioplastia primaria es superior a la fibrinólisis si se realiza precozmente por un equipo experimentado²⁴⁶. Se prefiere la angioplastia con stent a la realizada exclusivamente con balón y existen estudios que apuntan a que el stent recubierto proporciona adecuadas tasas de seguridad y reduce la necesidad de reintervención²⁴⁷. En pacientes con enfermedad multivaso se recomienda tratar sólo la lesión culpable excepto en aquellos inestables con shock cardiogénico^{248, 249}.

c) Pronóstico y estratificación del riesgo en el SCA

El SCA es una enfermedad coronaria inestable propensa a las recurrencias isquémicas y otras complicaciones que pueden conducir a la muerte o al IAM a corto y largo plazo. El abordaje diagnóstico-terapéutico está dirigido a prevenir o reducir este tipo de complicaciones y mejorar el resultado clínico. El momento para realizar este tipo de intervenciones y su intensidad se debe adaptar al riesgo de cada paciente individual. Existen numerosos factores pronósticos estudiados en este contexto tanto clínicos como electrocardiográficos o analíticos.

En primer lugar, los pacientes que presentan inestabilidad hemodinámica en el momento del ingreso, definida por hipotensión, taquicardia o insuficiencia cardiaca, tienen peor pronóstico y requieren un abordaje diagnóstico y terapéutico rápido y eficaz²⁵⁰. Además, la localización anterior del IAM y las arritmias malignas son también marcadores de un curso clínico peor²⁵¹.

Los biomarcadores traducen diferentes aspectos de la fisiopatología del SCA como la necrosis miocárdica, la inflamación o la respuesta neurohormonal. Las troponinas son el marcador más sensible y específico de necrosis miocárdica y son de elección para predecir el resultado clínico a corto plazo con respecto al IAM y la muerte^{252, 253}. El péptido natriurético tipo B (BNP) y su prohormona fragmento N-terminal (NT-proBNP) proporcionan una alta especificidad para la detección de disfunción ventricular izquierda²⁵⁴. Sin embargo su utilidad para la estratificación del riesgo a corto plazo es escasa por lo que no pueden ser usados para la toma de decisiones sobre la estrategia a seguir durante el ingreso²⁵⁵.

De entre todos los marcadores de inflamación que han sido involucrados en el SCA, la PCR ha sido la más ampliamente estudiada y la que se ha asociado con una mayor tasa de eventos adversos. A pesar de que no tiene ningún valor diagnóstico, la elevación de la PCR conlleva peor pronóstico incluso en aquellos pacientes con SCA sin elevación de troponinas²⁵⁶.

Existen además marcadores bioquímicos y hematimétricos con significación pronóstica en el SCA entre los que destacan la hiperglucemia en el momento del ingreso^{257, 258} y la función renal alterada²⁵⁹. Finalmente, es importante destacar nuevos biomarcadores en este contexto entre los que destacan marcadores de estrés oxidativo como la mieloperoxidasa^{260, 261} o la fosfolipasa-A2 asociada a lipoproteína²⁶² o sistémico como la coceptina²⁶³ y otros orientados a mejorar el diagnóstico precoz como la albúmina modificada por isquemia²⁶⁴ o la proteína de unión a ácidos grasos²⁶⁵. Sin embargo, la evidencia actual no es suficiente como para recomendar su uso sistemático.

Con objeto de estandarizar la determinación del riesgo en los enfermos con SCA, se han diseñado diversas escalas entre las que destacan la escala TIMI y la escala GRACE. La escala TIMI tiene una versión para el SCACEST y otra para el SCASEST, es de aplicación sencilla y utiliza variables clínicas de forma exclusiva²⁶⁶. Sin embargo, la escala GRACE, aunque más compleja para el usuario, proporciona una estratificación

del riesgo más precisa tanto al ingreso como al alta hasta los 6 meses, debido a su buen poder discriminatorio²⁶⁷. En la tabla 2 se recogen las variables incluidas en la escala GRACE. Algunos estudios han planteado la posibilidad de añadir nuevas variables a esta escala, como la determinación del BNP¹⁸².

Tabla 2.- Variables de la escala GRACE

Riesgo intrahospitalario	Riesgo al alta (6 meses)
Frecuencia cardíaca	Frecuencia cardíaca
Edad	Edad
Presión arterial sistólica	Presión arterial sistólica
Clasificación Killip	Historia de insuficiencia cardíaca
Elevación de marcadores de necrosis	Elevación de marcadores de necrosis
Alteraciones en el ST	Alteraciones en el ST
Creatinina plasmática	Creatinina plasmática
Parada cardiorrespiratoria al ingreso	No revascularización en el ingreso
	Historia de infarto de miocardio

La hemorragia se asocia a un pronóstico adverso en los SCA, y todos los esfuerzos deben encaminarse a reducir el riesgo hemorrágico siempre que sea posible. Con este fin, en el caso del SCASEST, se ha definido la escala CRUSADE que tiene una precisión relativamente alta para calcular el riesgo de hemorragia¹⁸³.

Tras el alta, el pronóstico de los pacientes que sobreviven a un IAM depende de la función ventricular, la isquemia residual y la extensión de la enfermedad coronaria. De hecho, una fracción de eyección menor al 40% se ha relacionado con un peor pronóstico²⁶⁸, así como la enfermedad coronaria de tronco común izquierdo o de tres vasos en la angiografía²⁶⁹.

1.4 Bases genéticas del envejecimiento cardiovascular. Papel de los telómeros y la telomerasa.

1.4.1 Telómeros, telomerasa y aterosclerosis

Que la longitud telomérica está acortada en la aterosclerosis se ha evidenciado tanto en células musculares como endoteliales de la placa aterosclerótica²⁷⁰. Además, la longitud telomérica es menor en leucocitos de sangre periférica de individuos con aterosclerosis respecto a controles sanos y se relaciona de forma inversa con el riesgo de presentar manifestaciones cardiovasculares en pacientes con aterosclerosis subclínica²⁷¹.

Por otro lado, la actividad de la telomerasa por sí misma es capaz de detener los cambios de las células musculares lisas frenando así la progresión de la placa aterosclerótica²⁷⁰.

Debido a que el acortamiento telomérico refleja inflamación local y proliferación celular, segmentos arteriales teóricamente resistentes a la aterosclerosis, como la arteria mamaria interna, tienen células endoteliales con telómeros más largos que otras regiones del árbol arterial como la aorta. Esta diferencia es independiente de la edad del individuo por lo que deben existir variaciones en la regulación telomérica que predisponen al desarrollo de aterosclerosis en unas ubicaciones determinadas y no en otras²⁷².

Una de las localizaciones en las que más se ha estudiado el papel de los telómeros en la aterosclerosis ha sido en la arteria carótida. Se ha visto que pacientes con aterosclerosis carotídea tienen una longitud telomérica medida en leucocitos circulantes menor que sujetos sanos. Además, la longitud telomérica de las células endoteliales obtenidas de la placa aterosclerótica carotídea se relaciona con la posibilidad de reestenosis tras la aterectomía²⁷³. Esta relación entre telómeros y ateromatosis carotídea parece más evidente en individuos de riesgo como aquellos con un índice de masa corporal elevado²⁷⁴. Por último, individuos con parámetros ecográficos de disfunción en la elasticidad arterial tienen una longitud telomérica menor, especialmente si coexiste enfermedad coronaria²⁷⁵.

En otras arterias, como en la aorta, también se han encontrado telómeros más cortos en presencia de aneurismas que en aortas sanas²⁷⁶. Esta erosión telomérica endotelial parece estar presente desde fases iniciales de la aterosclerosis, ya que los telómeros son más cortos cuanto mayor es el estrés hemodinámico que sufre la pared de la arteria en cuestión²⁷⁷.

La relación entre telómeros y aterosclerosis puede ser entendida no sólo desde los mecanismos que conducen al daño vascular sino desde el punto de vista de los fenómenos de reparación y atenuación de la progresión de la lesión aterosclerótica. Las células progenitoras endoteliales provienen de la médula ósea y se encargan de la reparación endotelial. Tanto el número como la capacidad replicativa de estas células dependen de la longitud telomérica, de tal forma que aquellos pacientes que tienen

telómeros más cortos en sus células progenitoras endoteliales, tienen un desarrollo más agresivo de la enfermedad aterosclerótica²⁷⁸.

1.4.2 *Telómeros, telomerasa y enfermedad cardiovascular*

Como hemos visto anteriormente, la longitud telomérica y la actividad de la telomerasa constituyen un marcador de envejecimiento biológico y se relacionan a su vez con diversas enfermedades humanas. El envejecimiento siempre ha sido considerado un factor clave en la patogenia de las enfermedades cardiovasculares por lo que, a partir de la implicación de los telómeros en otros procesos, diversos estudios han intentado aplicar este nuevo marcador de envejecimiento en la patología cardiovascular.

a) Enfermedad coronaria

En lo referente a la enfermedad coronaria los datos son escasos y la mayoría de ellos conciernen a la cardiopatía isquémica estable²⁷⁹. En pacientes con lesiones coronarias, la longitud telomérica es más corta que en pacientes sanos²⁸⁰ y los telómeros medidos en las células endoteliales coronarias son más cortos en aquellas arterias que presentan placas ateroscleróticas que en aquellas no afectadas²⁸¹.

Aparte de con la simple presencia de aterosclerosis, la longitud telomérica también se ha asociado con la gravedad y extensión de la enfermedad coronaria ya que los telómeros leucocitarios son más cortos en los pacientes con mayor número de vasos afectados²⁸². También se ha observado que los pacientes con cardiopatía isquémica crónica cuya longitud telomérica es menor tienen menor circulación coronaria colateral lo que podría explicar en parte su peor evolución tras sufrir un SCA²⁸³.

Además, existen datos que apuntan a que, en individuos con enfermedad coronaria estable, la longitud telomérica tiene valor pronóstico, de forma que aquellos enfermos con una longitud telomérica menor son los que mayor mortalidad presentan de forma independiente a la presencia de otros factores pronósticos convencionales en la cardiopatía isquémica²⁸⁴.

En pacientes con SCA, la evidencia es aún más limitada²⁸⁵. En primer lugar, algunos estudios se han encaminado a establecer la longitud telomérica como factor de riesgo de sufrir un evento coronario. En este sentido, los datos son contradictorios; mientras que algunos trabajos han relacionado una longitud telomérica corta con el riesgo de sufrir un IAM a edades tempranas²⁸², otros estudios en jóvenes no han

corroborado esta asociación²⁸⁶. Respecto a el riesgo de sufrir un evento coronario en la población general, la evidencia disponible en los últimos años apunta a que una menor longitud telomérica supone un incremento de este riesgo^{287, 288} de forma independiente a la presencia de otros factores de riesgo coronarios²⁸⁹; sin embargo, los últimos datos publicados ponen en tela de juicio estos resultados^{290, 291}.

La actividad de la telomerasa ha sido menos estudiada como factor de riesgo para el desarrollo de eventos coronarios y los resultados no arrojan conclusiones definitivas. Existen estudios que relacionan algunos polimorfismos de TERT como el TERT-1327C>T (rs2735940) con la presencia de enfermedad coronaria²⁹², mientras que trabajos posteriores niegan esta asociación²⁹³.

Otros trabajos están dirigidos a analizar la relación entre los telómeros y las características de la placa aterosclerótica en pacientes con SCA. En este sentido, se ha evidenciado que la longitud telomérica medida en leucocitos se asocia con la presencia de placas coronarias de alto riesgo, probablemente a través de un incremento de la actividad inflamatoria ya que aquellos monocitos con una longitud telomérica menor presentan una mayor secreción de citocinas proinflamatorias²⁹⁴.

También se ha detectado una mayor actividad de la telomerasa en neutrófilos obtenidos directamente de la placa aterosclerótica en pacientes con SCA respecto a aquellos con enfermedad coronaria estable, lo que traduce una reactivación de la enzima en estas células en respuesta al proceso de inestabilidad de la placa²⁹⁵. Por último, un trabajo reciente revela que los telómeros pueden influir también en el proceso de endotelización de los stents; así, los autores de este trabajo han evidenciado telómeros más cortos en leucocitos de pacientes con una endotelización retrasada medida con tomografía de coherencia óptica a los 6 meses del implante de un stent con fármaco por un SCA²⁹⁶, lo que podría relacionarse con una mayor incidencia de trombosis.

A pesar de los datos disponibles acerca de la relación de los telómeros y el riesgo de sufrir un SCA o de presentar placas inestables, no existen datos acerca de su papel pronóstico en los pacientes que han presentado ya un SCA, a diferencia de lo que ocurre con la cardiopatía isquémica estable.

Una vez establecida la relación entre los telómeros y la cardiopatía isquémica, algunos autores han buscado cómo evitar el envejecimiento cardiovascular asociado al

acortamiento telomérico. Una de las armas terapéuticas estudiadas han sido las estatinas. El tratamiento crónico con estatinas ha demostrado atenuar el incremento del riesgo cardiovascular asociado a la presencia de telómeros cortos²⁸⁸. Se piensa que esto es debido a sus efectos pleiotrópicos y antiinflamatorios que evitan el daño telomérico secundario al estrés oxidativo²⁹⁷. Otros fármacos antioxidantes también han sido analizados, como la N-acetilcisteína que parece que activa a la telomerasa en las células endoteliales de pacientes con enfermedad coronaria evitando así la erosión telomérica²⁹⁸.

b) Insuficiencia cardiaca

Los telómeros también se han estudiado en la insuficiencia cardiaca. Los primeros estudios acerca de esta asociación se hicieron en ratones *knockout* (TERC -/-) en los que se observó atenuación de la proliferación de cardiomiocitos, aceleración de su apoptosis y aumento de la hipertrofia celular debido al importante acortamiento telomérico. Como consecuencia, estos ratones presentaron dilatación del ventrículo izquierdo e insuficiencia cardiaca²⁹⁹.

En humanos, los telómeros medidos en cardiomiocitos obtenidos de biopsias de pacientes con insuficiencia cardiaca son más cortos que en población normal³⁰⁰. Además, parece que esta alteración depende más de la presencia de insuficiencia cardiaca que de la propia alteración estructural cardiaca, ya que pacientes con miocardiopatía hipertrófica sin signos de insuficiencia cardiaca tienen telómeros más largos en sus células miocárdicas que aquellos pacientes sintomáticos³⁰¹.

La relación entre telómeros e insuficiencia cardiaca no sólo se establece en tejido miocárdico sino que en los leucocitos de sangre periférica de pacientes con insuficiencia cardiaca se han detectado telómeros más cortos que en población sana y, además, son más cortos cuanto más severos son los síntomas del paciente³⁰². Sin embargo, recientemente se ha publicado un trabajo que no encuentra asociación entre la presencia de miocardiopatía dilatada ni su severidad clínica y la longitud telomérica medida en leucocitos en una población de raza negra³⁰³.

En un primer momento podría pensarse que esta menor longitud telomérica podría deberse a la presencia de cardiopatía isquémica, sin embargo, resultados similares se han encontrado en pacientes con insuficiencia cardiaca de etiología no isquémica³⁰².

La fracción de eyección es el factor pronóstico más importante en la cardiopatía isquémica y determina muchas de las medidas terapéuticas a tomar en pacientes con insuficiencia cardíaca, como por ejemplo la implantación de un desfibrilador implantable por lo que es de crucial interés conocer si de alguna forma los pacientes con telómeros más cortos tienen mayor riesgo de presentar disfunción ventricular. A esta cuestión da respuesta un estudio reciente que establece que los pacientes con los telómeros más largos tienen una fracción de eyección de hasta un 5% mayor que aquellos con menor longitud telomérica³⁰⁴. Esta asociación también se ha encontrado en pacientes hipertensos con lesión de órgano diana en los que además determinados polimorfismos de TERC también juegan un papel determinante³⁰⁵.

c) Factores de riesgo cardiovascular

Además de las relaciones directas entre telómeros y enfermedad cardiovascular, éstos se han involucrado con la presencia de factores de riesgo cardiovascular. En primer lugar, el sexo masculino es uno de los factores de riesgo clásicos y diversos trabajos han encontrado telómeros más cortos en varones que en mujeres³⁰⁶ y, además, el acortamiento progresivo de estos es también más rápido en los hombres³⁰⁷ debido probablemente al efecto protector que ejercen los estrógenos sobre la telomerasa³⁰⁸.

También los antecedentes familiares juegan un papel clave en la enfermedad cardiovascular y, paralelamente, parece lógico pensar que los descendientes de pacientes con enfermedad coronaria prematura, tendrán los telómeros más cortos que los hijos de individuos sanos, Este hecho permanece bajo discusión ya que la asociación ha sido puesta de manifiesto en algunos trabajos³⁰⁹ mientras que otros más recientes la cuestionan³¹⁰.

Uno de los principales factores que conducen al acortamiento telomérico es el estrés oxidativo. La acumulación de radicales libres dificulta el acceso de proteínas reparadoras hasta las secuencias teloméricas acumulándose por tanto mutaciones que suelen llevar a detención transitoria de la replicación y por lo tanto acortamiento telomérico. El estrés oxidativo provoca también distorsión de la arquitectura telomérica por lo que secuencias ricas en guanina quedan expuestas activando la cascada de la apoptosis mediante la vía de la p53³¹¹. En pacientes fumadores, el nivel de estrés oxidativo es muy elevado, por lo que ha sido uno de los primeros factores de riesgo en ser relacionados con el acortamiento telomérico^{47, 312}.

Otros factores de riesgo cardiovascular relacionados con una menor longitud telomérica han sido la HTA, la obesidad y la resistencia a la insulina aunque la evidencia disponible es más escasa^{313, 314}. Los telómeros también se han vinculado con un perfil lipídico desfavorable, concretamente unos telómeros más cortos están presentes en individuos con menor cantidad de colesterol HDL³¹⁵.

También hay trabajos que relacionan la longitud telomérica con variables bioquímicas íntimamente conectadas con la enfermedad cardiovascular, de esta forma, pacientes con niveles elevados de homocisteína³¹⁶ y marcadores del sistema renina-angiotensina-aldosterona³¹⁷, así como pacientes con insuficiencia renal³¹⁸ presentan una longitud telomérica menor que controles sanos.

Finalmente, factores relacionados no tan directamente con la patogenia de la enfermedad cardiovascular como el estrés psicológico³¹⁹, los síntomas depresivos³²⁰ o el status social³²¹, también implican telómeros más cortos. Recientemente se ha establecido que pacientes con un mayor envejecimiento precoz autopercibido muestran mayor tendencia a la obesidad y tienen los telómeros más cortos³²².

A pesar de estos datos, la relación entre las enfermedades cardiovasculares y la longitud telomérica no puede ser explicada totalmente a través de los factores de riesgo clásicos, sino que deben existir factores independientes mediante los cuales los telómeros se conectan de forma directa con la patogénesis de estas enfermedades. Uno de estos factores puede ser la herencia³⁰⁹, aunque deben existir otros mecanismos adquiridos que estén detrás de esta asociación como, por ejemplo, infecciones virales que aceleren la erosión telomérica³²³. Sin embargo, con los datos disponibles actualmente esta cuestión sigue sin una solución definitiva.

2 HIPÓTESIS

La longitud telomérica es un marcador de envejecimiento biológico y cardiovascular y ha sido relacionada con algunos aspectos de la enfermedad coronaria, especialmente en pacientes estables; sin embargo, su aplicación en el estudio de pacientes con síndrome coronario agudo no ha sido estudiada en detalle. La longitud telomérica podría tener relación con el pronóstico de estos pacientes, tanto durante su estancia hospitalaria como en el seguimiento. Además, podría asociarse con la presencia de factores de riesgo cardiovascular y con la severidad de la enfermedad coronaria

La actividad de la telomerasa se ha relacionado de forma directa con el desarrollo de diferentes patologías; pese a esto, su estudio en el ámbito de las enfermedades cardiovasculares se ha desarrollado poco. La posible implicación de la actividad de la telomerasa en diferentes ámbitos de la enfermedad coronaria abre la puerta a un nuevo enfoque terapéutico en este campo. En este sentido, los polimorfismos de la telomerasa TERC-63G>A (rs2293607) y TERT-1327C>T (rs2735940), cuyos alelos G y C están asociados respectivamente con una menor actividad de la telomerasa, podrían guardar relación con el pronóstico tras un síndrome coronario agudo y, además, asociarse con los factores de riesgo cardiovascular clásicos.

3 OBJETIVOS

3.1 Principal

- Investigar el papel de la longitud telomérica medida en leucocitos de sangre periférica en el pronóstico de los pacientes ingresados por un SCA tanto durante el ingreso hospitalario como en el seguimiento a largo plazo.

3.2 Secundarios

- Establecer la asociación entre la longitud telomérica y los factores de riesgo cardiovascular clásicos en pacientes con SCA: HTA, diabetes mellitus, dislipidemia y tabaquismo.
- Estudiar la influencia de la longitud telomérica sobre parámetros de gravedad de la enfermedad coronaria en pacientes con SCA: extensión de la enfermedad coronaria, tamaño del IAM y fracción de eyección.
- Analizar de los polimorfismos de la telomerasa TERC-63G>A (rs2293607) y TERT-1327C>T (rs2735940) en pacientes con SCA y su posible asociación con los factores de riesgo cardiovascular clásicos y el pronóstico de los pacientes.

4 IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

La enfermedad coronaria es una enfermedad muy prevalente y una de las principales causas de morbimortalidad en nuestra sociedad. El SCA supone su manifestación más grave por lo que deben implementarse las estrategias destinadas a mejorar el pronóstico de estos pacientes.

El conocimiento de nuevos factores que modifiquen este pronóstico y que puedan por tanto proporcionar diferentes abordajes terapéuticos y asistenciales de esta patología se ha convertido en un objetivo clave en la investigación cardiovascular.

5 MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Diseño y población de estudio

Hemos diseñado un estudio de cohortes en el que se incluyeron 150 pacientes varones de edades comprendidas entre los 50 y los 75 años que habían sufrido un SCA en los que se analizaron diferentes variables pronósticas.

Todos los pacientes fueron atendidos de manera consecutiva en la Unidad Coronaria del Hospital Universitario de Salamanca en el periodo comprendido entre Enero de 2004 y Octubre de 2005. El estudio fue aprobado por el comité ético de dicho hospital y los pacientes firmaron un consentimiento informado.

Se eligieron exclusivamente varones con el objeto de evitar que el sexo actuase como factor de confusión al existir suficiente evidencia sobre la mayor longitud telomérica presente en las mujeres respecto a los varones^{306, 308}. En el mismo sentido se decidió escoger individuos con una estrecha franja de edades para conseguir mayor homogeneidad en la medición de la longitud telomérica evitando así las variaciones debidas al envejecimiento biológico⁵⁹.

Se realizó un seguimiento clínico mediante entrevistas personales o llamadas telefónicas con periodicidad semestral hasta Julio de 2007.

5.2 Definición de SCA

Al ingreso se estableció el diagnóstico de SCACEST en los pacientes que presentaron dolor de características coronarias con elevación del segmento ST en dos o más derivaciones contiguas de al menos 1 milímetro de amplitud o presencia de nuevo bloqueo de rama izquierda en el ECG. Fueron diagnosticados de SCASEST aquellos pacientes con dolor coronario típico sin elevación del segmento ST, que incluía descensos del segmento ST, inversiones de la onda T y/o ECG normal.

Entre los pacientes que presentaron un SCASEST se incluyeron pacientes con angina inestable (sin elevación de marcadores de daño miocárdico) e IAM sin onda Q (con elevación de marcadores de daño miocárdico). El diagnóstico de IAM se realizó en función del último consenso vigente en aquellos años publicado en el año 2000³²⁴ y se estableció en los casos en los que existía una elevación típica de marcadores de daño miocárdico seguida de un descenso gradual junto con la presencia de al menos uno de los criterios siguientes: síntomas isquémicos, desarrollo de ondas Q en el ECG o

cambios sugestivos de isquemia (elevación o descenso del ST) y/o intervención sobre una arteria coronaria.

5.3 Variables estudiadas

5.3.1 Variables medidas al ingreso

Las variables recogidas de la historia clínica fueron:

- Edad.
- Factores de riesgo cardiovascular:
 - Diagnóstico previo de diabetes mellitus (DM).
 - Diagnóstico previo de HTA.
 - Índice de masa corporal (IMC). Se consideró obesidad si el IMC era mayor o igual a 30 (según el criterio de la OMS).
 - Tabaquismo (fumador activo o exfumador desde hace menos de 1 año).
 - Diagnóstico previo de dislipidemia.
- Tipo de SCA (SCACEST o SCASEST).
- Grado de insuficiencia cardiaca al ingreso definido por una puntuación mayor de 1 en la escala Killip.

Se recogieron además variables analíticas:

- Creatinina plasmática.
- Perfil lipídico: niveles de colesterol total, colesterol-LDL y colesterol-HDL.
- Marcadores de daño miocárdico: valores inicial y pico de troponina I y CKMB.
- Hemograma.

Durante el ingreso se recogió también la fracción de eyección (FE) medida en algunos casos por ecocardiografía y en otros por angiografía en función de la decisión médica tomada en cada caso. Este dato no pudo determinarse en 12 pacientes. Se consideró disfunción ventricular cuando la FE fue menor del 50%³²⁵.

En los 101 pacientes en los que realizó coronariografía se midió la extensión de la enfermedad coronaria mediante el número de vasos que presentaban lesiones

coronarias significativas definidas como estenosis de más del 50% de la luz del vaso en el caso de la arteria descendente anterior o el tronco coronario izquierdo y más del 70% en el resto de localizaciones. La afectación aislada del tronco común izquierdo (TCI) se consideró equivalente a la afectación de 2 vasos. Se definió la variable “anatomía coronaria de alto riesgo” como la afectación del TCI ya que es la que más impacto tiene en el pronóstico de los pacientes y con mayor frecuencia afecta a la estrategia terapéutica a seguir³²⁶.

Finalmente se recogieron dos variables pronósticas: la mortalidad por cualquier causa y la angina recurrente definida como nuevo IAM en la misma o diferente localización y/o nuevos síntomas anginosos con o sin cambios en el ECG.

5.3.2 Variables medidas en el seguimiento

Se realizó un seguimiento medio de 636 ± 265 días mediante entrevistas clínicas y llamadas telefónicas. El seguimiento no pudo realizarse en 12 pacientes ya que 5 de ellos fallecieron durante el ingreso y otros 7 no pudieron ser contactados.

Durante el seguimiento se recogieron las siguientes variables pronósticas:

- Mortalidad por cualquier causa.
- Angina recurrente: reaparición de síntomas anginosos tras el alta hospitalaria o reingreso por SCA.
- Insuficiencia cardíaca: reaparición de síntomas de insuficiencia cardíaca tras el alta hospitalaria o nuevo ingreso por insuficiencia cardíaca.
- Necesidad de nueva revascularización: revascularización percutánea o quirúrgica tras el alta hospitalaria.

5.4 Extracción de DNA

Se extrajo DNA genómico de alto peso molecular a partir de leucocitos de sangre periférica. La forma más habitual de medir la longitud telomérica en la mayoría de los estudios clínicos y epidemiológicos es hacerlo en leucocitos de sangre periférica ya que son células fáciles de obtener³²⁷. Existe una sincronía substancial en un mismo individuo entre la longitud telomérica medida en leucocitos de sangre periférica y la medida en células somáticas³²⁸. Este hecho es más evidente en células con una alta capacidad proliferativa como las células endoteliales, sin embargo la correlación es menos exacta con otros tejidos como el cerebro, la grasa o el hígado.

En la sangre periférica, las células nucleadas se aislaron mediante centrifugación repetida y lisis eritrocitaria con solución hipotónica; el proceso consistió en centrifugación de la sangre total en 50 mL de agua bi-destilada (ddH₂O) durante 30 minutos, 1500 revoluciones por minuto (rpm), a 4°C. Tras la recuperación de la interfase creada y lisis de los glóbulos rojos con agua destilada, se lavaron las células mononucleadas en tampón Fornace (0.25 M Sacarosa; 50 mM Tris-HCl pH: 7.5; 25 mM KCl; 5 mM MgCl₂) el cual proporcionó la osmolaridad necesaria para no romper los leucocitos. Se precipitaron mediante centrifugación a 1500 rpm durante 10 minutos.

El botón de células nucleadas de la sangre se suspendió de nuevo en tampón Fornace a una concentración estimada de 5x10⁶ células/ml. A continuación se añadió EDTA 0.5 M pH 8 (concentración final 10 mM) que actúa como quelante de iones divalentes posibilitando así la inactivación de las nucleasas; docetil sulfato sódico (SDS) (concentración final 1%) para romper las membranas celulares; y proteinasa K (concentración final 50 µg/ml) para degradar las proteínas. La mezcla se incubó a 55°C durante 8-16 horas.

Tras la incubación, se procedió a la extracción y purificación del DNA tratándolo con una mezcla de fenol tamponado a pH 8 (para prevenir que el DNA fuera “atrapado” en la fase intermedia: entre la fase acuosa y la orgánica) y CIAA (cloroformo:alcohol isoamílico 24:1). Posteriormente se sometió a centrifugación. Con este proceso el DNA permaneció en la fase acuosa y se limpió de otros residuos al mezclarla con CIAA y centrifugar para separar de nuevo las dos fases, una en la que estaba contenido el DNA y otra que contenía los detritos celulares. Tras este paso se añadió etanol absoluto frío a la fase acuosa, precipitando el DNA que se recuperó, se lavó con etanol al 70% y finalmente se suspendió en ddH₂O estéril.

5.5 Medición de la longitud telomérica

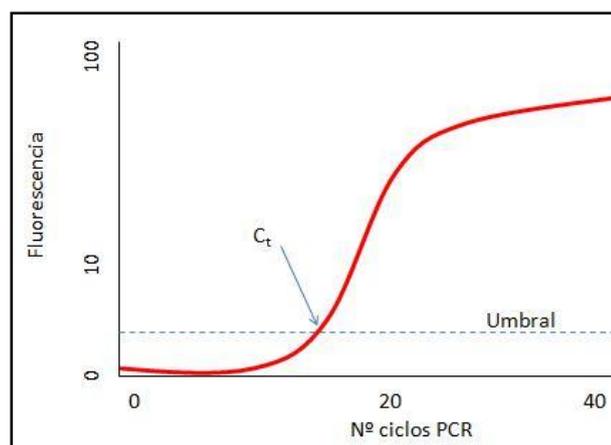
Para realizar el estudio de medida de longitud telomérica, se recurrió a la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real. Esta técnica se emplea habitualmente para la cuantificación de ácidos nucleicos con gran exactitud y fiabilidad y se basa en la monitorización de la PCR usando técnicas de fluorescencia. En nuestro caso usamos PCR cuantitativa comparativa relativa que permite conocer la longitud telomérica en una determinada muestra de DNA mediante su comparación con un DNA

de referencia^{329, 330}. Por tanto no se obtiene una medida absoluta de la longitud telomérica en kilobases.

Para llevar a cabo esta técnica se necesitan dos requisitos fundamentales:

- Disponer al inicio de la reacción de la misma cantidad de DNA en cada muestra. Para ello los DNAs extraídos de los leucocitos fueron medidos mediante espectrofotometría en el Nanodrop® ND 1000. A continuación se estandarizaron las diluciones con la finalidad de obtener una concentración fija de 5 ng/μl. Aún así, como mecanismo de control endógeno se usó un gen de copia única (gen reportero) para comprobar en cada reacción que la cantidad de DNA existente en todas las muestras era exactamente la misma. Si no fuera así, las variaciones encontradas en la longitud telomérica podrían ser debidas a diferencias en la cantidad basal de DNA. En nuestro caso usamos el gen 36b4 como gen reportero³³¹.
- Usar una muestra de referencia de DNA con la que comparar todas las demás. Para cada muestra de DNA, la PCR se repite tantas veces como sea necesario hasta obtener la misma cantidad de DNA probando que de DNA de referencia. De esta forma podemos calcular la cantidad de copias iniciales del fragmento de DNA que estamos estudiando a través del ciclo umbral (C_t). El C_t es el número de ciclos de PCR necesarios para que se produzca un aumento de fluorescencia significativo con respecto a la señal base y es inversamente proporcional a la cantidad inicial de moléculas molde. La fluorescencia captada por el lector en las PCRs de 36b4 fue la misma para todas las muestras demostrando así que partimos de la misma cantidad de DNA en cada una de ellas (el mismo C_t). Sin embargo, la fluorescencia captada en las PCRs de los telómeros varió de unas muestras a otras dependiendo de la cantidad de copias teloméricas iniciales.

Figura 14.- Esquema representativo del cálculo del ciclo umbral (Ct).



El equipo empleado para llevar a cabo la PCR a tiempo real fue StepOnePlus™ Real-Time PCR System (*Applied Biosystems*), compuesto por un termociclador y varios canales de lectura de fluorescencia. Para el manejo de este equipo se usó el programa informático StepOne software 2.1 (*Applied Biosystems*).

Como agente fluoróforo se utilizó el SYBR Green incluido en la mezcla comercial SYBR® Green PCR Master Mix (*Applied Biosystems*). El SYBR Green es un agente intercalante que se une con gran afinidad al surco menor del DNA bicatenario, aumentando su fluorescencia unas 1000 veces. Para detectar las secuencias de DNA se emplean sondas de oligonucleótidos marcadas con el fluoróforo específicas para el gen 36b4 y para las secuencias teloméricas (tabla 3).

Tabla 3.- Secuencias de los oligonucleótidos en dirección (5'-3') empleados en la reacción

Secuencias de oligonucleótidos	
Telómeros forward	5'-GGTTTTTGAGGGTGAGGGTGAGGGTGAGGGTGAGGGT-3'
Telómeros reverse	5'-TCCCGACTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTA-3'
36b4 forward	5'-CAGCAAGTGGGAAGGTGTAATCC-3'
36b4 reverse	5'-CCCATCTATCATCAACGGGTACAA-3'

Las PCRs se realizaron en placas ópticas de 96 pocillos (*MicroAmp® Fast Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode 0.1 mL, Applied Biosystems*). En cada placa se llevaron a cabo, por cada muestra, dos reacciones diferentes en pocillos diferentes: una reacción de amplificación de telómeros de la muestra y una reacción de amplificación del gen 36b4. Se realizaron tres réplicas de cada amplificación para minimizar la variabilidad en la concentración de las muestras.

Las placas fueron cubiertas con láminas transparentes ópticas para permitir la lectura de la fluorescencia a través de ellas (*MicroAmp® Optical Adhesive Film, Applied Biosystems*).

Cada reacción constó de un volumen final de 20 μl y estuvo compuesta por los siguientes elementos (tabla 4):

Tabla 4.- Cantidades relativas de cada uno de los componentes de la reacción en función del fragmento de DNA a amplificar

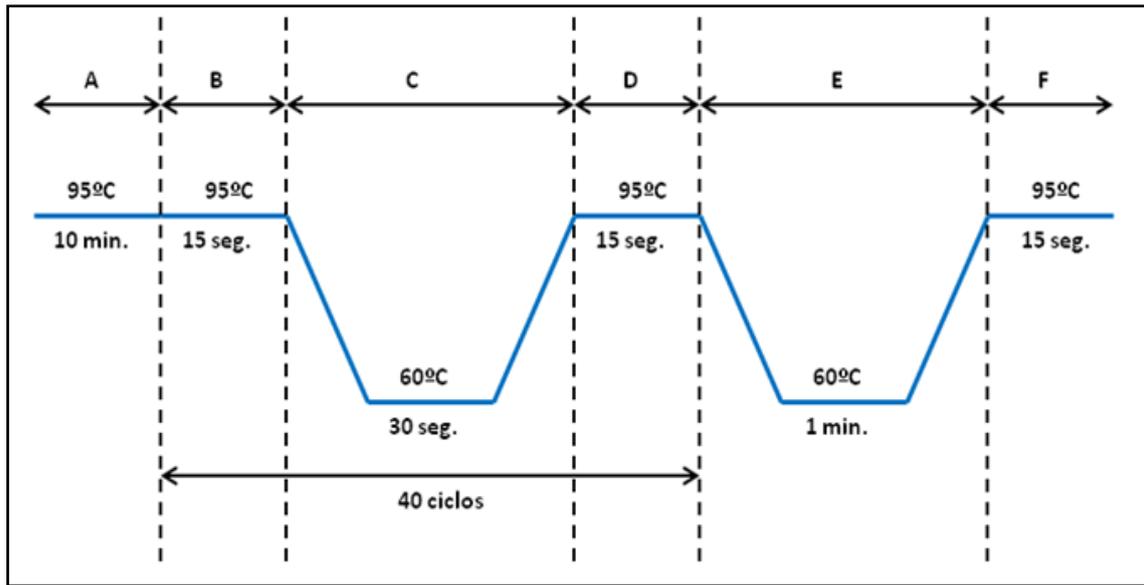
Reactivos	Amplificación telomérica	Amplificación de 36b4
SYBR Green® Master Mix	10 μl	10 μl
Oligonucleótido <i>forward</i> (5 μM)	1 μl	0.4 μl
Oligonucleótido <i>reverse</i> (5 μM)	2.33 μl	0.4 μl
ddH₂O	4.67 μl	7.2 μl
DNA (5ng/μl)	2 μl (10 ng)	2 μl (10 ng)

La eficiencia de PCR fue del 88,915% y el coeficiente de determinación de 0,976 en el caso de la amplificación del gen 36b4 y una eficiencia del 76,665% y coeficiente de determinación de 0,974 en el caso de los telómeros.

Se realizaron controles negativos en los que se incluían todos los componentes de la reacción a excepción del DNA, asegurando así la ausencia de contaminación en las reacciones de amplificación.

El programa de amplificación utilizado fue el que se expone en la figura 15:

Figura 15.- Esquema representativo del programa del termociclador para la cuantificación relativa de telómeros mediante PCR a tiempo real cuantitativa relativa.



A: tramo de desnaturalización previa; B: tramo de desnaturalización; C: tramo de anillamiento de los oligonucleótidos; D: tramo de elongación; E y F: tramos de obtención de las curvas de fusión de los fragmentos amplificados. Se incluyen las respectivas temperaturas y tiempos de cada tramo.

El análisis de la medida de la longitud telomérica se realizó gracias a los programas informáticos StepOne software 2.1 (Applied Biosystems) y GenEx 5.2.1 Enterprise.

Los datos obtenidos de las todas las PCRs se exportaron a GenEx 5.2.1 desde StepOne software 2.1., permitiendo así una valoración conjunta. GenEx es un programa adecuado para el análisis de datos en este caso mediante la realización de una corrección de las frecuencias de amplificación del fragmento a estudiar y del gen reportero. Además, normaliza las distintas réplicas de una misma muestra entre ellas y respecto al DNA de referencia presente en cada placa.

Como resultado final, una vez realizadas las correcciones y normalizaciones referidas anteriormente, la longitud telomérica se expresa mediante el cociente T/S (relación entre el número de copias de la secuencia telomérica entre el número de copias del gen de copia única, 36b4 en nuestro caso).

5.6 Análisis de los polimorfismos TERC-63G>A (rs2293607) y TERT-1327C>T (rs2735940)

La discriminación alélica de los dos polimorfismos de telomerasa se llevó a cabo mediante PCR a tiempo real^{99, 293}. En esta técnica, los procesos de amplificación y

detección se producen de manera simultánea en el mismo vial cerrado, sin necesidad de ninguna acción posterior.

Este método permite detectar y evaluar la progresión de la reacción de amplificación en cada uno de sus ciclos. Se fundamenta en la adaptación de un termociclador a un lector de fluorescencia que detecta la fluorescencia emitida por sondas o componentes intercalantes unidos al DNA.

El incremento de DNA en cada ciclo de amplificación se corresponde con un aumento de hibridación de las sondas, lo que conlleva un aumento en la misma proporción de fluorescencia emitida. El empleo de estas sondas garantiza la especificidad de la detección y permite identificar polimorfismos o mutaciones puntuales.

Para llevar a cabo la discriminación alélica de los polimorfismos se emplearon sondas TaqMan MGB® (*Applied Biosystems*). Estas sondas son oligonucleótidos marcados que hibridan específicamente y constan de:

- Un donador (fluorocromo) en el extremo 5', que absorbe energía y pasa al estado excitado, de manera que, al volver al estado inicial, emite el exceso de energía en forma de fluorescencia.
- Un aceptor o *quencher* en el extremo 3' que acepta la energía de la fluorescencia liberada por el donador y la disipa en forma de calor. El espectro de emisión del fluorocromo correspondiente se ha de solapar con el espectro de absorción del *quencher*. Para que la fluorescencia no sea emitida permanentemente, las moléculas donadora y aceptora deben estar espacialmente próximas.

Junto al *quencher*, se encuentra una modificación MGB (*minor groove binding*) que permite aumentar la temperatura de los ensayos sin tener que ampliar la longitud de la sonda y, a su vez, mejora considerable la unión específica de la sonda aumentando la precisión de la discriminación alélica.

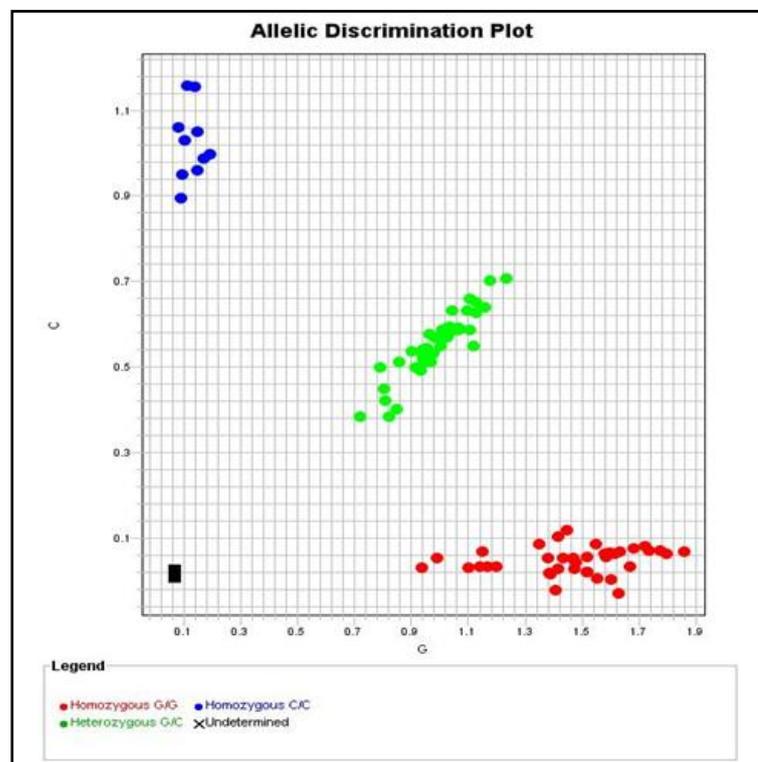
En los ensayos de discriminación alélica realizados para este estudio, los fluorocromos utilizados para el reconocimiento de cada alelo han sido VIC y FAM (tabla 5):

Tabla 5.- Espectros de excitación y emisión de las zonas VIC y FAM empleadas

Sonda	Espectro de excitación (nm)	Espectro de emisión (nm)
VIC	528	546
FAM	492	415

Durante la PCR a tiempo real, mientras la sonda conserve su integridad, la fluorescencia emitida por el donador es absorbida por el aceptor debido a su proximidad. Sin embargo, durante la amplificación, la sonda hibrida con su cadena complementaria de DNA. La enzima DNA polimerasa tiene actividad 5' exonucleasa, por lo que, al desplazarse a lo largo de la cadena en su capacidad sintética, hidroliza el extremo libre 5' de la sonda. Debido a esto, se produce la liberación del fluorocromo donador que se encuentra en ese momento muy alejado espacialmente del aceptor. De esta forma, el lector es capaz de captar la fluorescencia emitida. Las gráficas de puntos resultantes permiten la discriminación alélica en cada uno de los pacientes para el polimorfismo estudiado (Figura 16).

Figura 16.- Representación de los resultados del genotipado en la que cada nube de puntos representa a un genotipo: los dos tipos de homocigotos en los extremos y los heterocigotos en el centro



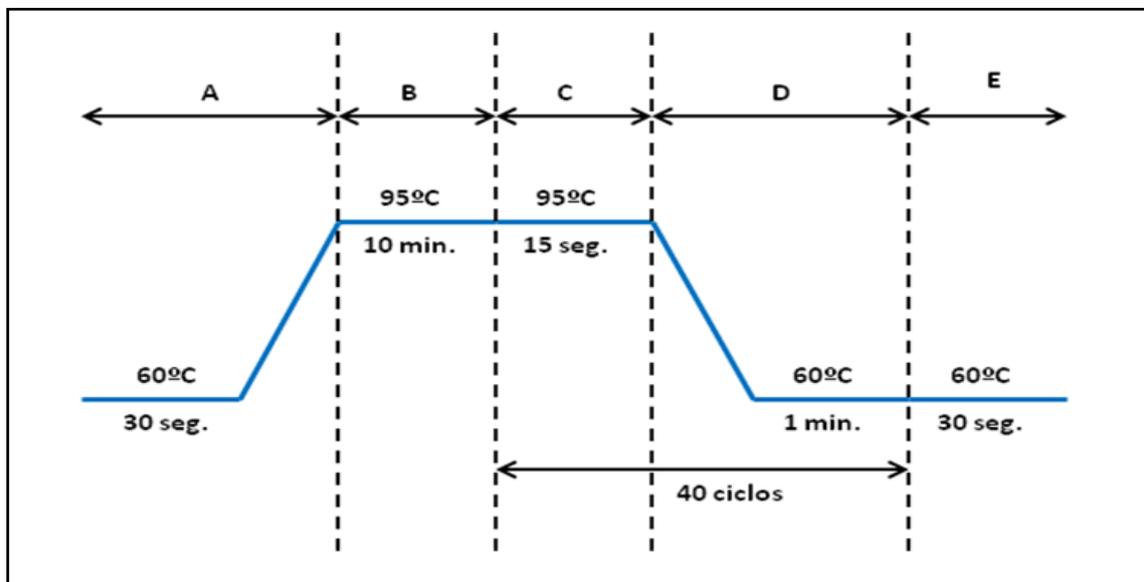
Las condiciones experimentales fueron idénticas para el estudio de ambos polimorfismos a excepción de las sondas y los oligonucleótidos empleados que son específicos para cada polimorfismo. Los componentes de la reacción fueron, además de las sondas y los oligonucleótidos, el DNA probando, ddH₂O y TaqMan® Universal PCR Master Mix No AmpErase® UNG que contiene la enzima DNA polimerasa. Las cantidades de cada componente están expresadas en la tabla 6.

Tabla 6.- Cantidades relativas de los reactivos usados en las reacciones de PCR e tiempo real.

Reactivos	Cantidades
TaqMan® Universal PCR Master Mix No AmpErase® UNG	5 µl
Sonda+oligonucleótidos	0,25 µl
ddH ₂ O	4,25 Ml
DNA	0,5 Ml

El programa de amplificación usado se expone en la figura 17.

Figura 17.- Esquema representativo del programa del termociclador para el genotipado de los polimorfismos



A: tramo de pre-PCR; B: desnaturalización inicial; C: Desnaturalización; D: anillamiento y elongación; E: elongación final.

5.7 Análisis estadístico

Las variables cuantitativas se expresaron como media ± desviación estándar si seguían una distribución normal y como mediana ± rango intercuartílico en caso contrario. El análisis de la normalidad de las variables cuantitativas se realizó mediante

el test de Kolmogorov-Smirnov. Las variables categóricas se expresaron en número total y porcentajes.

Dado que el tamaño muestral es suficiente se usaron test paramétricos para el contraste de hipótesis tal y como recomienda la literatura científica disponible^{332, 333}. Para determinar la asociación entre dos variables categóricas empleamos el test Chi-cuadrado o test exacto de Fisher cuando fue necesario. Para la comparación de variables cuantitativas y categóricas se empleó el test t de Student o el Análisis de la Varianza en función de si la variable categórica es dicotómica o no. En el caso de dos variables cuantitativas, se realizaron análisis de correlación y regresión lineal simple. Para el análisis multivariante de los factores que condicionan la longitud telomérica se usó una regresión lineal múltiple dado que se trata de una variable cuantitativa continua.

Para realizar el análisis de supervivencia fue necesario dicotomizar la variable cuantitativa (longitud telomérica) por lo que se realizó una curva ROC.

Se realizó un análisis de supervivencia de Kaplan Meier para estudiar la influencia tanto de la longitud telomérica como de los diferentes genotipos de los polimorfismos de la telomerasa en el pronóstico hospitalario y en el seguimiento de los pacientes.

Con objeto de descartar la influencia de otras posibles variables de confusión en el análisis de supervivencia, se realizó una regresión de Cox incluyendo otros factores pronósticos conocidos en la cardiopatía isquémica. Se expresó el aumento de riesgo mediante Hazard Ratio (HR). Los intervalos de confianza se describen para un nivel del 95% (IC95%). Consideramos estadísticamente significativos valores $p < 0,05$.

Para analizar los polimorfismos se utilizaron varios modelos. En primer lugar se usó un modelo general en el que se asociaba el riesgo con cada uno de los genotipos posibles. Posteriormente se aplicó un modelo dominante para los alelos asociados con disfunción de la telomerasa, es decir, el alelo G de TERC-63G>A (rs2293607) y el alelo C de TERT-1327C>T (rs2735940). Para ello se comparó en el primer caso la combinación de los genotipos G/G+A/G frente al A/A y en el segundo caso la combinación de C/C+C/T frente a T/T.

Utilizamos el programa SPSS para Windows versión 20 para realizar los cálculos estadísticos.

6 RESULTADOS

6.1 Descripción de la muestra

6.1.1 Características basales de la población

Estudiamos 150 varones entre 50 y 75 años ingresados de forma consecutiva por un SCA. Sus características clínicas recogidas en el momento del ingreso (variables epidemiológicas y variables que describen la forma de presentación del SCA) se describen en la tabla 7.

Tabla 7.- Características clínicas recogidas al ingreso (n = 150).

Variable	Número absoluto	Porcentaje (%)	Media±desviación típica
Edad			62±7
HTA	71	47,3	
DM	21	14	
Dislipidemia	67	44,7	
Tabaquismo	88	58,7	
IMC			27,7±3,6
Obesidad (IMC>30)	39	26	
SCACEST	77	51,3	
SCASEST	73	48,7	
Killip >1	27	18	

En la tabla 8 recogemos las variables analíticas estudiadas en la muestra.

Tabla 8.- Variables analíticas medidas en la muestra (n = 150).

Variable	Media±desviación típica	Mediana±rango intercuartílico
Creatinina (mg/dl)		1,05±0,3
Colesterol total (mg/dl)	200,5±45,5	
Colesterol-LDL (mg/dl)	124,2±40,9	
Colesterol-HDL (mg/dl)	44,7±12,9	
Hemoglobina (g/dl)	14,4±1,7	
Troponina I ingreso (ng/ml)		0,2±1,1
Troponina I máxima (ng/ml)		10,6±33,6
CK-MB ingreso (U/l)		7,1±21,8
CK-MB máxima (U/l)		33±106,1

6.1.2 Medición de la longitud telomérica

La longitud telomérica expresada mediante el cociente T/S seguía una distribución no normal. La mediana de la longitud telomérica en los 150 pacientes de la muestra fue $4,4 \pm 3,4$.

6.1.3 Estudio de los polimorfismos de la telomerasa

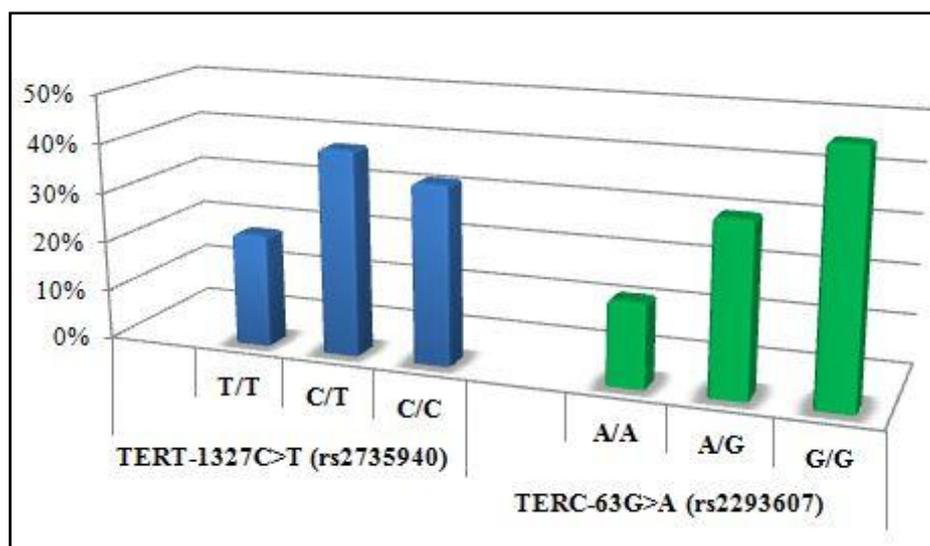
El análisis de los polimorfismos mostró una distribución como la que se muestra en la tabla 9. Además de la distribución por genotipos, se recoge de forma conjunta el número de pacientes portadores del alelo de riesgo en cada uno de los polimorfismos. No pudo estudiarse el polimorfismo TERC-63G>A (rs2293607) en un paciente por contaminación de la muestra.

Tabla 9.- Distribución de los polimorfismos de la telomerasa en la muestra (n = 150).

Variable	Número absoluto		Porcentaje (%)	
TERT-1327C>T (rs2735940)				
T/T	34		22,7	
C/T	62	116	41,3	71,3
C/C	54		36	
TERC-63G>A (rs2293607)				
A/A	25		16,8	
A/G	51	124	34,2	83,2
G/G	73		49	

En la figura 18 representamos la distribución genotípica de los pacientes de nuestra muestra.

Figura 18.- Distribución genotípica de los pacientes de la muestra



6.1.4 Características de la enfermedad coronaria

Se calculó la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FE) mediante ventriculografía o ecocardiografía en 138 (92%) pacientes. La FE mediana fue $55 \pm 10,5\%$. El número de pacientes con disfunción ventricular ($FE < 50\%$) fue de 35 (25,4%).

Se realizó cateterismo cardiaco en 101 (67,3%) pacientes. La tabla 10 recoge información acerca de la extensión de la enfermedad coronaria detallando de forma especial los pacientes que presentaron anatomía coronaria de alto riesgo (afectación de tronco común izquierdo).

Tabla 10.- Extensión de la enfermedad coronaria (n = 101).

Variable	Número absoluto	Porcentaje (%)
Sin lesiones coronarias (0 vasos)	3	3
1 vaso	47	46,5
2 vasos	18	17,8
3 vasos	33	32,7
Anatomía coronaria de alto riesgo (afectación de TCI)	8	7,9

6.1.5 Presentación de eventos en el seguimiento

a) Estancia hospitalaria

La estancia mediana fue de 7 ± 4 días. En 29 (19,3%) pacientes se realizó fibrinólisis. Se llevó a cabo revascularización coronaria según criterio del médico responsable en 83 (55,3%) pacientes; en 62 (41,3%) de ellos se procedió a angioplastia percutánea y en 21 (14%) a cirugía de revascularización. De estos 83 pacientes revascularizados, 13 habían recibido previamente fibrinolítico. Por lo tanto, se realizó terapia de reperfusión (fibrinólisis o revascularización coronaria) en 99 (66%) pacientes: 70 con revascularización coronaria exclusivamente, 16 con fibrinólisis de forma aislada y 13 fueron revascularizados tras recibir fibrinolítico.

La información relativa a los eventos definidos (angina recurrente o muerte por cualquier causa) se recoge en la tabla 11. Se estableció un evento combinado considerando de forma conjunta la presentación de cualquiera de ambos eventos.

Tabla 11.- Presentación de eventos durante la estancia hospitalaria (n = 150).

Evento	Número absoluto	Porcentaje (%)
Mortalidad	5	3,3
Angina recurrente	16	10,7
Evento combinado	21	14

b) Seguimiento a largo plazo

Se efectuó un seguimiento medio de 636 ± 265 días. El seguimiento sólo pudo realizarse en 138 (92%) pacientes ya que 5 pacientes fallecieron durante el ingreso y otros 7 no pudieron ser contactados.

En la tabla 12 se resume la presentación de los eventos considerados (mortalidad por cualquier causa, angina recurrente, necesidad de nueva revascularización e insuficiencia cardíaca). Se estableció un evento combinado considerando de forma conjunta la presentación de alguno de los sucesos previamente descritos.

Tabla 12.- Presentación de eventos en el seguimiento a largo plazo (n = 138).

Evento	Número absoluto	Porcentaje (%)
Mortalidad	5	3,6
Angina recurrente	24	17,4
Nueva revascularización	21	15,2
Insuficiencia cardiaca	7	5,1
Evento combinado	33	24,1

6.2 Contraste de hipótesis

6.2.1 Relación de la longitud telomérica con la presencia de factores de riesgo cardiovascular

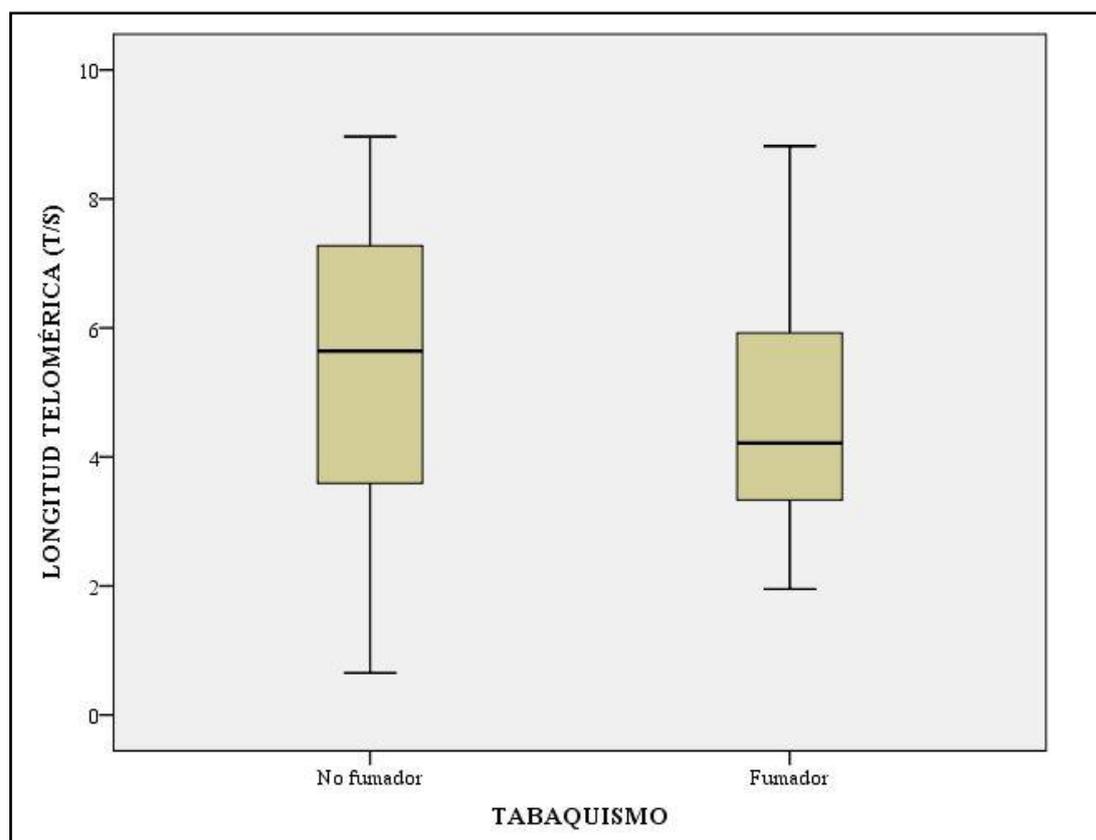
En un primer momento se analizó en qué medida la longitud telomérica podía estar determinada por la presencia de los factores de riesgo cardiovascular clásicos. En la tabla 13 se resumen los resultados

Tabla 13.- Relación entre factores de riesgo cardiovascular y longitud telomérica

Factores de riesgo	Longitud telomérica (T/S)			
	Sí	No	p	IC 95%
HTA	4,96±1,95	4,91±1,95	0,87	(-0,68 ; 0,58)
DM	4,89±1,94	4,94±1,95	0,89	(-0,85 ; 0,96)
Dislipemia	5,01±1,84	4,87±2,02	0,64	(-0,78 ; 0,48)
Tabaquismo	4,67±1,7	5,32±2,2	0,04	(0,02 ; 1,28)
Obesidad	5,16±1,83	4,89±1,95	0,46	(-0,98 ; 0,44)

Se observó una relación estadísticamente significativa entre la longitud telomérica y el hábito tabáquico de forma que ésta es menor en los fumadores que en los no fumadores como muestra la siguiente figura (figura 19):

Figura 19.- Diagrama de cajas que muestra la relación entre longitud telomérica y tabaquismo.



Realizamos a continuación un análisis de regresión múltiple que confirmó la independencia de la relación entre tabaquismo y longitud telomérica (tabla 14).

Tabla 14.- Análisis multivariante (regresión múltiple) para el estudio de la relación entre longitud telomérica y factores de riesgo cardiovascular

Factores de riesgo	Coefficiente beta	p	IC 95%
HTA	-0,22	0,52	(-0,89 ; 0,45)
DM	-0,1	0,98	(-0,91 ; 0,89)
Dislipemia	0,26	0,42	(-0,38 ; 0,91)
Tabaquismo	-0,89	0,01	(-1,56 ; -0,23)
Obesidad	0,19	0,59	(-0,52 ; 0,9)

A continuación, se estudió también la probable relación de la longitud telomérica con variables analíticas, especialmente el perfil lipídico y la función renal, sin apreciarse diferencias significativas (tabla 15).

Tabla 15.- Correlación entre la longitud telomérica y variables analíticas.

Variable	Coefficiente de Pearson	p
Creatinina	-0,13	0,1
Hemoglobina	-0,05	0,53
Colesterol total	0,02	0,76
Colesterol-LDL	0,05	0,58
Colesterol-HDL	0	1

6.2.2 Relación entre longitud telomérica y características de la enfermedad coronaria

a) Forma de presentación

Se estudió las posibles conexiones entre la longitud telomérica y el tipo de SCA (SCACEST o SCASEST) así como con la presencia de insuficiencia cardiaca al ingreso definida mediante una puntuación mayor a 1 en la escala Killip (tabla 16).

Tabla 16.- Relación entre longitud telomérica y forma de presentación del SCA.

	Longitud telomérica (T/S)			
	SCACEST	SCASEST	p	IC 95%
Tipo SCA	5,2±1,95	4,65±1,9	0,08	(-1,17 ; 0,07)
	Killip = 1	Killip >1	p	IC 95%
Insuficiencia cardiaca al ingreso	4,83±1,9	5,4±2,07	0,17	(-1,38 ; 0,24)

No se apreció ninguna relación significativa entre la longitud telomérica y la forma de presentación del SCA. Sin embargo se encontró una tendencia hacia una menor longitud telomérica en el grupo de SCASEST.

b) Tamaño del infarto

A continuación estudiamos la posible influencia de la longitud telomérica en el tamaño del infarto medido mediante el pico máximo de enzimas de daño miocárdico (CKMB y Troponina I).

Tabla 17.- Estudio de correlación entre longitud telomérica y tamaño del infarto medido por marcadores bioquímicos.

Marcador	Coefficiente de Pearson	p
CKMB máxima	0,003	0,98
Troponina I máxima	0,18	0,03

Se aprecia una correlación positiva entre longitud telomérica y valor máximo de Troponina I; de tal manera que los individuos con un valor máximo más elevado de Troponina I, tenían una longitud telomérica mayor.

c) Gravedad de la enfermedad coronaria

A continuación se analizó el papel de la longitud telomérica en la gravedad de la enfermedad coronaria definida por la presencia de disfunción ventricular izquierda (FE <50%) y la anatomía coronaria de alto riesgo (afectación del TCI).

Tabla 18.- Papel de la longitud telomérica en la gravedad de la enfermedad coronaria

Variable	Longitud telomérica (T/S)			
	Sí	No	p	IC 95%
Disfunción ventricular	4,63±2,04	5,02±1,87	0,29	(-0,35 ; 1,14)
Anatomía coronaria de alto riesgo	4,48±2,25	4,94±1,95	0,53	(-0,98 ; 1,9)

Se aprecia una tendencia no significativa hacia una mayor gravedad de la enfermedad coronaria expresada por la presencia de disfunción ventricular y/o anatomía coronaria de alto riesgo, en los individuos con una menor longitud telomérica.

6.3 Relación entre longitud telomérica y los sucesos cardiovasculares

A continuación analizamos el papel pronóstico de la longitud telomérica mediante la relación entre ésta y los sucesos adversos cardiovasculares tanto intrahospitalarios como en el seguimiento.

6.3.1 Estancia hospitalaria

Como hemos visto anteriormente (Tabla 11), durante el ingreso hospitalario (7±4 días), fallecieron 5 pacientes (3,3%) y 16 (10,7%) presentaron angina recurrente.

El suceso combinado (muerte por cualquier causa o angina recurrente) se dio en 21 pacientes (14%).

a) Mortalidad hospitalaria

En la tabla 19 se estudia la relación de la mortalidad intrahospitalaria con diversas variables clínico-epidemiológicas.

Tabla 19.- Análisis univariante de mortalidad intrahospitalaria

Variable	Supervivientes (n=145)	Muertos (n=5)	p
Longitud telomérica (T/S)	2,9±0,66	4,61±0,68	0,49
Características epidemiológicas			
Edad	62±7	60±4	0,3
HTA	69 (47,6%)	2 (40%)	0,74
DM	19 (13,1%)	2 (40%)	0,09
Dislipidemia	66 (45,5%)	1 (20%)	0,26
Tabaquismo	83 (57,2%)	5 (100%)	0,06
Obesidad	38 (27,1%)	1 (25%)	0,92
Creatinina (mg/dl)	1,12±0,48	1,3±0,4	0,42
Hemoglobina (g/dl)	14,5±1,64	12,74±3,79	0,36
Colesterol total (mg/dl)	200,2±44,75	208±69,67	0,71
Colesterol-LDL (mg/dl)	124,12±40,73	126,2±51,37	0,91
Colesterol-HDL (mg/dl)	44,7±12,59	46±21,49	0,83
Forma de presentación del SCA			
SCACEST	74 (51%)	3 (60%)	0,69
SCASEST	71 (49%)	2 (40%)	0,69
Killip >1	23 (15,9%)	4 (80%)	<0,001
Tamaño del infarto			
Troponina I máxima (ng/ml)	26,64±37,87	46±46,79	0,27
CKMB máxima (U/l)	84,69±131,94	286,12±568,94	0,47
Gravedad de la enfermedad coronaria			
Disfunción ventricular (FE<50%) ^a	32 (23,7%)	3 (100%)	<0,01

Tabla 19 continuación

Anatomía coronaria de alto riesgo (afectación de TCI)^b	7 (7,1%)	1 (50%)	0,03
--	----------	---------	------

^aN=138; ^bN=101

Se aprecia que la mortalidad intrahospitalaria está determinada por la presencia de disfunción ventricular, una puntuación mayor a 1 en la escala Killip y la afectación del TCI (Anatomía coronaria de alto riesgo). La longitud telomérica no está relacionada con la mortalidad hospitalaria.

b) Angina recurrente durante la hospitalización

Posteriormente estudiamos las variables relacionadas con el desarrollo de angina recurrente durante la hospitalización (tabla 20).

Tabla 20.- Análisis univariante de la angina recurrente durante la hospitalización

Variable	Sin angina recurrente (n=134)	Con angina recurrente (n=16)	p
Longitud telomérica (T/S)	4,95±1,86	4,77±2,6	0,78
Características epidemiológicas			
Edad	62±7	63±7	0,71
HTA	64 (47,8%)	7 (43,8%)	0,76
DM	18 (13,4%)	3 (18,8%)	0,56
Dislipidemia	60 (44,8%)	7 (43,8%)	0,94
Tabaquismo	82 (61,2%)	6 (37,5%)	0,07
Obesidad	36 (27,9%)	3 (20%)	0,51
Creatinina (mg/dl)	1,1±0,3	1,34±1,2	0,44
Hemoglobina (g/dl)	14,5±1,72	13,94±2,02	0,23
Colesterol total (mg/dl)	202,63±42,61	182,81±63,45	0,1
Colesterol-LDL (mg/dl)	126,28±38,78	106,47±56,34	0,2
Colesterol-HDL (mg/dl)	45,29±12,63	40,13±14,52	0,14
Forma de presentación del SCA			
SCACEST	74 (55%)	3 (18,8%)	<0,01
SCASEST	60 (44,8%)	13 (81,2%)	<0,01
Killip >1	26 (19,4%)	1 (6,2%)	0,19

Tabla 20 continuación

Tamaño del infarto			
Troponina I máxima (ng/ml)	27,88±38,08	22,39±39,82	0,59
CKMB máxima (U/l)	97,8±172,36	39,5±38,61	0,18
Gravedad de la enfermedad coronaria			
Disfunción ventricular (FE<50%)^a	33 (26,8%)	2 (13,3%)	0,26
Anatomía coronaria de alto riesgo (afectación de TCI)^b	6 (7,1%)	2 (12,5%)	0,46

^aN=138; ^bN=101

Apreciamos que el tipo de SCA se relaciona de forma significativa con el desarrollo de angina recurrente durante la estancia hospitalaria. Así, los pacientes con SCASEST presentaron proporcionalmente angina recurrente de forma más frecuente. La longitud telomérica no está relacionada.

c) Evento combinado intrahospitalario

Finalmente, estudiamos los factores clínicos y epidemiológicos que pudieran determinar la presencia del evento combinado intrahospitalario (muerte y/o angina recurrente).

Tabla 21.- Análisis univariante del evento combinado hospitalario

Variable	Libre de eventos (n=129)	Eventos adversos (n=21)	p
Longitud telomérica (T/S)	4,93±1,86	4,95±2,44	0,98
Características epidemiológicas			
Edad	62±7	62±7	0,97
HTA	62 (48,1%)	9 (42,9%)	0,66
DM	16 (12,4%)	5 (23,8%)	0,16
Dislipidemia	59 (45,7%)	8 (38,1%)	0,51
Tabaquismo	77 (59,7%)	11 (52,4%)	0,53
Obesidad	35 (28%)	4 (21,1%)	0,52
Creatinina (mg/dl)	1,1±0,29	1,33±1,1	0,32
Hemoglobina (g/dl)	14,56±1,58	13,65±2,5	0,12

Tabla 21 continuación

Colesterol total (mg/dl)	202,42±41,61	188,81±64,12	0,36
Colesterol-LDL (mg/dl)	126,29±38,14	111,4±54,51	0,25
Colesterol-HDL (mg/dl)	45,26±12,28	41,6±16,11	0,24
Forma de presentación del SCA			
SCACEST	71 (55%)	6 (28,6%)	0,02
SCASEST	58 (45%)	15 (71,4%)	0,02
Killip >1	22 (17,1%)	5 (23,8%)	0,45
Tamaño del infarto			
Troponina I máxima (ng/ml)	26,64±37,87	46±46,79	0,92
CKMB máxima (U/l)	84,69±131,94	286,12±568,94	0,84
Gravedad de la enfermedad coronaria			
Disfunción ventricular (FE<50%)^a	30 (25%)	5 (27,8%)	0,8
Anatomía coronaria de alto riesgo (afectación de TCD)^b	6 (6%)	2 (16,7%)	0,13

^aN=138; ^bN=101

Se objetiva que sólo el tipo de SCA se relaciona con la presentación del evento combinado intrahospitalario, de tal forma que éste se da con más frecuencia en los pacientes con SCASEST. Existe también una tendencia a una menor cifra de hemoglobina en pacientes que presentan complicaciones intrahospitalarias. La longitud telomérica no parece jugar un papel en la aparición de complicaciones durante el ingreso hospitalario.

6.3.2 Seguimiento a largo plazo

Como hemos mencionado anteriormente, se dispone de datos del seguimiento en 138 pacientes (92%). De ellos, 5 (3,6%) pacientes fallecieron por cualquier causa, 24 (17,4%) presentaron angina recurrente, 21 (15,2%) precisaron una nueva revascularización y 7 (5,1%) desarrollaron insuficiencia cardiaca. Se definió un suceso combinado para aquellos pacientes que presentaron cualquiera de los eventos descritos durante el seguimiento. Dicho suceso combinado se dio en 33 (24,1%) pacientes (Tabla 12).

A continuación estudiaremos los factores relacionados con cada uno de los eventos adversos en el seguimiento y con el suceso combinado.

a) Mortalidad

Durante el seguimiento, fallecieron 5 pacientes. En la tabla 22 se recogen los factores relacionados con la mortalidad por cualquier causa.

Tabla 22.-Análisis univariante de mortalidad en el seguimiento

Variable	Supervivientes (n=133)	Muertos (n=5)	p
Longitud telomérica (T/S)	4,94±1,95	4,19±1,77	0,4
Características epidemiológicas			
Edad	62±7	66±5	0,19
HTA	61 (45,9%)	4 (80%)	0,13
DM	17(12,8%)	2 (40%)	0,08
Dislipidemia	60 (45,1%)	2 (40%)	0,82
Tabaquismo	73 (54,9%)	5 (100%)	0,04
Obesidad	36 (28,1%)	1 (20%)	0,69
Creatinina (mg/dl)	1,11±0,49	1,46±0,44	0,13
Hemoglobina (g/dl)	14,55±1,59	14,1±0,6	0,49
Colesterol total (mg/dl)	199,5±45,47	222,4±27,65	0,27
Colesterol-LDL (mg/dl)	123,48±41,44	144,8±16,02	0,25
Colesterol-HDL (mg/dl)	44,79±12,71	38,8±10,74	0,3
Forma de presentación del SCA			
SCACEST	69 (51,9%)	2 (40%)	0,6
SCASEST	64 (48,1%)	3 (60%)	0,6
Killip >1	20 (15%)	2 (40%)	0,13
Tamaño del infarto			
Troponina I máxima (ng/ml)	26,82±38,33	12,66±11,83	0,41
CKMB máxima (U/l)	84,8±134,75	68,2±77,81	0,78
Gravedad de la enfermedad coronaria			
Disfunción ventricular (FE<50%) ^a	29 (23,4%)	2 (40%)	0,39

Tabla 22 continuación

Anatomía coronaria de alto riesgo (afectación de TCI)^b	6 (6,6%)	0 (0%)	0,59
Manejo terapéutico			
Terapia de reperfusión hospitalaria	87 (65,4%)	4 (80%)	0,49

^aN=129; ^bN=95

Observamos que la el hábito tabáquico es el único factor relacionado de forma significativa con la mortalidad en el seguimiento. Además, pese a no encontrar significación estadística, los pacientes que fallecieron en el seguimiento tenían un peor perfil lipídico y mayores niveles de creatinina plasmática. La longitud telomérica fue menor en los pacientes que fallecieron aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

b) Angina recurrente

Durante el seguimiento, 24 pacientes presentaron de nuevo síntomas anginosos o fueron ingresados por un SCA. El análisis univariante de los factores relacionados con la aparición de angina recurrente se resume en la tabla 23.

Tabla 23.- Análisis univariante de la aparición de angina recurrente

Variable	Sin angina recurrente (n=114)	Con angina recurrente (n=24)	p
Longitud telomérica (T/S)	5,06±1,99	4,21±1,59	0,03
Características epidemiológicas			
Edad	62±7	64±7	0,23
HTA	50 (43,9%)	15 (62,5%)	0,09
DM	16 (14%)	3 (12,5%)	0,84
Dislipidemia	50 (43,9%)	12 (50%)	0,58
Tabaquismo	65 (57%)	13 (54,2%)	0,79
Obesidad	29 (26,6%)	8 (33,3%)	0,51
Creatinina (mg/dl)	1,08±0,27	1,32±1,02	0,27
Hemoglobina (g/dl)	14,54±1,53	14,53±1,78	0,98
Colesterol total (mg/dl)	201,04±45,57	196,96±43,44	0,69

Tabla 23 continuación

Colesterol-LDL (mg/dl)	127,01±39,09	111,7±47,58	0,1
Colesterol-HDL (mg/dl)	45,16±12,75	41,78±12,08	0,25
Forma de presentación del SCA			
SCACEST	62 (54,4%)	9 (37,5%)	0,13
SCASEST	52 (45,6%)	15 (62,5%)	0,13
Killip >1	21 (18,4%)	1 (4,2%)	0,08
Tamaño del infarto			
Troponina I máxima (ng/ml)	27,85±38,96	18,96±31,18	0,29
CKMB máxima (U/l)	87,87±133,98	67,03±129,38	0,49
Gravedad de la enfermedad coronaria			
Disfunción ventricular (FE<50%)^a	26 (24,3%)	5 (22,7%)	0,87
Anatomía coronaria de alto riesgo (afectación de TCI)^b	6 (7,7%)	0 (0%)	0,24
Manejo terapéutico			
Terapia de reperfusión hospitalaria	76 (66,7%)	15 (62,5%)	0,69

^aN=129; ^bN=95

Se aprecia que los pacientes que presentaron angina recurrente en el seguimiento tenían una menor longitud telomérica. Además, se observa una tendencia a que estos pacientes tenían una peor función renal, un menor tamaño del infarto y una menor presencia de insuficiencia cardiaca al ingreso. Parece también que la angina recurrente se dio con más frecuencia entre los hipertensos.

c) Necesidad de revascularización

Veintidós pacientes tuvieron que ser sometidos a revascularización durante el seguimiento. En la tabla 24 se recoge el análisis univariante de este fenómeno.

Tabla 24.- Análisis univariante de la necesidad de revascularización en el seguimiento

Variable	Sin necesidad de revascularización (n=117)	Con necesidad de revascularización (n=21)	p
Longitud telomérica (T/S)	5,02±1,99	4,28±1,6	0,07
Características epidemiológicas			
Edad	62±7	61±8	0,75
HTA	51 (43,6%)	14 (66,7%)	0,05
DM	17 (14,5%)	2 (9,5%)	0,54
Dislipidemia	48 (41%)	14 (66,7%)	0,03
Tabaquismo	67 (57,3%)	11 (52,4%)	0,68
Obesidad	29 (26,6%)	8 (33,3%)	0,25
Creatinina (mg/dl)	1,1±0,32	1,28±1,03	0,45
Hemoglobina (g/dl)	14,52±1,52	14,6±1,87	0,84
Colesterol total (mg/dl)	199,89±43,23	202,81±55,22	0,79
Colesterol-LDL (mg/dl)	125,94±36,84	115,76±58,21	0,45
Colesterol-HDL (mg/dl)	45,16±12,84	41,48±11,43	0,22
Forma de presentación del SCA			
SCACEST	64 (54,7%)	7 (33,3%)	0,07
SCASEST	53 (45,3%)	14 (66,7%)	0,07
Killip >1	22 (18,8%)	0 (0%)	0,03
Tamaño del infarto			
Troponina I máxima (ng/ml)	27,49±36,69	19,67±43,72	0,38
CKMB máxima (U/l)	92,38±140,84	39,37±61,16	<0,01
Gravedad de la enfermedad coronaria			
Disfunción ventricular (FE<50%) ^a	26 (23,4%)	5 (27,8%)	0,69
Anatomía coronaria de alto riesgo (afectación de TCI) ^b	6 (7,3%)	0 (0%)	0,31
Manejo terapéutico			
Terapia de reperfusión hospitalaria	81 (69,2%)	10 (47,6%)	0,06

^aN=129; ^bN=95

Los pacientes que precisaron una nueva revascularización en el seguimiento fueron con más frecuencia dislipidémicos. Además, tenían un menor tamaño del infarto medido por CKMB y una menor puntuación en la escala Killip al ingreso. Existe una fuerte tendencia que roza la significación a una menor longitud telomérica y a un menor empleo de reperfusión hospitalaria en este grupo de pacientes.

d) Insuficiencia cardiaca

En el seguimiento, 7 pacientes presentaron nuevos síntomas de insuficiencia cardiaca o fueron ingresados por este motivo. La tabla 25 recoge el análisis univariante de la aparición de este evento.

Tabla 25.- Análisis univariante del desarrollo de ICC en el seguimiento

Variable	Sin ICC (n=131)	Con ICC (n=7)	p
Longitud telomérica (T/S)	4,99±1,94	3,55±1,57	0,04
Características epidemiológicas			
Edad	62±7	60±7	0,43
HTA	59 (45%)	6 (85,7%)	0,04
DM	18 (13,7%)	1 (14,3%)	0,97
Dislipidemia	57 (43,5%)	5 (71,4%)	0,15
Tabaquismo	76 (58%)	2 (28,6%)	0,13
Obesidad	36 (28,3%)	1 (16,7%)	0,53
Creatinina (mg/dl)	1,11±0,49	1,35±0,38	0,21
Hemoglobina (g/dl)	14,54±1,59	14,5±1,11	0,95
Colesterol total (mg/dl)	201,47±45,28	179,86±38,46	0,22
Colesterol-LDL (mg/dl)	125,78±40,1	98,29±49,95	0,08
Colesterol-HDL (mg/dl)	44,16±12,71	41,14±11,85	0,31
Forma de presentación del SCA			
SCACEST	69 (52,7%)	2 (28,6%)	0,21
SCASEST	62 (47,3%)	5 (71,4%)	0,21
Killip >1	19 (14,5%)	3 (42,9%)	0,05
Tamaño del infarto			
Troponina I máxima (ng/ml)	26,85±38,16	16±29,87	0,46

Tabla 25 continuación

CKMB máxima (U/l)	87,17±135,6	29,3±41,2	0,26
Gravedad de la enfermedad coronaria			
Disfunción ventricular (FE<50%)^a	28 (22,6%)	3 (60%)	0,06
Anatomía coronaria de alto riesgo (afectación de TCD)^b	6 (6,7%)	0 (0%)	0,51
Manejo terapéutico			
Terapia de reperfusión hospitalaria	86 (65,6%)	5 (71,4%)	0,75

^aN=129; ^bN=95

Apreciamos que la aparición de insuficiencia cardíaca en el seguimiento se dio con más frecuencia en los hipertensos. Además, los individuos que presentaron el evento tenían una significativa menor longitud telomérica. Existe una tendencia hacia una mayor presentación de insuficiencia cardíaca en los individuos con datos de insuficiencia cardíaca al ingreso hospitalario (Killip>1 y disfunción ventricular).

e) Evento combinado

Se definió el evento combinado como la presentación de cualquiera de los sucesos anteriores (muerte por cualquier causa, angina recurrente, necesidad de revascularización y/o ICC) durante el seguimiento. Se dio en 33 pacientes. La tabla 26 resume el análisis univariante.

Tabla 26.- Análisis univariante de la presentación del evento combinado

Variable	Sin complicaciones (n=105)	Con complicaciones (n=33)	p
Longitud telomérica (T/S)	5,13±1,98	4,18±1,68	<0,01
Características epidemiológicas			
Edad	62±7	63±8	0,44
HTA	43 (41,3%)	21 (63,6%)	0,02
DM	15 (14,4%)	4 (12,1%)	0,74
Dislipidemia	42 (40,4%)	19 (57,6%)	0,08
Tabaquismo	59 (56,7%)	19 (57,6%)	0,93
Obesidad	27 (27%)	10 (31,2%)	0,64

Tabla 26 continuación

Creatinina (mg/dl)	1,07±0,26	1,31±0,89	0,13
Hemoglobina (g/dl)	14,53±1,58	14,54±1,6	0,99
Colesterol total (mg/dl)	199,61±44,77	202,94±47,39	0,72
Colesterol-LDL (mg/dl)	125,54±38,03	120,28±49,72	0,53
Colesterol-HDL (mg/dl)	45,19±13,01	42,97±11,46	0,39
Forma de presentación del SCA			
SCACEST	57 (54,8%)	13 (39,4%)	0,12
SCASEST	48 (45,2%)	20 (60,6%)	0,12
Killip >1	17 (16,3%)	5 (15,2%)	0,87
Tamaño del infarto			
Troponina I máxima (ng/ml)	27,45±37	21,94±40,71	0,47
CKMB máxima (U/l)	89,46±138,2	65,83±117,1	0,38
Gravedad de la enfermedad coronaria			
Disfunción ventricular (FE<50%)^a	21 (21,2%)	10 (34,5%)	0,14
Anatomía coronaria de alto riesgo (afectación de TCI)^b	6 (8,2%)	0 (0%)	0,16
Manejo terapéutico			
Terapia de reperfusión hospitalaria	71 (68,3%)	20 (60,6%)	0,42

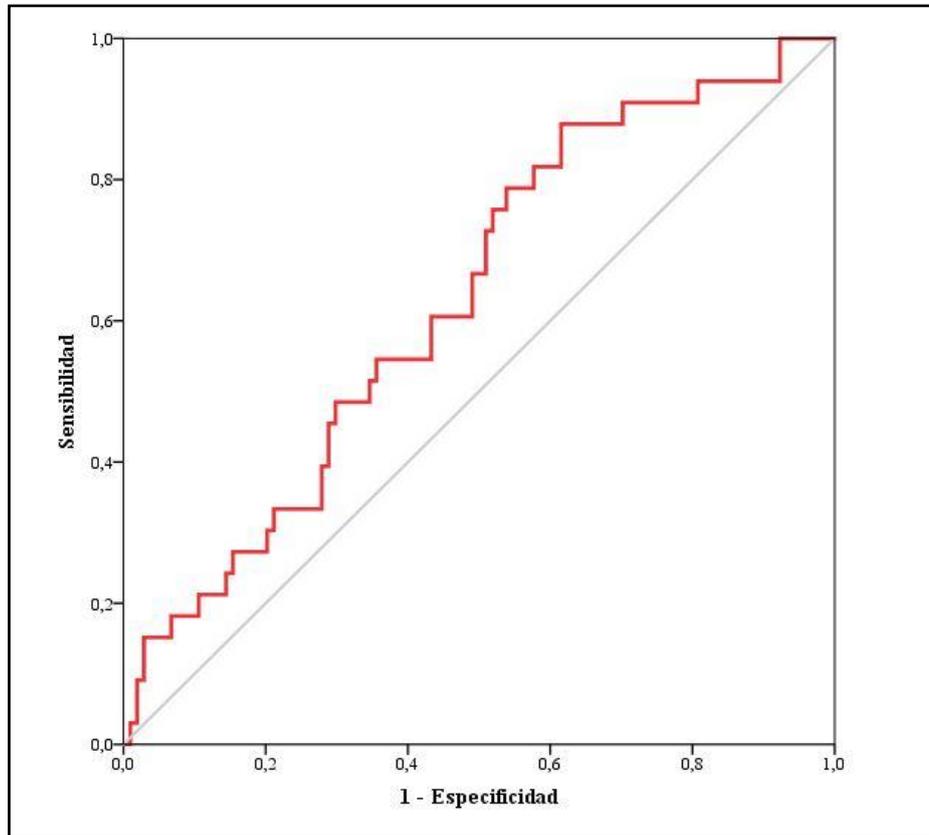
^aN=129; ^bN=95

De nuevo la HTA y, especialmente, una menor longitud telomérica son los factores involucrados de forma significativa en la aparición de complicaciones en el seguimiento. Se observa también una peor función renal y mayor presencia de dislipemia en el grupo de pacientes que presentaron el evento combinado.

A continuación planteamos un análisis de supervivencia de Kaplan-Meier con el objeto de estudiar la relación entre la longitud telomérica y la aparición del evento combinado teniendo en cuenta el tiempo de seguimiento. Como paso previo es necesario dicotomizar la variable cuantitativa continua que estamos estudiando, longitud telomérica, mediante el cálculo del mejor punto de corte. Para ello llevamos a cabo una

curva ROC que además nos permite estudiar la correlación entre la longitud telomérica y el evento combinado (figura 20).

Figura 20.- Curva ROC que correlaciona la longitud telomérica con la presentación del evento combinado en el seguimiento.



El área bajo la curva fue 0,63 ($p < 0,05$; IC 95% 0,52-0,73) y el mejor punto de corte de la longitud telomérica (T/S) fue 5,6 con una sensibilidad del 82% y una especificidad del 42%.

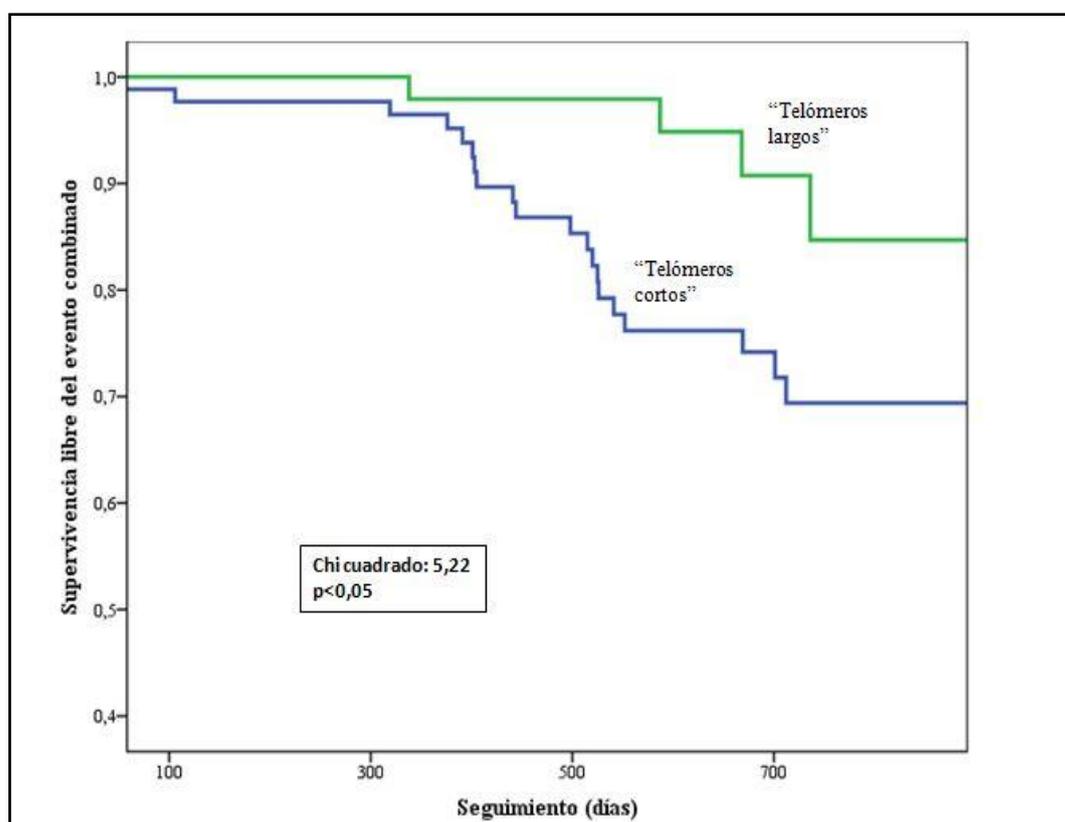
Una vez obtenido el punto de corte, clasificamos a los pacientes en dos grupos: aquellos con una longitud telomérica menor de 5,6 formaron el grupo de “telómeros cortos” y los que tenían una longitud telomérica mayor el de “telómeros largos”. La presentación de los sucesos pronósticos en el seguimiento se expone en la tabla 27.

Tabla 27.- Presentación de los eventos en el seguimiento en los pacientes con “telómeros cortos” y telómeros largos”.

	“Telómeros largos” n: 57 (38%)	“Telómeros cortos” n: 93 (62%)
Mortalidad	1 (2%)	4 (4.6%)
Angina recurrente	4 (7.8%)	17 (19.5%)
Necesidad de revascularización	4 (7.8%)	20 (23%)
Insuficiencia cardiaca	1 (2%)	6 (6.9%)
Suceso combinado en el seguimiento	6 (12%)	27 (31%)

A continuación realizamos el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier para estudiar la presentación del evento combinado en ambos grupos a lo largo del tiempo de seguimiento (figura 21).

Figura 21.- Análisis de Kaplan-Meier para la presentación del evento combinado en el seguimiento según los grupos de longitud telomérica



Se confirma de esta forma de forma consistente la relación significativa entre longitud telomérica y aparición del suceso combinado en el seguimiento de tal forma que los pacientes con una menor longitud telomérica tienen mayor tasa de complicaciones cardiovasculares en el seguimiento.

Finalmente llevamos a cabo una regresión de Cox para confirmar la independencia de la relación entre longitud telomérica y aparición del evento combinado. Incluimos en el modelo todas las variables que mostraron significación en el análisis univariante de cualquiera de los eventos pronósticos en el seguimiento y otras con conocido papel en el pronóstico de los pacientes con SCA (edad, terapia de reperfusión hospitalaria y diabetes mellitus).

Tabla 28.- Análisis de Cox para el evento combinado en el seguimiento

Variables	Hazard ratio	IC 95%	p
“Telómeros cortos”	2,91	1,14-7,38	0,02
Edad	1,02	0,97-1,08	0,45
HTA	2,09	0,92-4,77	0,08
Diabetes mellitus	0,98	0,32-3,01	0,97
Dislipemia	1,38	0,63-2,99	0,42
Tabaquismo	1,41	0,65-3,05	0,39
Killip>1	1,78	0,63-5,05	0,28
CKMB máxima (U/l)	0,99	0,99-1	0,06
Terapia de reperfusión hospitalaria	0,75	0,36-1,58	0,45

El análisis confirma la longitud telomérica corta como el único factor de riesgo independiente para la presentación de complicaciones cardiovasculares en nuestros pacientes ingresados por SCA.

6.4 Análisis de los polimorfismos de la telomerasa

Se plantean dos modelos para el análisis de los polimorfismos, un modelo general basado en los tres genotipos habituales para cada uno de los polimorfismos y otro modelo dominante para el alelo asociado a disfunción de la telomerasa.

6.4.1 Modelo general

a) TERC-63G>A (rs2293607)

La distribución de los pacientes en función de los tres genotipos del polimorfismo se comentó previamente (tabla 9). Recordamos que no pudo realizarse el estudio en un paciente por contaminación de la muestra. En el caso de este polimorfismo, es el alelo G el que se ha relacionado en estudios previos con disfunción de la telomerasa y por lo tanto con una menor regeneración telomérica tras cada división celular.

En un primer momento, estudiamos la posible relación entre los genotipos del polimorfismo TERC-63G>A (rs2293607) con la presencia de los factores de riesgo cardiovascular clásicos (HTA, DM, dislipemia y tabaquismo).

Tabla 29.- Relación entre los genotipos del polimorfismo TERC-63G>A (rs2293607) y los factores de riesgo cardiovascular

Factores de riesgo	A/A (n 25)	A/G (n 51)	G/G (n 73)	p
HTA	12 (48%)	27 (52,9%)	32 (43,8%)	0,61
DM	3 (12%)	9 (17,6%)	8 (11%)	0,55
Dislipemia	12 (48%)	25 (49%)	30 (41,1%)	0,65
Tabaquismo	17 (68%)	30 (58,8%)	40 (54,8%)	0,51

No observamos relación significativa entre la presencia de factores de riesgo cardiovascular y los genotipos del polimorfismo TERC-63G>A (rs2293607).

A continuación estudiamos el papel pronóstico de estos genotipos en nuestros pacientes con SCA mediante el análisis de los eventos combinados anteriormente descritos, tanto intrahospitalario como en el seguimiento.

Tabla 30.- Papel pronóstico de los genotipos del polimorfismo TERC-63G>A (rs2293607)

Eventos combinados	A/A (n 25)	A/G (n 51)	G/G (n 73)	p
Intrahospitalario (n 149)	4 (16%)	8 (15,7%)	9 (12,3%)	0,83
	A/A (n 23)	A/G (n 46)	G/G (n 68)	p
En el seguimiento (n 137)	8 (34,8%)	12 (26,1%)	13 (19,4%)	0,31

Tampoco observamos relación entre los eventos pronósticos y los genotipos del polimorfismo aunque se aprecia una tendencia a una mayor presencia de complicaciones, especialmente en el seguimiento, en el grupo de pacientes homocigotos para el alelo A.

b) TERT-1327C>T (rs2735940)

La distribución de los pacientes según los genotipos del polimorfismo se detalla en la tabla 9. El alelo C de este polimorfismo está relacionado con una menor actividad de la enzima

La tabla 31 recoge el estudio del papel de los genotipos del polimorfismo TERT-1327C>T (rs2735940) en la presencia de factores de riesgo cardiovascular al ingreso en nuestra muestra.

Tabla 31.- Relación entre los genotipos del polimorfismo TERT-1327C>T (rs2735940) y los factores de riesgo cardiovascular

Factores de riesgo	T/T (n 34)	C/T (n 62)	C/C (n 54)	p
HTA	9 (26,5%)	33 (53,2%)	29 (53,7%)	0,02
DM	6 (17,6%)	6 (9,7%)	9 (16,7%)	0,44
Dislipemia	11 (32,4%)	32 (51,6%)	24 (44,4%)	0,19
Tabaquismo	24 (70,6%)	37 (59,7%)	27 (50%)	0,16

Existe una menor presencia de HTA en los individuos homocigotos para el alelo T, es decir, aquellos que no poseen el alelo asociado a disfunción de la telomerasa. Además, se observa una tendencia hacia una menor presencia de dislipemia en el grupo de pacientes con el genotipo T/T.

Como siguiente paso, analizamos la influencia de los genotipos del polimorfismo en la presentación de los eventos combinados.

Tabla 32.- Papel pronóstico de los genotipos del polimorfismo TERT-1327C>T (rs2735940)

Eventos combinados	T/T (n 34)	C/T (n 62)	C/C (n 54)	p
Intrahospitalario (n 150)	5 (14,7%)	5 (8,1%)	11 (20,4%)	0,16
	T/T (n 31)	C/T (n 54)	C/C (n 53)	p
En el seguimiento (n 138)	6 (19,4%)	14 (25,9%)	13 (25%)	0,78

Aparentemente, el pronóstico de los pacientes con SCA no está determinado por los genotipos del polimorfismo TERT-1327C>T (rs2735940). A pesar de esto, los pacientes homocigotos para el alelo que confiere el riesgo, alelo C, tienen mayor porcentaje de complicaciones que los homocigotos para el alelo T.

6.4.2 Modelo dominante

A continuación clasificamos a los pacientes en función de que posean o no el alelo que confiere el riesgo en cada uno de los polimorfismos (alelo G en el polimorfismo TERC-63G>A (rs2293607) y alelo C en TERT-1327C>T (rs2735940)).

a) TERC-63G>A (rs2293607)

Primeramente investigamos las interrelaciones entre la presencia del alelo G y la presencia de los factores de riesgo cardiovascular.

Tabla 33.- Relación entre la presencia del alelo G del polimorfismo TERC-63G>A (rs2293607) y los factores de riesgo cardiovascular

Factores de riesgo	A/A (n 25)	A/G+G/G (n 124)	p
HTA	12 (48%)	59 (47,6%)	0,97
DM	3 (12%)	17 (13,7%)	0,82
Dislipemia	12 (48%)	55 (44,4%)	0,74
Tabaquismo	17 (68%)	70 (56,5%)	0,28

El modelo dominante para el alelo G confirma la ausencia de relación entre el polimorfismo TERC-63G>A (rs2293607) y la presencia de factores de riesgo cardiovascular clásicos en nuestros pacientes.

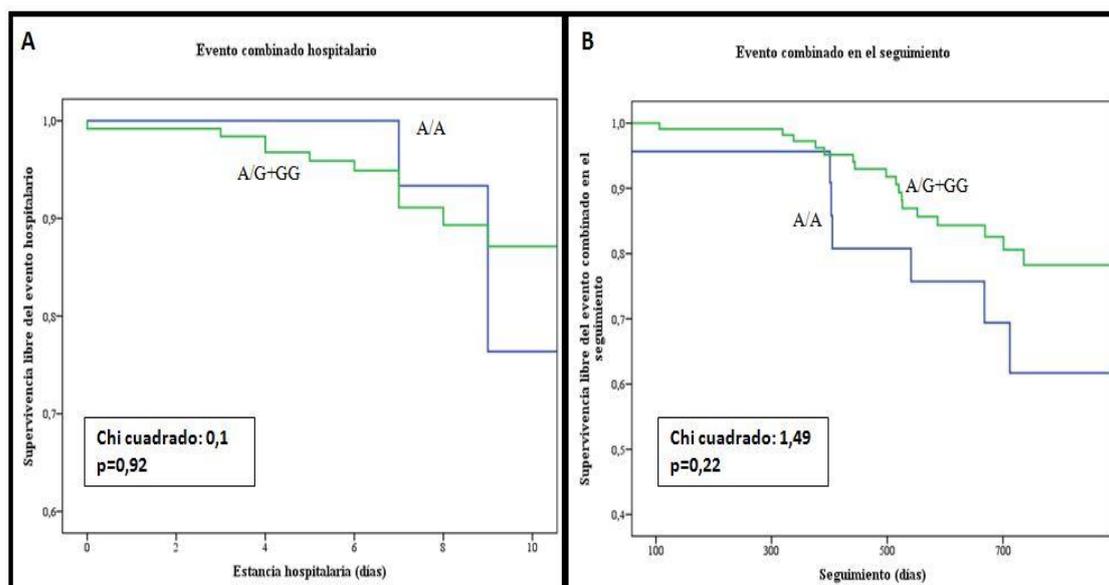
En un segundo paso investigamos el papel pronóstico de la presencia del alelo G que determina la disfunción enzimática (tabla 34).

Tabla 34.- Papel pronóstico del alelo G del polimorfismo TERC-63G>A (rs2293607)

Eventos combinados	A/A (n 25)	A/G+G/G (n 124)	p
Intrahospitalario (n 149)	4 (16%)	17 (13,7%)	0,76
	A/A (n 23)	A/G+G/G (n 114)	p
En el seguimiento (n 137)	8 (34,8%)	25 (22,1%)	0,19

Para confirmar estos resultados realizamos un análisis de supervivencia de Kaplan Meier tanto para el evento combinado hospitalario (figura 22 A) como para el del seguimiento (figura 22 B).

Figura 22.- Análisis de supervivencia para el alelo G del polimorfismo TERC-63G>A (rs2293607)



Comprobamos que la presencia del alelo G no confiere un incremento del riesgo de padecer complicaciones cardiovasculares en nuestros pacientes ni durante la estancia hospitalaria ni en el seguimiento a medio-largo plazo. Pese a esto, las curvas de supervivencia se separan al final del seguimiento apuntando hacia una menor tasa de eventos adversos en el grupo de portadores del alelo G.

b) TERT-1327C>T (rs2735940)

La tabla 35 recoge el estudio de la influencia del alelo C en la presencia de los factores de riesgo cardiovascular.

Tabla 35.- Relación entre la presencia del alelo C del polimorfismo TERT-1327C>T (rs2735940) y los factores de riesgo cardiovascular

Factores de riesgo	T/T (n 34)	C/T+C/C (n 116)	p
HTA	9 (26,5%)	62 (53,4%)	<0,01
DM	6 (17,6%)	15 (12,9%)	0,49
Dislipemia	11 (32,4%)	56 (48,3%)	0,1
Tabaquismo	24 (70,6%)	64 (55,2%)	0,11

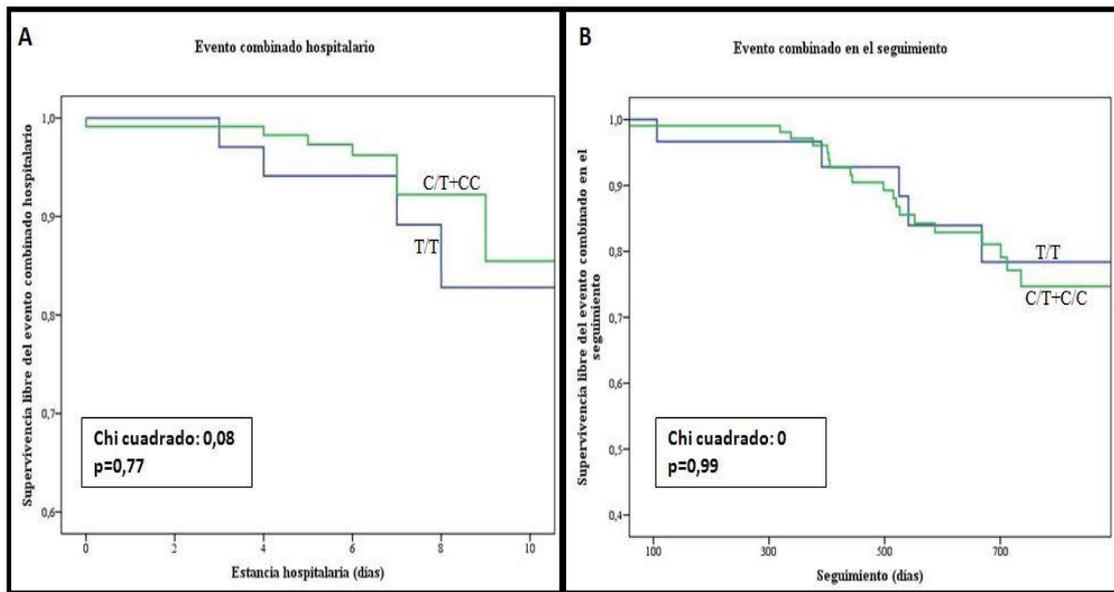
Se confirman las diferencias estadísticamente significativas encontradas en el modelo general de tal forma que los individuos portadores del alelo C, que se asocia a una menor actividad de la telomerasa, son más frecuentemente hipertensos que los homocigotos para el alelo T.

Finalmente analizamos el papel pronóstico del alelo C.

Tabla 36.- Papel pronóstico del alelo C del polimorfismo TERT-1327C>T (rs2735940)

Eventos combinados	T/T (n 34)	C/T+C/C (n 116)	p
Intrahospitalario (n 150)	5 (14,7%)	16 (13,8%)	0,89
	T/T (n 31)	C/T+C/C (n 107)	p
En el seguimiento (n 138)	6 (19,4%)	27 (25,5%)	0,48

Confirmamos estos datos con un análisis de supervivencia de Kaplan Meier para el evento combinado hospitalario (figura 23 A) y para el del seguimiento (figura 23 B).

Figura 23.- Análisis de supervivencia para el alelo C del polimorfismo TERT-1327C>T (rs2735940)

No se evidencia una influencia significativa del alelo C en el pronóstico de nuestros pacientes aunque los portadores presentan un incremento de complicaciones cardiovasculares a largo plazo.

7 DISCUSIÓN

7.1 Análisis de la población estudiada. Relación con otras series

7.1.1 Características basales

Observando los datos del registro GRACE³³⁴, que recoge información de pacientes con SCA a escala mundial, apreciamos que el porcentaje de pacientes dislipidémicos (44%) y fumadores (57%) es prácticamente equivalente a la distribución de estos factores de riesgo en nuestra muestra. La proporción de hipertensos y diabéticos fue ligeramente superior en este registro que en nuestro estudio con un 58% de hipertensos frente a nuestro 47% y un 23% de diabéticos frente a nuestro 14%.

Apreciamos datos similares al estudiar un registro europeo como el segundo Euro Heart Survey³³⁵, donde la distribución de los factores de riesgo clásicos es similar a excepción de una mayor proporción de hipertensos (hasta el 64,7% en el grupo de pacientes con SCASEST).

En lo referente a series españolas, el registro DESCARTES³³⁶ que analiza una población de pacientes con SCASEST, muestra de nuevo una mayor presencia de HTA (60,9%) y diabetes (30,9%) que en nuestra cohorte, estando el resto de factores de riesgo representados en proporción semejante.

Por otro lado, el registro MASCARA³³⁷, que analiza datos de casi ocho mil pacientes con SCA procedentes de 32 hospitales españoles, recoge una proporción de diabéticos (22,9%) e hipertensos (50%) más parecida a la de nuestro estudio. El PRIAMHO II³³⁸, con más de seis mil pacientes y una edad mediana similar a la de nuestro estudio (65,4 años) presenta datos similares.

En el caso del registro español TRIANA³³⁹, publicado en 2005 y diseñado para estudiar la estrategia de reperfusión más adecuada en ancianos con SCACEST, se compara, entre otras variables, la presencia de factores de riesgo cardiovascular en el grupo de jóvenes (menores de 75 años) y de ancianos. En el grupo de jóvenes (355 pacientes), una muestra más similar a la nuestra ya que excluye a los mayores de 75 años y sólo recoge un 15% de mujeres, la distribución de los factores de riesgo es prácticamente equivalente a la nuestra: 41% de hipertensos frente a nuestro 47,3%, 21% de diabéticos frente a nuestro 14%, 54% de fumadores frente a 58,7% y 50% de dislipidémicos frente a 44,7%.

Apreciamos que, en la mayoría de registros analizados, la proporción de hipertensos y, especialmente, diabéticos es mayor que en nuestra muestra. Este hecho puede ser debido a varias razones. En primer lugar, nuestro estudio no incluye mujeres las cuales tienen un perfil cardiovascular más desfavorable que los varones en el momento del ingreso por un SCA. Concretamente, la presencia de diabetes e hipertensión es considerablemente mayor en las mujeres con SCA que en los varones³⁴⁰. Si analizamos en detalle la población de los registros presentados anteriormente, la proporción de mujeres es elevada, superando el 30% en el MASCARA, DESCARTES o el Euro Heart Survey II. De hecho, al estudiar una población con menor número de mujeres, como el grupo de jóvenes del registro TRIANA, la distribución de los factores de riesgo es mucho más parecida a la que presentamos en este estudio a pesar de que persiste una ligera tendencia a una mayor presencia de diabéticos.

En segundo lugar, nuestro estudio excluye a los mayores de 75 años. En el registro TRIANA, los pacientes del grupo de mayores de 75 años presentaron con mayor frecuencia hipertensión y diabetes que el grupo de jóvenes, siendo las diferencias estadísticamente significativas. Además, la edad media de los pacientes recogidos en la mayoría de los registros presentados es superior a la nuestra como en el GRACE (66,3 años), MASCARA (69 años) o DESCARTES (69 años). Como hemos señalado anteriormente, en el grupo de jóvenes del registro TRIANA que excluye a los mayores de 75 años la distribución de los factores de riesgo es similar a nuestro estudio.

7.1.2 Manejo hospitalario

La estancia mediana de los pacientes de nuestro estudio fue 7 días, similar a la reportada en los registros analizados como el Euro Heart Survey II (7 días), DESCARTES (7 días) y MASCARA (8 días).

La presencia de disfunción ventricular, considerada como una fracción de eyección del ventrículo izquierdo inferior al 50%, se observó en el 25,4% de los pacientes de nuestra muestra. El registro TRIANA, que recoge enfermos con SCACEST, revela una proporción semejante (28%); sin embargo, tanto el DESCARTES como el MASCARA incluyen menos pacientes con disfunción ventricular (12,9% y 17% respectivamente). Los pacientes con insuficiencia cardiaca al ingreso (clase Killip>1) también se incluyen en nuestro estudio en un porcentaje similar

a los datos publicados en la literatura: 18% en nuestra muestra frente al 23,3% en el MASCARA y el 20% en el Euro Heart Survey II.

En el registro Euro Heart Survey II, se realizó angiografía coronaria al 70,2% de los pacientes con SCACEST y al 62,9% de los diagnosticados de SCASEST. Estos datos son similares a los encontrados en los pacientes de nuestro estudio en los que se realizó coronariografía en el 67,3% de la población global (consideramos de forma conjunta el SCASEST y el SCACEST).

La tasa de realización de cateterismo cardíaco se mantiene en unas cifras parecidas en los registros españoles. Así, en el registro MASCARA se llevó a cabo coronariografía al 63% de los pacientes y en el DESCARTES (que incluye sólo a pacientes con SCASEST) al 41,4%. El registro TRIANA sólo incluye pacientes con SCACEST a los que se realizó intervencionismo coronario por lo que no es aplicable en este caso.

En cuanto a las características de la enfermedad coronaria, los pacientes de nuestro trabajo presentan una enfermedad coronaria más extensa que los incluidos en otros registros. El 32,7% de nuestros pacientes tenían afectación de tres vasos, cifra muy superior a la del registro MASCARA (16,9%) o TRIANA (18,8%). Nuestros enfermos presentaron también con más frecuencia afectación de tronco coronario izquierdo, dato que marca fuertemente el pronóstico de los pacientes con SCA. Así, hasta 7,9% de los enfermos de nuestro estudio tenían afectación del tronco izquierdo, mientras que sólo el 3% de los pacientes del TRIANA y el 6,2% de los del MASCARA presentaron enfermedad de tronco. Sin embargo, los pacientes del DESCARTES presentaron una extensión de la enfermedad coronaria similar a los nuestros con un 9,2% de afectación de tronco coronario izquierdo y un 27,6% de enfermedad de tres vasos. Este hecho podría explicarse porque nuestros pacientes son más jóvenes, ya que son éstos los que habitualmente presentan una enfermedad coronaria más extensa. Esta explicación estaría apoyada por los datos del TRIANA donde son los jóvenes los que presentan más frecuentemente enfermedad de tres vasos.

En lo referente a la terapia de reperfusión, en el Euro Heart Survey II se realizó intervencionismo coronario percutáneo en el 57,8% de los pacientes con SCACEST y en el 37,1% de los que presentaron SCASEST. Se administró fibrinólisis en el 41% de

los pacientes con SCACEST y se llevó a cabo cirugía de revascularización coronaria en el 2,9% de los pacientes con SCACEST y en el 7,4% de los pacientes con SCASEST.

En España, los datos del registro MASCARA muestran un panorama ligeramente diferente ya que sólo se efectuó intervencionismo coronario percutáneo en el 39,7% de la población estudiada. Especialmente llamativos son los datos relativos al SCACEST, un escenario donde habitualmente se realiza coronariografía precoz, ya que sólo al 53% de los pacientes con este diagnóstico se les realizó intervencionismo coronario percutáneo. En el 43,2% de pacientes con SCACEST se llevó a cabo trombólisis, hecho que podría explicar en parte la baja proporción de angioplastias realizada en este grupo de pacientes. Se indicó cirugía coronaria en el 4,9% de los pacientes incluidos en el registro. Esta estrategia predominantemente conservadora se confirma en el registro DESCARTES, con enfermos con SCASEST, donde sólo se realizó angioplastia en el 19,9% de los pacientes y cirugía coronaria en el 4,2%.

En nuestro estudio, se realizó algún tipo de terapia de reperfusión en el 66% de los pacientes. Se efectuó angioplastia en el 41,3% de los enfermos y cirugía coronaria en el 14%. Estos datos muestran una actitud más intervencionista que en los registros mencionados anteriormente. Esto puede ser debido a que se recogen datos de pacientes más jóvenes en los que habitualmente se opta por una estrategia más agresiva. Además, sólo se incluyen datos de enfermos que ingresan en la Unidad Coronaria donde se suelen concentrar pacientes con un perfil de riesgo mayor; sin embargo, en el registro DESCARTES sólo el 17,2% de los pacientes ingresaron inicialmente en la Unidad Coronaria. De hecho, el número de pacientes con disfunción ventricular en nuestra muestra es superior al de la mayoría de las series publicadas. Finalmente, nuestros enfermos presentan una enfermedad coronaria más extensa con una mayor afectación de tronco común izquierdo y de enfermedad de 3 vasos lo que explica la alta tasa de pacientes en los que se eligió la cirugía coronaria como estrategia de revascularización.

7.2 Presentación de sucesos cardiovasculares adversos

7.2.1 Sucesos cardiovasculares adversos durante la hospitalización

a) Tasas de presentación

Los eventos recogidos durante la estancia hospitalaria, mortalidad y angina recurrente, se dieron de forma similar en nuestra muestra y en los registros publicados.

La mortalidad hospitalaria en el Euro Heart Survey II fue del 4%, 2,7% en el DESCARTES y 5,7% en el MASCARA, mientras que en nuestro estudio fue del 3,3%. Los enfermos del TRIANA sí presentaron una mortalidad hospitalaria mayor (10,8%) determinada sobre todo por una elevada tasa de enfermos con shock cardiogénico, presente en el 11,5% de los pacientes al ingreso y responsable del 64% de todos los fallecimientos.

En cuanto a la angina recurrente, de nuevo la presentación es similar a la publicada en otras series. El 10,7% de nuestros enfermos presentaron angina recurrente frente al 20,2% del DESCARTES y el 19,7% del MASCARA. Los autores del registro TRIANA sólo aportan los datos de los pacientes que presentaron nuevo IAM durante la hospitalización representando estos el 1,5% del total. No están disponibles los datos de angina recurrente intrahospitalaria en el Euro Heart Survey II. Esta pequeña disminución en la presentación de eventos desfavorables durante la hospitalización en nuestra serie puede ser debida en parte a una estrategia más frecuentemente intervencionista.

b) Determinantes de mortalidad y angina recurrente

Los principales registros internacionales publicados que estudian los factores determinantes del pronóstico intrahospitalario en el SCA son el registro GRACE³³⁴ y el estudio derivado de este publicado por Granger et al en 2003²⁵⁰ que incluyen pacientes en todo el espectro del SCA. Además los estudios GUSTO son también aplicables en este punto; el GUSTO I³⁴¹ que incluye pacientes con SCACEST y el GUSTO Iib³⁴² que de nuevo engloba ambos tipos de SCA. Como resumen de estos estudios, se han descrito ocho factores de riesgo independientes de mortalidad intrahospitalaria: edad, clase Killip, niveles de presión arterial sistólica al ingreso, parada cardiaca como forma de presentación, desviación del segmento ST, niveles de creatinina en plasma, niveles iniciales de enzimas cardiacas y frecuencia cardiaca al ingreso.

Como vimos en la tabla 19, la mortalidad en nuestra población viene determinada principalmente por una anatomía coronaria de riesgo, la presencia de insuficiencia cardiaca al ingreso definida como una clase Killip > 1 y la disfunción ventricular izquierda. En nuestro modelo no hemos incluido datos sobre las constantes vitales al ingreso (presión arterial y frecuencia cardiaca) ni la parada cardiaca como

forma de presentación independiente. Además, se tuvieron en cuenta los valores pico de las enzimas cardíacas y no los iniciales.

La clase Killip > 1 se confirma como variable independiente de mortalidad en la mayoría de los estudios publicados como los citados arriba. La disfunción ventricular izquierda no se recoge como tal en los estudios mencionados pero es fiel reflejo de la presencia de insuficiencia cardíaca al ingreso y, además, sí se ha relacionado con la mortalidad hospitalaria en otros registros como el TRIANA³³⁹. La anatomía coronaria de riesgo y, en concreto, la afectación del tronco coronario izquierdo es factor pronóstico en la cardiopatía isquémica y su tratamiento se considera con el fin de mejorar la supervivencia en todas las formas de presentación de la cardiopatía isquémica³⁴³.

En nuestro estudio no encontramos relación entre la edad y la mortalidad intrahospitalaria. Este hecho es consecuencia del diseño del estudio ya que se decidió incluir solo a pacientes con un estrecho margen de edad, entre los 50 y los 75 años, y es precisamente en los mayores de 75 años donde se concentran la mayor parte de las complicaciones, como ha quedado demostrado en registros como el TIMI III (en pacientes con SCASEST)³⁴⁴ o el TRIANA (en pacientes con SCACEST).

Observamos que los pacientes que fallecieron durante el ingreso tenían niveles plasmáticos de creatinina en el momento del ingreso más altos que los supervivientes, sin embargo, las diferencias no son significativas. Esta discordancia entre nuestros resultados y los datos recogidos en la mayoría de los registros citados se debe probablemente al bajo número de pacientes que murieron durante el ingreso, sólo cinco. Además la función renal global de la muestra es bastante buena con una creatinina media de $1,05 \pm 0,3$ mg/dl.

No observamos relaciones significativas entre los valores máximos de enzimas cardíacas y la mortalidad. Debe tenerse en cuenta que los valores pico de las enzimas cardíacas son muy variables ya que es frecuente encontrar picos altos precoces tras la reperfusión precoz traduciendo éxito en el procedimiento³⁴⁵. Este hecho puede alterar el valor pronóstico de las enzimas cardíacas en el SCA. Además en los registros mencionados anteriormente el valor inicial es el parámetro que se correlaciona mejor con el pronóstico, mientras que en nuestro caso incluimos en el modelo solamente el valor máximo.

En lo referente a la angina recurrente, observamos una mayor presentación de este evento en los pacientes con SCASEST, así como en el caso del suceso combinado. Aunque algunos estudios muestran un mejor pronóstico en los pacientes con SCASEST, éste es sobre todo en términos de mortalidad. Además, hay que tener en cuenta que todos los pacientes incluidos en nuestro estudio ingresaron en la Unidad Coronaria lo que puede constituir un sesgo de selección ya que los SCASEST que ingresan en esta unidad habitualmente son los más graves, presentando la mayoría alteraciones electrocardiográficas o elevación de marcadores cardiacos. Por otro lado, nuestros pacientes fueron tratados predominantemente con una estrategia de reperfusión (66%). Este hecho podría influir en el pronóstico de los pacientes con SCASEST ya que frecuentemente son tratados de forma más conservadora en otros estudios publicados como el DESCARTES donde sólo se realizó angioplastia al 19,2% de estos enfermos³³⁶.

7.2.2 Sucesos cardiovasculares adversos durante el seguimiento

a) Tasas de presentación

La mortalidad de nuestros pacientes tras un seguimiento de casi dos años fue del 3,6%. Esta cifra es menor que la reportada en otras series; sin embargo, la comparación es dificultosa ya que los periodos de seguimiento varían de unos registros a otros. A nivel nacional, el registro DESCARTES³³⁶ encontró una mortalidad del 7,8% a los 6 meses. A nivel internacional, el registro GRACE³³⁴ muestra una mortalidad a los 6 meses del 4,8%. Por otro lado, el registro GUSTO Iib³⁴² arroja unos datos de mortalidad a un año del 8,8% en el caso del SCASEST y del 9,6% en el del SCACEST. Otros registros muestran mayor mortalidad en el grupo del SCASEST como el registro OPERA³⁴⁶ con 8,2% de fallecidos entre los enfermos con SCASEST frente a un 5% entre los SCACEST.

Los datos de mortalidad son menores en nuestro estudio probablemente debido a dos razones principales. En primer lugar, excluimos a las mujeres, que han presentado peor pronóstico en algunas series^{347, 348}. Además, en el 66% de nuestros enfermos se llevó a cabo alguna estrategia de reperfusión mientras que en otros registros como en el OPERA, esta cifra es inferior.

El 17,4% de nuestros enfermos presentaron angina recurrente en el seguimiento y el 15,2% necesitaron nueva revascularización. A nivel internacional, en la serie de Maddox et al, que incluye casi 2.500 pacientes con IAM reclutados en hospitales de

Estados Unidos, el 20% de los pacientes presentó angina recurrente en el seguimiento a un año³⁴⁹, datos muy similares a los de nuestro estudio. En el HORIZONS-AMI, un estudio clínico multicéntrico destinado al análisis del efecto pronóstico del uso de bivalirudina en el contexto de la angioplastia coronaria, la tasa de reinfarto fue del 7% a 3 años³⁵⁰. En el ámbito nacional, el registro DESCARTES la tasa es significativamente inferior (5% de angina recurrente y 3,3% de nuevas revascularizaciones a los 6 meses).

Este hecho, aparte de por la diferente duración del seguimiento, puede deberse a que nuestros enfermos presentaron con más frecuencia anatomía coronaria de alto riesgo con afectación del tronco común izquierdo. Por otro lado, en la época en la que se realizó el reclutamiento de pacientes el uso de stents liberadores de fármacos así como el de injertos arteriales era menor que en la actualidad; ambas estrategias reducen la necesidad de revascularización y la angina recurrente³²⁶. Además, el DESCARTES analiza pacientes con SCASEST tratados con angioplastia coronaria sólo en el 19,9% de los casos, mientras que el 41,3% de nuestros enfermos fueron revascularizados percutáneamente; es conocido el aumento en la necesidad de revascularización de los pacientes tratados con angioplastia coronaria³²⁶.

Por último, el 5,1% de nuestros pacientes tuvieron síntomas de insuficiencia cardíaca o ingresaron por este motivo durante el seguimiento. En el registro DESCARTES, sólo el 0,3% de los pacientes presentaron insuficiencia cardíaca en el seguimiento a 6 meses. Una serie de más de mil pacientes ingresados por IAM en un hospital de Israel reveló una incidencia de insuficiencia cardíaca en el seguimiento a 23 meses del 10,7%³⁵¹.

Esta discrepancia en los datos se debe principalmente a la selección de pacientes. En el DESCARTES sólo se incluyeron pacientes con SCASEST y sólo el 12,9% de ellos tenían disfunción ventricular (frente al 25,4% de nuestra muestra). Sin embargo, en la serie israelita, sólo se estudiaron pacientes con IAM (se excluyeron pacientes con angina inestable) y la función ventricular media fue inferior al 50%. Además en esta serie más del 20% de los pacientes eran diabéticos y habían padecido anteriormente otro infarto de miocardio lo que favorece la aparición de insuficiencia cardíaca en el seguimiento.

b) Determinantes de mortalidad y otros eventos desfavorables en el seguimiento

Son múltiples los factores asociados a un peor pronóstico en el síndrome coronario agudo. En primer lugar, las variables recogidas al ingreso que mejor predicen la mortalidad y la probabilidad de reinfarto en el seguimiento a 6 meses son las incluidas en la escala GRACE³⁵²: edad, frecuencia cardíaca, presión arterial, grado de insuficiencia cardíaca al ingreso, parada cardíaca al ingreso, elevación de marcadores cardíacos, niveles séricos de creatinina elevados y desviación del segmento ST. Además, la misma escala añade otras variables pronósticas que deben estudiarse en el momento del alta hospitalaria como los antecedentes personales de cardiopatía isquémica o insuficiencia cardíaca y la revascularización hospitalaria.

En nuestra serie no hemos recogido las constantes vitales al ingreso ni los antecedentes personales de cardiopatía isquémica. De forma similar, la desviación del ST no fue incluida en el análisis y la parada cardíaca no fue registrada de forma independiente. Hemos expresado anteriormente que dado el estrecho margen de edad de los pacientes incluidos en nuestra muestra es difícil encontrar significación pronóstica con la variable edad; a pesar de esto, encontramos de forma prácticamente constante una mayor edad en los pacientes que presentaron los eventos cardiovasculares desfavorables en el seguimiento.

En cuanto a los marcadores cardíacos, en nuestro trabajo no hemos estudiado una variable dicotómica definida como la presencia o ausencia de elevación de los marcadores cardíacos, sino que ha sido estudiada como una variable cuantitativa continua. Este punto podría explicar por qué no encontramos significación pronóstica con esta variable. Además, como hemos mencionado anteriormente, los valores pico precoces de marcadores cardíacos tras la revascularización coronaria traducen éxito del procedimiento y distorsionan el valor pronóstico de los mismos. Por otro lado, los pacientes con un mayor tamaño del IAM medido por los niveles de enzimas cardíacas tienen una mayor extensión de miocardio necrótico y, por tanto, menos susceptible de ser revascularizado, este sería uno de los motivos que explicaría un menor tamaño del IAM en aquellos enfermos que necesitaron revascularización en el seguimiento.

Apreciamos una tendencia a una peor función renal en los individuos que presentaron cualquier tipo de complicación en el seguimiento, aunque no se alcanza la

significación estadística. Este dato se debe probablemente al bajo número de pacientes que presentaron eventos en el seguimiento. Además, ya hemos mencionado que la función renal de la población estudiada se acerca a los valores normales. Por otro lado, los niveles séricos de creatinina pueden alterarse por multitud de situaciones que conducen a una alteración de la producción o la secreción de creatinina^{353, 354}. Debido a esto, se han desarrollado otras formas de medida más precisas de la función renal como el aclaramiento de creatinina, que pudieran objetivar con más exactitud el grado de deterioro de la función renal de los pacientes analizados.

En el caso del grado de insuficiencia cardiaca al ingreso, parece que en nuestros pacientes tiene una mayor importancia en el pronóstico intrahospitalario que en la aparición de sucesos cardiovasculares adversos en el seguimiento, a pesar de que se observa una mayor tendencia a desarrollar insuficiencia cardiaca en este grupo. Esto probablemente sea debido a que estos enfermos, de mayor riesgo, reciben habitualmente una terapia farmacológica más completa incluyendo casi de forma universal beta bloqueantes, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y antagonistas de la aldosterona. Estos fármacos tienen reconocido papel en la mejora del pronóstico de los enfermos con SCA e insuficiencia cardiaca³⁵⁵⁻³⁵⁷, lo que explicaría una menor necesidad de revascularización en el seguimiento. Además, son enfermos en los que se opta por terapia de reperfusión intrahospitalaria más frecuentemente, especialmente con revascularización coronaria.

Finalmente, tampoco encontramos valor pronóstico de la terapia de reperfusión en nuestros pacientes. Este hecho se debe probablemente al bajo número de pacientes incluidos en el estudio y a la baja incidencia de complicaciones en el seguimiento. A pesar de esto, sí se observa una tendencia hacia una menor necesidad de revascularización en el seguimiento en el grupo de pacientes en los que se realizó reperfusión hospitalaria. Sin embargo, otros registros apuntan ya una tendencia similar, como el registro MASCARA que no encuentra asociación entre la terapia de reperfusión y el pronóstico a 6 meses³³⁷. Los autores de este registro apuntan que no se disponía de variables que afectan de forma directa al resultado de la terapia de reperfusión, como los tiempos de reperfusión (puerta-balón o puerta-aguja), lo que podría actuar como factor de confusión. Otros trabajos, como el estudio ICTUS³⁵⁸, ponen en tela de juicio el papel de una revascularización sistemática y precoz en el caso de los SCASEST y proponen

una estrategia menos invasiva, con revascularización sólo en el caso de pacientes con síntomas recurrentes o inestabilidad hemodinámica.

Nuestros resultados reflejan un peor pronóstico de los pacientes con factores de riesgo cardiovascular, especialmente tabaquismo, hipertensión arterial (HTA) y dislipidemia. El papel pronóstico de la longitud telomérica se discutirá separadamente.

El aumento de la mortalidad en el caso de los pacientes fumadores puede ser resultado en parte de la gran comorbilidad intrínseca al hábito tabáquico, no solo por enfermedades cardiovasculares sino también por broncopatías y patología tumoral. Por otro lado, la incidencia de IAM entre los varones fumadores es tres veces mayor a los no fumadores³⁵⁹. Los pacientes que continúan fumando tras un IAM tienen un incremento en el riesgo de padecer sucesos cardiovasculares adversos respecto a los que abandonan el hábito³⁶⁰.

La HTA es uno de los factores de riesgo cardiovascular más importantes ya que está involucrado en casi la mitad de todos los eventos coronarios³⁶¹. Además, tras un evento coronario agudo se recomienda disminuir la presión arterial sistólica por debajo de 140 mmHg, ya que se ha observado una menor incidencia de complicaciones cardiovasculares en este grupo³⁶². Finalmente, cabe recordar que las cifras de presión arterial están incluidas en escalas pronósticas como la escala GRACE o la escala CRUSADE¹⁸³.

Por último, en el caso de la dislipidemia, la evidencia científica es concluyente a la hora de mostrar un incremento del riesgo de nuevos eventos cardiovasculares en aquellos pacientes con un perfil lipídico más desfavorable. De hecho, algunos estudios han demostrado hasta un 20% de reducción en la mortalidad y en la incidencia de sucesos cardiovasculares adversos en aquellos pacientes que logran disminuir las cifras de colesterol-LDL bajo tratamiento con estatinas^{188, 190}. El colesterol, especialmente el colesterol-LDL, tiene un papel clave en la génesis de la placa aterosclerótica, por lo que se relaciona también con la reestenosis del stent y la obstrucción de los injertos coronarios, es por esto por lo que podría explicarse el incremento de necesidad de nueva revascularización en el grupo de dislipidémicos.

7.3 Estudio de la longitud telomérica

7.3.1 Técnica de medida

En nuestro estudio hemos empleado la PCR cuantitativa comparativa relativa para la medición de la longitud telomérica. Es un método que está ampliamente validado para este fin^{329, 330} y es el más usado en los estudios que analizan la longitud telomérica en el espectro de la cardiopatía isquémica^{284, 290}. Esta técnica muestra una excelente correlación con la medida de los fragmentos de restricción²⁸⁸, considerada hasta ahora la técnica de elección. A continuación detallaremos otras técnicas destinadas a la medición de la longitud telomérica.

La medida de los fragmentos terminales de restricción fue la primera técnica empleada para la medida de la longitud telomérica y ha sido considerada el *gold standard*³⁶³ a pesar de que actualmente ha caído en desuso. En resumen, esta técnica se basa en la extracción del DNA de las células, su digestión mediante enzimas de restricción y su posterior hibridación mediante técnica de *Southern* con una sonda específica; finalmente, se analiza mediante densitometría. Los inconvenientes principales de esta técnica se deben a que es un proceso lento y se precisa grandes cantidades de DNA. Además, la medida de los telómeros puede verse afectada por la inclusión de secuencias subteloómicas y por diversos polimorfismos de los puntos de restricción.

Una forma alternativa de medir la longitud telomérica es la hibridación in situ fluorescente (FISH) cuantitativa (Q-FISH)³⁶⁴. Se basa en la medición de la intensidad de la fluorescencia de una sonda marcada que se une al DNA telomérico. Se trata de una técnica laboriosa que precisa de cromosomas en metafase por lo que su uso es limitado. Sin embargo, este método se ha implementado recientemente, Q-FISH de alto rendimiento, permitiendo un análisis más rápido y evitando la necesidad de emplear cromosomas en metafase³⁶⁵. Hoy en día están disponibles en el mercado kits comerciales basados en esta técnica.

Una nueva modalidad de FISH es la FISH de flujo (Flow-FISH) que combina las características propias de la FISH con las ventajas de la citometría de flujo permitiendo así discriminar entre diferentes tipos de células³⁶⁶. De esta forma puede medirse fácilmente la longitud telomérica correspondiente a diversas estirpes celulares de forma simultánea^{323, 367}. Sin embargo, se necesita una precisa calibración del sistema para

asegurar la reproducibilidad del análisis debido a la probabilidad de encontrar interferencias en el proceso.

En los últimos años se han desarrollado otras técnicas como el análisis Dot-Blot que permite obtener resultados en un corto periodo de tiempo (menos de 1 hora) empleando una pequeña cantidad de DNA (unos 5 ng por muestra) lo que la hace especialmente atractiva para análisis poblacionales³⁶⁸.

Finalmente, existen técnicas especialmente útiles para detectar los telómeros más cortos, como el análisis de elongación de la longitud de telómero único (STELA). Este método está basado en técnicas de PCR y permite detectar los telómeros más cortos en los cromosomas de una célula determinada; sin embargo, no aporta información sobre la distribución de estos telómeros cortos en las diferentes células. Recientemente, se han introducido mejoras en la técnica, que ha pasado a llamarse Universal STELA, que resuelven este problema³⁶⁹. En cualquier caso se trata de una técnica experimental que requiere un proceso prolongado y laborioso por lo que no tiene aplicación en grandes estudios epidemiológicos.

En comparación con la medida de los fragmentos de restricción y las técnicas FISH, la PCR cuantitativa es una alternativa válida, que presenta como ventajas principales que no precisa de cromosomas en fase de división y que no se incluyen secuencias subteloméricas en la medida de la longitud telomérica. Además, esta técnica permite obtener resultados en un breve periodo de tiempo y su reproducibilidad es alta.

7.3.2 *Relación con factores de riesgo cardiovascular*

En nuestra muestra observamos una relación estadísticamente significativa entre la longitud telomérica y el tabaquismo de tal forma que los fumadores tienen los telómeros más cortos. Este hecho ha sido puesto de manifiesto en varios trabajos publicados en los últimos años. El mecanismo por el que el tabaco induce acortamiento telomérico parece basarse en los altos niveles de estrés oxidativo al que están expuestos los fumadores. Por otro lado, el tabaco favorece la producción de factores procoagulantes y citocinas que producen un entorno proinflamatorio en el que se facilita el acortamiento telomérico³¹².

Tanto el aumento en el estrés oxidativo como el envejecimiento celular derivado de éste juegan un papel clave en el desarrollo de enfermedades derivadas del

tabaquismo como las broncopatías, los tumores y las enfermedades cardiovasculares⁴⁶. De hecho, algunos autores plantean que la longitud telomérica refleja adecuadamente el grado de envejecimiento celular y estrés oxidativo al que están expuestos los fumadores y podría servir como marcador pronóstico del riesgo asociado al hábito tabáquico³¹².

Sin embargo, no hemos encontrado estudios previos que asocien el tabaquismo con una menor longitud telomérica en una población de pacientes con SCA. La mayoría de las investigaciones realizadas se centran en asociar el acortamiento telomérico con una mayor prevalencia de tabaquismo en una población de individuos por lo demás sanos⁴⁷. Existen también otros trabajos que ponen de manifiesto un mayor índice de complicaciones en aquellos pacientes fumadores con broncopatías y telómeros más cortos respecto a los enfermos con mayor longitud telomérica³⁷⁰.

Esta asociación, encontrada en nuestro grupo de pacientes con SCA, revela el efecto deletéreo del tabaco sobre la longitud telomérica y, por lo tanto, se confirma que el mayor envejecimiento celular que padecen se mantiene incluso en enfermos de un perfil de riesgo cardiovascular muy alto. Evidenciamos en el análisis multivariante que el tabaquismo es el único factor de riesgo cardiovascular que acorta los telómeros en nuestra muestra. Este hallazgo puede ser un primer paso hacia el estudio de nuevos mecanismos patogénicos que podrían explicar mejor la conexión entre el tabaquismo y la enfermedad cardiovascular.

No encontramos relación entre otros factores de riesgo y la longitud telomérica. Se han publicado trabajos que asocian una menor longitud telomérica con la presencia de diabetes y con la aparición de complicaciones derivadas de esta enfermedad³⁷¹. La evidencia disponible con otros factores de riesgo cardiovascular es más pobre y no han sido estudiados en el contexto de la cardiopatía isquémica aguda.

Pese a que los diabéticos de nuestra muestra tienen una menor longitud telomérica que los no diabéticos, no encontramos asociación estadística. Este hecho es consecuencia probablemente del escaso número de diabéticos incluidos (sólo un 14%) así como por el hecho de que la población del estudio tenga un perfil de riesgo cardiovascular muy alto donde nunca se ha demostrado esta asociación.

7.3.3 *Relación con características de la enfermedad coronaria*

En nuestro estudio no encontramos asociación entre las características de la enfermedad coronaria y la longitud telomérica. Únicamente se observa relación con el tamaño del infarto medido mediante la troponina I; de esta manera, los individuos con una mayor longitud telomérica tendrían un mayor tamaño del infarto. Este dato, que en principio podría resultar paradójico, podría deberse a que los pacientes con una mayor longitud telomérica son, con mayor frecuencia, no fumadores por lo que tendrían un menor grado de precondicionamiento isquémico y, por lo tanto, el tamaño del IAM podría ser mayor³⁷².

No existen en la literatura datos acerca del posible papel de la longitud telomérica y las características de la enfermedad coronaria en enfermos con SCA. Sí se ha descrito una menor longitud telomérica en aquellos pacientes con enfermedad coronaria multivaso pero en el ámbito de la angina crónica estable²⁸². También hay datos disponibles que apoyan la asociación de los telómeros con los síntomas de insuficiencia cardíaca y la disfunción ventricular^{302, 304} pero estos trabajos se han realizado en pacientes estables y, además, estudios recientes ponen en duda esta relación³⁰³.

7.3.4 *Relación con sucesos cardiovasculares adversos*

En nuestro estudio demostramos una asociación estadísticamente significativa entre una menor longitud telomérica y una mayor incidencia de sucesos cardiovasculares adversos en el seguimiento, especialmente mediante un incremento en la presentación de angina recurrente e insuficiencia cardíaca. No encontramos relación con el pronóstico intrahospitalario.

Los telómeros son marcadores de estrés oxidativo, envejecimiento celular y ambiente proinflamatorio, lo que provoca un efecto deletéreo en el endotelio vascular y favorece a la aparición de enfermedades cardiovasculares. Estos fenómenos constituyen la vía final común de multitud de procesos ambientales o endógenos que favorecen el acortamiento telomérico.

Una vez conocido este mecanismo, es difícil esperar que este proceso origine complicaciones cardiovasculares en un plazo tan corto como la estancia hospitalaria. De hecho, la práctica totalidad de los trabajos publicados sobre el papel pronóstico de la longitud telomérica, no sólo en la cardiopatía isquémica, marcan como objetivo

principal la aparición de eventos a largo plazo. Por otro lado, la incidencia de complicaciones cardiovasculares durante el ingreso en nuestra muestra es baja (sólo 16 pacientes), lo que disminuye la potencia estadística.

Nuestros hallazgos acerca del papel pronóstico a largo plazo de la longitud telomérica en pacientes con SCA confirman y completan los datos aportados por Farzaneh-Far et al²⁸⁴. En este trabajo, los autores miden la longitud telomérica mediante PCR cuantitativa en 780 pacientes con enfermedad coronaria estable. Tras ajustar por otros factores pronósticos, los pacientes con una menor longitud telomérica presentaron una mayor incidencia de muerte por cualquier causa y reingreso por insuficiencia cardíaca. Sin embargo, no encontrar una mayor incidencia de sucesos cardiovasculares adversos definidos por muerte cardiovascular, accidente cerebrovascular o reinfarcto de miocardio.

Otros estudios prospectivos, realizados en pacientes sanos, muestran una mayor incidencia de complicaciones cardiovasculares entre individuos sanos. Por ejemplo, Cawthon et al incluyeron en su investigación a 143 individuos sanos encontrando una menor supervivencia entre aquellos con una menor longitud telomérica, sobre todo a expensas de un incremento en la mortalidad cardiovascular y por enfermedades infecciosas⁶⁷.

Uno de los estudios prospectivos con mayor número de pacientes es el publicado por Bouillette et al²⁸⁸. Este trabajo se basa en el West of Scotland Primary Prevention Study (WOSCOPS) que incluye 6.595 varones entre 45 y 64 años con dislipidemia y sin antecedentes de cardiopatía isquémica. Fueron aleatorizados a tratamiento con placebo o pravastatina con el objeto de analizar los efectos de este hipolipemiente en la incidencia de enfermedades cardiovasculares (muerte cardiovascular o IAM) en un seguimiento casi de 5 años. Para su trabajo, Brouillette et al midieron, mediante PCR cuantitativa, la longitud telomérica en los leucocitos de sangre periférica de 484 pacientes que presentaron eventos en el seguimiento y los parearon por edad con 1.058 controles que no presentaron complicaciones cardiovasculares. Como resultado, estos investigadores encontraron una asociación estadísticamente significativa entre una menor longitud telomérica y una mayor incidencia de sucesos cardiovasculares; además, este incremento en el riesgo se vio atenuado por el uso de estatinas.

Por otro lado, existen trabajos que no han podido demostrar asociación entre la longitud telomérica y el pronóstico cardiovascular. En primer lugar, Martin-Ruiz et al estudiaron la longitud telomérica en 598 individuos de más de 85 años; analizando una medida basal y otra unos años más tarde⁶⁸. Las conclusiones de este trabajo ponen de manifiesto una ausencia de relación entre la longitud telomérica basal y el pronóstico en este grupo de pacientes. Cabe destacar que hallaron una gran variación en la tasa de acortamiento telomérico a lo largo del seguimiento, probablemente debida a la gran inestabilidad molecular a la que están sometidos los telómeros en individuos tan ancianos. Esta razón, junto con el hecho de que la población estudiada incluye individuos sanos muy ancianos, puede explicar la discrepancia de resultados entre este trabajo y el nuestro.

Otro trabajo publicado muy recientemente por Ye et al tampoco encontró asociación entre la longitud telomérica y la incidencia de eventos cardiovasculares²⁹⁰. En este estudio se incluyeron 1.917 sujetos sanos con edades diversas a partir de los 18 años. Se realizó una medida basal de la longitud telomérica en leucocitos de sangre periférica mediante PCR cuantitativa. En un primer análisis se estableció una asociación significativa entre una menor longitud telomérica y una mayor incidencia de eventos cardiovasculares; sin embargo, tras ajustar con factores de riesgo clásicos y otros marcadores de inflamación, se perdió la significación estadística.

La ausencia de concordancia entre nuestro trabajo y el publicado por Ye et al puede explicarse por varias causas. En primer lugar, los individuos incluidos tenían edades muy diferentes incluyendo a sujetos a partir de los 18 años; la incidencia de enfermedad cardiovascular es muy baja en una población tan joven, lo que podría afectar a la validez de los resultados. Además, más de la mitad de los participantes en el estudio eran mujeres. Esto puede afectar a los resultados del estudio de dos formas diferentes, en primer lugar es sabido que la incidencia de enfermedad cardiovascular en mujeres jóvenes es muy baja y, en segundo lugar, varios estudios han puesto de manifiesto una mayor longitud telomérica en las mujeres^{45, 308}. Por otro lado, probablemente debido a la heterogeneidad de la población seleccionada, la incidencia de complicaciones cardiovasculares fue muy baja (sólo un 8,56% en un seguimiento de casi 9 años) lo que afecta de forma muy significativa a la potencia del estudio. Finalmente, los investigadores incluyeron población sana mientras que nuestro estudio se realizó en individuos ingresados por un SCA; el perfil de riesgo cardiovascular es

mucho más elevado en nuestros pacientes y es probable que los mecanismos que conducen a la recurrencia de la enfermedad coronaria sean diferentes a los responsables de un primer evento.

Nuestro trabajo es el primero que estudia la asociación entre el pronóstico cardiovascular y la longitud telomérica en pacientes ingresados por un SCA. La mayoría de estudios detallados anteriormente incluyen a población sana y sólo el trabajo de Farzaneh-Far et al estudia pacientes con cardiopatía isquémica, en su caso con angina estable, encontrando resultados similares a los nuestros. Además, realizamos por primera vez un análisis completo del papel de la longitud telomérica en todo el espectro de la presentación del SCA (relación con factores de riesgo, características de la enfermedad coronaria y pronóstico a corto y largo plazo). Algunas de estas variables ya habían sido estudiadas pero de forma separada, en poblaciones muy diversas y nunca en el contexto del SCA.

El hecho de haber puesto de manifiesto el valor pronóstico de la longitud telomérica en pacientes con SCA refleja el papel del envejecimiento celular y biológico en este problema de salud. Este fenómeno podría ser importante a la hora de encontrar nuevas dianas terapéuticas que actúen sobre la patogénesis de la enfermedad coronaria. Además, la determinación de la longitud telomérica en pacientes que ingresan por SCA podría ser de utilidad en la práctica clínica de tal manera que permitiría detectar a individuos con un incremento en el riesgo de presentar complicaciones cardiovasculares y, por lo tanto, tomar las decisiones terapéuticas más convenientes en cada caso. De hecho, si esta relación se confirmase con estudios más amplios, podría considerarse la inclusión de la longitud telomérica junto con otras variables genéticas en nuevas escalas pronósticas en el ámbito del SCA.

7.4 Análisis de los polimorfismos de la telomerasa

7.4.1 Técnica de medida

En nuestro estudio usamos la PCR a tiempo real para el estudio de la distribución de los polimorfismos en la muestra. Esta técnica es una de las más empeladas actualmente y es en la que se basan la mayoría de los trabajos publicados sobre este tema en ciencias de la salud.

Sin embargo, existen otros métodos diferentes para el estudio de los polimorfismos. Uno de los primeros en usarse para este fin fue el *Southern blot* o hibridación in situ. Consiste en la digestión del DNA con enzimas de restricción y la posterior hibridación de los fragmentos resultantes con sondas específicas de los nucleótidos que deseamos estudiar marcadas habitualmente con isótopos radiactivos. A pesar de que este análisis ha sido muy utilizado, hoy en día está en desusos debido a que se necesitan grandes cantidades de DNA y el tiempo requerido para la reacción es excesivo.

Las técnicas de análisis genético se encuentran hoy en día en continuo desarrollo y evolución. La necesidad de técnicas que permitan el aislamiento y análisis de los casi cien mil genes que componen el genoma humano justifica la existencia de líneas de investigación destinadas al descubrimiento de nuevos métodos que permitan monitorizar elevados volúmenes de información genética en paralelo y que reduzcan tanto el tiempo empleado como el coste por análisis. Para resolver estas cuestiones han aparecido nuevos test como los biochips o *microarrays*.

Los *microarrays* consisten en una pequeña lámina de vidrio que posee unos grupos reactivos, a los que posteriormente se unirán los nucleótidos, protegidos mediante una película realizada con un agente químico fotodegradable. Cada “casilla” del chip posee una cadena de un oligonucleótido de manera que solamente aquel fragmento de ADN que hibride perfectamente con ella permanecerá unido tras los diversos lavados. Previamente a la hibridación, el ADN de la muestra a estudiar debe ser marcado con fluorescencia. Una vez marcado se incuba y se introduce en un escáner en el que se detectan los patrones de hibridación. Un ordenador conectado al escáner es el que identifica las secuencias sonda por su posición en el chip. La principal ventaja de los *microarrays* es que permiten la secuenciación de múltiples genes al mismo tiempo en un corto periodo de tiempo. Además, permite el estudio de todos los posibles polimorfismos y la detección de mutaciones en genes complejos.

Pese a que los *microarrays* hoy en día facilitan el estudio de los polimorfismos de una forma significativa, su coste es elevado hace que no estén disponibles de forma universal. Debido a esto, la PCR sigue siendo la técnica más usada en este campo. El hecho de que la mayor parte de los estudios publicados estén basados en análisis mediante PCR permite la comparación de resultados entre trabajos diferentes.

7.4.2 Relación con la cardiopatía isquémica: factores de riesgo y pronóstico intrahospitalario y en el seguimiento

En nuestro trabajo hemos encontrado una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de hipertensión arterial (HTA) y el polimorfismo TERT-1327C>T (rs2735940), de tal forma que los portadores del alelo C que se asocia a disfunción de la telomerasa presentan con mayor frecuencia HTA. No hemos demostrado asociación alguna entre el polimorfismo TERC-63G>A (rs2293607) y los factores de riesgo cardiovascular. Además, en nuestra muestra ninguno de los dos polimorfismos analizados tiene papel pronóstico.

El papel de la telomerasa en la HTA ha sido analizado en varios trabajos. En uno de los más significativos, Perez-Rivero et al demuestran que una población de ratones deficitarios en el componente de ARN de la telomerasa (TERC -/-) eran con más frecuencia hipertensos³⁷³. Además, comprobaron que las cifras elevadas de presión arterial se debían a un aumento en la expresión de la enzima convertidora de endotelina y por lo tanto unos niveles plasmáticos elevados de endotelina-1. Estos datos fueron similares a los presentados en otro trabajo, que encontró una menor actividad de la telomerasa en las células progenitoras endoteliales de ratas hipertensas³⁷⁴. Por otro lado, un estudio realizado en mujeres embarazadas³⁷⁵, observó un aumento de la cantidad de TERT-mRNA en el trofoblasto de las placentas de mujeres que presentaron preeclampsia frente a aquellas que no tuvieron ninguna complicación hipertensiva durante el embarazo. Este hecho pudiera ser debido a un aumento en la actividad de la telomerasa en respuesta a la hipoxia placentaria típica de la preeclampsia.

En base a la evidencia presentada anteriormente, parece claro que la actividad de la telomerasa tiene un papel en el desarrollo de HTA. Nuestro trabajo revela una relación entre uno de los polimorfismos de la telomerasa y la presencia de HTA en pacientes que ingresan por SCA. Este dato podría ser interesante a la hora de detectar individuos en riesgo de presentar HTA y complicaciones cardiovasculares y poder aplicar así de forma más eficaz medidas de prevención. No existen estudios previos que analicen esta asociación por lo que podría ser un campo de investigación nuevo que debería completarse con estudios de ámbito poblacional.

En cuanto al valor pronóstico de los polimorfismos de la telomerasa en el contexto de la cardiopatía isquémica, la evidencia es poco concluyente. Por un lado

Matsubara et al estudiaron la presencia del alelo C del polimorfismo TERT-1327C>T (rs2735940) en un grupo de 104 pacientes con IAM o angina de pecho con lesiones coronarias significativas y en otro grupo de 115 controles sanos²⁹². Los autores concluyen que existe una mayor prevalencia del alelo C en el grupo de pacientes con enfermedad coronaria; de hecho, los sujetos homocigotos para el alelo C fueron con más frecuencia pacientes con enfermedad coronaria. Sin embargo, pese a este hallazgo, el diseño del estudio era diferente al que hemos planteado en nuestro trabajo ya que no incluía seguimiento, por lo que no se pudo demostrar si aquellos pacientes coronarios homocigotos para el alelo C tuvieron mayor incidencia de complicaciones cardiovasculares.

Por otro lado, otros estudios como el publicado por Nordfjäll et al, no mostró diferencias en la distribución del polimorfismo TERT-1327C>T (rs2735940) entre un grupo de 226 pacientes con IAM y otro grupo de 444 controles sanos²⁹³. En lo referente a estudios prospectivos la evidencia es muy escasa y sólo cabe destacar el trabajo de Zee et al en el que se analizan varios polimorfismos de TERC en un grupo de 23.294 mujeres sanas sin encontrar relación entre estos polimorfismos y una mayor incidencia de eventos cardiovasculares³⁷⁶.

La ausencia de relación entre el pronóstico y los polimorfismos de la telomerasa estudiados pone de manifiesto que el valor pronóstico de la longitud telomérica en nuestros pacientes con SCA no está basado en una disfunción en la telomerasa determinada genéticamente. En cualquier caso, están descritos múltiples polimorfismos que se asocian a una menor actividad de la enzima por lo que deberían diseñarse estudios más amplios que incluyan variables diferentes con objeto de confirmar este punto.

8 CONCLUSIONES

1. En los pacientes con síndrome coronario agudo, la longitud telomérica se relaciona de forma significativa con el hábito tabáquico, de modo que los fumadores tienen una menor longitud telomérica que los no fumadores.
2. No hemos demostrado asociación significativa entre la longitud telomérica y otros factores de riesgo cardiovascular
3. No hemos observado asociación entre la longitud telomérica y las características de la enfermedad coronaria, con excepción de que los pacientes con una mayor longitud telomérica presentan un infarto de miocardio aparentemente más extenso, medido mediante el valor máximo de troponina I.
4. El pronóstico intrahospitalario de los pacientes con síndrome coronario agudo no está influenciado por la longitud telomérica.
5. Una menor longitud telomérica es un factor de riesgo independiente para la presentación de sucesos cardiovasculares adversos en el seguimiento en los varones ingresados por síndrome coronario agudo. Este incremento del riesgo se produce principalmente a costa de una mayor incidencia de insuficiencia cardíaca y angina recurrente.
6. El polimorfismo de la telomerasa TERT-1327C>T (rs2735940) se relaciona con la presencia de hipertensión arterial en los pacientes de la muestra. De esta forma, los pacientes portadores del alelo C, que se asocia a disfunción de la telomerasa, tenían una mayor prevalencia de hipertensión. No se demostró relación de este polimorfismo con otros factores de riesgo. El polimorfismo TERC-63G>A (rs2293607) no se relacionó con la presencia de ninguno de los factores de riesgo cardiovascular clásicos.
7. Ninguno de los dos polimorfismos de la telomerasa estudiados tuvieron influencia en el pronóstico hospitalario ni a largo plazo de los pacientes de la muestra.

9 LIMITACIONES

1. La longitud telomérica medida en leucocitos de sangre periférica podría no reflejar adecuadamente alteraciones en la longitud telomérica medida en células endoteliales. Sin embargo, ya hemos expresado que existen trabajos que afirman que existe una buena correlación.
2. El número de pacientes incluidos en la muestra no es muy elevado, lo que podría afectar a la potencia del estudio. Además, con objeto de homogeneizar la muestra, se excluyeron a las mujeres por lo que la aplicación de los resultados a la población general es menos exacta.
3. No se incluyeron controles sanos con objeto de estudiar las diferencias en la longitud telomérica y los polimorfismos de la telomerasa entre pacientes con enfermedad coronaria y sujetos sanos.
4. Los pacientes diabéticos estaban infrarrepresentados en nuestra muestra. Estos pacientes tienen un perfil de riesgo mayor que los no diabéticos por lo que la incidencia de eventos adversos en el seguimiento podría haber sido mayor.
5. El diagnóstico analizado es el inicial, de manera que todos los SCACEST se han considerado IAM con Q y los SCASEST IAM sin Q o angina inestable, sin tener en cuenta el diagnóstico final. Sabemos que una pequeña proporción de los SCACEST evoluciona a IAM sin Q y de SCASEST a IAM con Q por lo que nuestra distribución de la muestra de acuerdo con la forma de presentación del SCA podría no ser comparable con otras series.
6. Se realizó una única medida de la longitud telomérica en el momento del ingreso por lo que no se pudo calcular la tasa de variación de este parámetro a lo largo del seguimiento. Esta variable pudiera tener relación con la incidencia de sucesos cardiovasculares.

7. En el diseño del estudio no se incluyó la medida de variables bioquímicas relacionadas con la inflamación como la proteína C reactiva. Estas variables podrían intervenir en la relación entre la longitud telomérica y las características o el pronóstico de la enfermedad coronaria.

8. La presentación de eventos cardiovasculares adversos tanto durante la estancia hospitalaria como en el seguimiento es baja. Este hecho afecta a la potencia estadística del estudio.

10 BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. 2013. (Accessed April, 1st, 2013, at www.who.int.)
2. Instituto Nacional de Estadística. 2013. (Accessed March, 30th, 2013, at www.ine.es.)
3. Franceschi C, Valensin S, Bonafe M, et al. The network and the remodeling theories of aging: historical background and new perspectives. *Exp Gerontol* 2000;35:879-96.
4. Arking R, Buck S, Novoseltev VN, Hwangbo DS, Lane M. Genomic plasticity, energy allocations, and the extended longevity phenotypes of *Drosophila*. *Ageing Res Rev* 2002;1:209-28.
5. Weinert BT, Timiras PS. Invited review: Theories of aging. *J Appl Physiol* 2003;95:1706-16.
6. Tatar M, Bartke A, Antebi A. The endocrine regulation of aging by insulin-like signals. *Science* 2003;299:1346-51.
7. Puca AA, Daly MJ, Brewster SJ, et al. A genome-wide scan for linkage to human exceptional longevity identifies a locus on chromosome 4. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:10505-8.
8. Pletcher SD, Macdonald SJ, Marguerie R, et al. Genome-wide transcript profiles in aging and calorically restricted *Drosophila melanogaster*. *Curr Biol* 2002;12:712-23.
9. Timiras PS. Biological perspectives on aging. *Am Sci* 1978;66:605-13.
10. Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation* 2003;108:1912-6.
11. Diaz MN, Frei B, Vita JA, Keaney JF, Jr. Antioxidants and atherosclerotic heart disease. *N Engl J Med* 1997;337:408-16.
12. Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* 1998;78:547-81.
13. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med* 2002;33:337-49.

14. Zamocky M, Koller F. Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis. *Prog Biophys Mol Biol* 1999;72:19-66.
15. Linster CL, Van Schaftingen E. Vitamin C. Biosynthesis, recycling and degradation in mammals. *FEBS J* 2007;274:1-22.
16. Stahl W, Sies H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochim Biophys Acta* 2005;1740:101-7.
17. Herrera E, Barbas C. Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *J Physiol Biochem* 2001;57:43-56.
18. Cai X, Dou J, Yu A, Zhai G. Bioavailability of Quercetin: Problems and Promises. *Curr Med Chem* 2013.
19. Nunomura A, Castellani RJ, Zhu X, Moreira PI, Perry G, Smith MA. Involvement of oxidative stress in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 2006;65:631-41.
20. Hitchon CA, El-Gabalawy HS. Oxidation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2004;6:265-78.
21. Aviram M. Review of human studies on oxidative damage and antioxidant protection related to cardiovascular diseases. *Free Radic Res* 2000;33 Suppl:S85-97.
22. Helfand SL, Rogina B. Genetics of aging in the fruit fly, *Drosophila melanogaster*. *Annu Rev Genet* 2003;37:329-48.
23. Larsen PL. Aging and resistance to oxidative damage in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:8905-9.
24. Szostak JW, Blackburn EH. Cloning yeast telomeres on linear plasmid vectors. *Cell* 1982;29:245-55.
25. Greider CW, Blackburn EH. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts. *Cell* 1985;43:405-13.
26. Benetti R, Schoeftner S, Munoz P, Blasco MA. Role of TRF2 in the assembly of telomeric chromatin. *Cell Cycle* 2008;7:3461-8.

27. Blasco MA. Mouse models to study the role of telomeres in cancer, aging and DNA repair. *Eur J Cancer* 2002;38:2222-8.
28. Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, et al. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988;85:6622-6.
29. Calado RT, Young NS. Telomere diseases. *N Engl J Med* 2009;361:2353-65.
30. Autexier C, Greider CW. Boundary elements of the Tetrahymena telomerase RNA template and alignment domains. *Genes Dev* 1995;9:2227-39.
31. Bhattacharyya A, Blackburn EH. Architecture of telomerase RNA. *EMBO J* 1994;13:5721-31.
32. Blasco MA. Telomere length, stem cells and aging. *Nat Chem Biol* 2007;3:640-9.
33. Hayflick L. The Limited in Vitro Lifetime of Human Diploid Cell Strains. *Exp Cell Res* 1965;37:614-36.
34. Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1961;25:585-621.
35. Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 1990;345:458-60.
36. Sidorov I, Kimura M, Yashin A, Aviv A. Leukocyte telomere dynamics and human hematopoietic stem cell kinetics during somatic growth. *Exp Hematol* 2009;37:514-24.
37. Blackburn EH. Switching and signaling at the telomere. *Cell* 2001;106:661-73.
38. Armanios M, Blackburn EH. The telomere syndromes. *Nat Rev Genet* 2012;13:693-704.
39. Njajou OT, Blackburn EH, Pawlikowska L, et al. A common variant in the telomerase RNA component is associated with short telomere length. *PLoS One* 2010;5:e13048.
40. Matsubara Y, Murata M, Yoshida T, et al. Telomere length of normal leukocytes is affected by a functional polymorphism of hTERT. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;341:128-31.

41. Kim S, Bi X, Czarny-Ratajczak M, et al. Telomere maintenance genes SIRT1 and XRCC6 impact age-related decline in telomere length but only SIRT1 is associated with human longevity. *Biogerontology* 2012;13:119-31.
42. von Zglinicki T. Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem Sci* 2002;27:339-44.
43. Campisi J, Andersen JK, Kapahi P, Melov S. Cellular senescence: a link between cancer and age-related degenerative disease? *Semin Cancer Biol* 2011;21:354-9.
44. Strandberg TE, Saijonmaa O, Fyhrquist F, et al. Telomere length in old age and cholesterol across the life course. *J Am Geriatr Soc* 2011;59:1979-81.
45. Kyo S, Takakura M, Kanaya T, et al. Estrogen activates telomerase. *Cancer Res* 1999;59:5917-21.
46. Strandberg TE, Saijonmaa O, Tilvis RS, et al. Association of telomere length in older men with mortality and midlife body mass index and smoking. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2011;66:815-20.
47. Valdes AM, Andrew T, Gardner JP, et al. Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. *Lancet* 2005;366:662-4.
48. Strandberg TE, Strandberg AY, Saijonmaa O, Tilvis RS, Pitkala KH, Fyhrquist F. Association between alcohol consumption in healthy midlife and telomere length in older men. The Helsinki Businessmen Study. *Eur J Epidemiol* 2012;27:815-22.
49. Epel ES, Blackburn EH, Lin J, et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:17312-5.
50. Kananen L, Surakka I, Pirkola S, et al. Childhood adversities are associated with shorter telomere length at adult age both in individuals with an anxiety disorder and controls. *PLoS One* 2010;5:e10826.
51. Spyridopoulos I, Haendeler J, Urbich C, et al. Statins enhance migratory capacity by upregulation of the telomere repeat-binding factor TRF2 in endothelial progenitor cells. *Circulation* 2004;110:3136-42.

52. Xu Q, Parks CG, DeRoo LA, Cawthon RM, Sandler DP, Chen H. Multivitamin use and telomere length in women. *Am J Clin Nutr* 2009;89:1857-63.
53. Farzaneh-Far R, Lin J, Epel ES, Harris WS, Blackburn EH, Whooley MA. Association of marine omega-3 fatty acid levels with telomeric aging in patients with coronary heart disease. *JAMA* 2010;303:250-7.
54. Karasik D, Hannan MT, Cupples LA, Felson DT, Kiel DP. Genetic contribution to biological aging: the Framingham Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2004;59:218-26.
55. Hultsch DF, MacDonald SW, Dixon RA. Variability in reaction time performance of younger and older adults. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci* 2002;57:P101-15.
56. Hastie ND, Dempster M, Dunlop MG, Thompson AM, Green DK, Allshire RC. Telomere reduction in human colorectal carcinoma and with ageing. *Nature* 1990;346:866-8.
57. Blackburn EH, Greider CW, Szostak JW. Telomeres and telomerase: the path from maize, Tetrahymena and yeast to human cancer and aging. *Nat Med* 2006;12:1133-8.
58. Blasco MA, Lee HW, Hande MP, et al. Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA. *Cell* 1997;91:25-34.
59. Djojotubroto MW, Choi YS, Lee HW, Rudolph KL. Telomeres and telomerase in aging, regeneration and cancer. *Mol Cells* 2003;15:164-75.
60. Frenck RW, Jr., Blackburn EH, Shannon KM. The rate of telomere sequence loss in human leukocytes varies with age. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:5607-10.
61. Takubo K, Izumiyama-Shimomura N, Honma N, et al. Telomere lengths are characteristic in each human individual. *Exp Gerontol* 2002;37:523-31.
62. Mather KA, Jorm AF, Parslow RA, Christensen H. Is telomere length a biomarker of aging? A review. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2011;66:202-13.
63. Vulliamy TJ, Knight SW, Mason PJ, Dokal I. Very short telomeres in the peripheral blood of patients with X-linked and autosomal dyskeratosis congenita. *Blood Cells Mol Dis* 2001;27:353-7.

64. Lee JW, Harrigan J, Opresko PL, Bohr VA. Pathways and functions of the Werner syndrome protein. *Mech Ageing Dev* 2005;126:79-86.
65. Fitzpatrick AL, Kronmal RA, Kimura M, et al. Leukocyte telomere length and mortality in the Cardiovascular Health Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2011;66:421-9.
66. Njajou OT, Hsueh WC, Blackburn EH, et al. Association between telomere length, specific causes of death, and years of healthy life in health, aging, and body composition, a population-based cohort study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2009;64:860-4.
67. Cawthon RM, Smith KR, O'Brien E, Sivatchenko A, Kerber RA. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. *Lancet* 2003;361:393-5.
68. Martin-Ruiz CM, Gussekloo J, van Heemst D, von Zglinicki T, Westendorp RG. Telomere length in white blood cells is not associated with morbidity or mortality in the oldest old: a population-based study. *Aging Cell* 2005;4:287-90.
69. Bischoff C, Petersen HC, Graakjaer J, et al. No association between telomere length and survival among the elderly and oldest old. *Epidemiology* 2006;17:190-4.
70. Yaffe K, Lindquist K, Kluse M, et al. Telomere length and cognitive function in community-dwelling elders: findings from the Health ABC Study. *Neurobiol Aging* 2011;32:2055-60.
71. Martin-Ruiz C, Dickinson HO, Keys B, Rowan E, Kenny RA, Von Zglinicki T. Telomere length predicts poststroke mortality, dementia, and cognitive decline. *Ann Neurol* 2006;60:174-80.
72. Gonzalez-Suarez E, Flores JM, Blasco MA. Cooperation between p53 mutation and high telomerase transgenic expression in spontaneous cancer development. *Mol Cell Biol* 2002;22:7291-301.
73. Gonzalez-Suarez E, Geserick C, Flores JM, Blasco MA. Antagonistic effects of telomerase on cancer and aging in K5-mTert transgenic mice. *Oncogene* 2005;24:2256-70.

74. Stampfer MR, Garbe J, Levine G, Lichtsteiner S, Vasserot AP, Yaswen P. Expression of the telomerase catalytic subunit, hTERT, induces resistance to transforming growth factor beta growth inhibition in p16INK4A(-) human mammary epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:4498-503.
75. Oh H, Taffet GE, Youker KA, et al. Telomerase reverse transcriptase promotes cardiac muscle cell proliferation, hypertrophy, and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:10308-13.
76. Mattson MP, Fu W, Zhang P. Emerging roles for telomerase in regulating cell differentiation and survival: a neuroscientist's perspective. *Mech Ageing Dev* 2001;122:659-71.
77. Geserick C, Blasco MA. Novel roles for telomerase in aging. *Mech Ageing Dev* 2006;127:579-83.
78. Heiss NS, Knight SW, Vulliamy TJ, et al. X-linked dyskeratosis congenita is caused by mutations in a highly conserved gene with putative nucleolar functions. *Nat Genet* 1998;19:32-8.
79. Mitchell JR, Wood E, Collins K. A telomerase component is defective in the human disease dyskeratosis congenita. *Nature* 1999;402:551-5.
80. Dokal I. Dyskeratosis congenita in all its forms. *Br J Haematol* 2000;110:768-79.
81. Baykal C, Kavak A, Gulcan P, Buyukbabani N. Dyskeratosis congenita associated with three malignancies. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2003;17:216-8.
82. Walne AJ, Vulliamy T, Marrone A, et al. Genetic heterogeneity in autosomal recessive dyskeratosis congenita with one subtype due to mutations in the telomerase-associated protein NOP10. *Hum Mol Genet* 2007;16:1619-29.
83. Savage SA, Giri N, Baerlocher GM, Orr N, Lansdorp PM, Alter BP. TIN2, a component of the shelterin telomere protection complex, is mutated in dyskeratosis congenita. *Am J Hum Genet* 2008;82:501-9.
84. Vulliamy T, Marrone A, Szydlo R, Walne A, Mason PJ, Dokal I. Disease anticipation is associated with progressive telomere shortening in families with dyskeratosis congenita due to mutations in TERC. *Nat Genet* 2004;36:447-9.

85. Yamaguchi H, Baerlocher GM, Lansdorp PM, et al. Mutations of the human telomerase RNA gene (TERC) in aplastic anemia and myelodysplastic syndrome. *Blood* 2003;102:916-8.
86. Armanios MY, Chen JJ, Cogan JD, et al. Telomerase mutations in families with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2007;356:1317-26.
87. Tsakiri KD, Cronkhite JT, Kuan PJ, et al. Adult-onset pulmonary fibrosis caused by mutations in telomerase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:7552-7.
88. Alder JK, Chen JJ, Lancaster L, et al. Short telomeres are a risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:13051-6.
89. Rocha V, Devergie A, Socie G, et al. Unusual complications after bone marrow transplantation for dyskeratosis congenita. *Br J Haematol* 1998;103:243-8.
90. Talbot-Smith A, Syn WK, MacQuillan G, Neil D, Elias E, Ryan P. Familial idiopathic pulmonary fibrosis in association with bone marrow hypoplasia and hepatic nodular regenerative hyperplasia: a new "trimorphic" syndrome. *Thorax* 2009;64:440-3.
91. Calado RT, Regal JA, Kleiner DE, et al. A spectrum of severe familial liver disorders associate with telomerase mutations. *PLoS One* 2009;4:e7926.
92. Gonzalez-Huezo MS, Villela LM, Zepeda-Florencio Mdel C, Carrillo-Ponce CS, Mondragon-Sanchez RJ. Nodular regenerative hyperplasia associated to aplastic anemia: a case report and literature review. *Ann Hepatol* 2006;5:166-9.
93. Finkel T, Serrano M, Blasco MA. The common biology of cancer and ageing. *Nature* 2007;448:767-74.
94. Artandi SE, Chang S, Lee SL, et al. Telomere dysfunction promotes non-reciprocal translocations and epithelial cancers in mice. *Nature* 2000;406:641-5.
95. O'Sullivan JN, Bronner MP, Brentnall TA, et al. Chromosomal instability in ulcerative colitis is related to telomere shortening. *Nat Genet* 2002;32:280-4.
96. Risques RA, Vaughan TL, Li X, et al. Leukocyte telomere length predicts cancer risk in Barrett's esophagus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:2649-55.

97. Savage SA, Chanock SJ, Lissowska J, et al. Genetic variation in five genes important in telomere biology and risk for breast cancer. *Br J Cancer* 2007;97:832-6.
98. Choi JE, Kang HG, Jang JS, et al. Polymorphisms in telomere maintenance genes and risk of lung cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:2773-81.
99. Jones AM, Beggs AD, Carvajal-Carmona L, et al. TERC polymorphisms are associated both with susceptibility to colorectal cancer and with longer telomeres. *Gut* 2012;61:248-54.
100. Calado RT, Regal JA, Hills M, et al. Constitutional hypomorphic telomerase mutations in patients with acute myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:1187-92.
101. Rafnar T, Sulem P, Stacey SN, et al. Sequence variants at the TERT-CLPTM1L locus associate with many cancer types. *Nat Genet* 2009;41:221-7.
102. Real Academia Española. Diccionario de la lengua española. 22a ed. [Madrid]: Real Academia Española ; [Espasa]; 2001.
103. McGill HC, Jr., McMahan CA, Zieske AW, et al. Association of Coronary Heart Disease Risk Factors with microscopic qualities of coronary atherosclerosis in youth. *Circulation* 2000;102:374-9.
104. van Dijk RA, Virmani R, von der Thusen JH, Schaapherder AF, Lindeman JH. The natural history of aortic atherosclerosis: a systematic histopathological evaluation of the peri-renal region. *Atherosclerosis* 2010;210:100-6.
105. Thompson RC, Allam AH, Lombardi GP, et al. Atherosclerosis across 4000 years of human history: the Horus study of four ancient populations. *Lancet* 2013.
106. Davies MK, Eollman A. Leonardo da Vinci (1452-1519). *Heart* 1996;76:464.
107. Khan IA, Mehta NJ. Initial historical descriptions of the angina pectoris. *J Emerg Med* 2002;22:295-8.
108. Slijkhuis W, Mali W, Appelman Y. A historical perspective towards a non-invasive treatment for patients with atherosclerosis. *Neth Heart J* 2009;17:140-4.

109. Mayerl C, Lukasser M, Sedivy R, Niederegger H, Seiler R, Wick G. Atherosclerosis research from past to present--on the track of two pathologists with opposing views, Carl von Rokitansky and Rudolf Virchow. *Virchows Arch* 2006;449:96-103.
110. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.
111. Strong JP, Malcom GT, McMahan CA, et al. Prevalence and extent of atherosclerosis in adolescents and young adults: implications for prevention from the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth Study. *JAMA* 1999;281:727-35.
112. Davies MJ, Woolf N, Rowles PM, Pepper J. Morphology of the endothelium over atherosclerotic plaques in human coronary arteries. *Br Heart J* 1988;60:459-64.
113. Falk E. Pathogenesis of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:C7-12.
114. Cybulsky MI, Iiyama K, Li H, et al. A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis. *J Clin Invest* 2001;107:1255-62.
115. Szmítko PE, Wang CH, Weisel RD, de Almeida JR, Anderson TJ, Verma S. New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I. *Circulation* 2003;108:1917-23.
116. Hagiwara H, Mitsumata M, Yamane T, Jin X, Yoshida Y. Laminar shear stress-induced GRO mRNA and protein expression in endothelial cells. *Circulation* 1998;98:2584-90.
117. Tsao PS, Buitrago R, Chan JR, Cooke JP. Fluid flow inhibits endothelial adhesiveness. Nitric oxide and transcriptional regulation of VCAM-1. *Circulation* 1996;94:1682-9.
118. O'Brien KD, Olin KL, Alpers CE, et al. Comparison of apolipoprotein and proteoglycan deposits in human coronary atherosclerotic plaques: colocalization of biglycan with apolipoproteins. *Circulation* 1998;98:519-27.
119. 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.
120. Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, et al. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. *N Engl J Med* 2003;349:2316-25.

121. Burke AP, Farb A, Malcom GT, Liang YH, Smialek J, Virmani R. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. *N Engl J Med* 1997;336:1276-82.
122. Hasenstab D, Lea H, Hart CE, Lok S, Clowes AW. Tissue factor overexpression in rat arterial neointima models thrombosis and progression of advanced atherosclerosis. *Circulation* 2000;101:2651-7.
123. O'Rourke MF, Hashimoto J. Mechanical factors in arterial aging: a clinical perspective. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1-13.
124. Astrand H, Stalhand J, Karlsson J, Karlsson M, Sonesson B, Lanne T. In vivo estimation of the contribution of elastin and collagen to the mechanical properties in the human abdominal aorta: effect of age and sex. *J Appl Physiol* 2011;110:176-87.
125. Hashimoto M, Ishinaga Y, Honda M, Ohoka M, Morioka S, Moriyama K. Age-related increase in the uptake of acetylated low density lipoprotein into cultured endothelial cells from rat aorta. *Exp Gerontol* 1991;26:397-406.
126. Merideth MA, Gordon LB, Clauss S, et al. Phenotype and course of Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *N Engl J Med* 2008;358:592-604.
127. Massip L, Garand C, Turaga RV, Deschenes F, Thorin E, Lebel M. Increased insulin, triglycerides, reactive oxygen species, and cardiac fibrosis in mice with a mutation in the helicase domain of the Werner syndrome gene homologue. *Exp Gerontol* 2006;41:157-68.
128. Wang JC, Bennett M. Aging and atherosclerosis: mechanisms, functional consequences, and potential therapeutics for cellular senescence. *Circ Res* 2012;111:245-59.
129. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, et al. Heart disease and stroke statistics--2013 update: a report from the american heart association. *Circulation* 2013;127:e6-e245.
130. Puymirat E, Simon T, Steg PG, et al. Association of changes in clinical characteristics and management with improvement in survival among patients with ST-elevation myocardial infarction. *JAMA* 2012;308:998-1006.

131. Aros F, Heras M, Vila J, et al. [Reduction in 28 days and 6 months of acute myocardial infarction mortality from 1995 to 2005. Data from PRIAMHO I, II and MASCARA registries]. *Rev Esp Cardiol* 2011;64:972-80.
132. Eurostat. 2013. (Accessed April, 5th, 2013, at <http://epp.eurostat.ec.europa.eu>.)
133. Heidenreich PA, Trogon JG, Khavjou OA, et al. Forecasting the future of cardiovascular disease in the United States: a policy statement from the American Heart Association. *Circulation* 2011;123:933-44.
134. Yeh RW, Sidney S, Chandra M, Sorel M, Selby JV, Go AS. Population trends in the incidence and outcomes of acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2010;362:2155-65.
135. Boland LL, Folsom AR, Sorlie PD, et al. Occurrence of unrecognized myocardial infarction in subjects aged 45 to 65 years (the ARIC study). *Am J Cardiol* 2002;90:927-31.
136. Hernandez-Leiva E. [Epidemiology of acute coronary syndrome and heart failure in Latin America]. *Rev Esp Cardiol* 2011;64 Suppl 2:34-43.
137. Simes RJ, O'Connell RL, Aylward PE, et al. Unexplained international differences in clinical outcomes after acute myocardial infarction and fibrinolytic therapy: lessons from the Hirulog and Early Reperfusion or Occlusion (HERO)-2 trial. *Am Heart J* 2010;159:988-97.
138. O'Shea JC, Calif RM. Inter-regional differences in acute coronary syndrome trials. *Eur Heart J* 2000;21:1397-9.
139. Fox KA, Goodman SG, Klein W, et al. Management of acute coronary syndromes. Variations in practice and outcome; findings from the Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). *Eur Heart J* 2002;23:1177-89.
140. Cohen MG, Pacchiana CM, Corbalan R, et al. Variation in patient management and outcomes for acute coronary syndromes in Latin America and North America: results from the Platelet IIb/IIIa in Unstable Angina: Receptor Suppression Using Integrilin Therapy (PURSUIT) trial. *Am Heart J* 2001;141:391-401.

141. Orlandini A, Diaz R, Wojdyla D, et al. Outcomes of patients in clinical trials with ST-segment elevation myocardial infarction among countries with different gross national incomes. *Eur Heart J* 2006;27:527-33.
142. Reddy KS. Cardiovascular disease in non-Western countries. *N Engl J Med* 2004;350:2438-40.
143. Okrainec K, Banerjee DK, Eisenberg MJ. Coronary artery disease in the developing world. *Am Heart J* 2004;148:7-15.
144. Lloyd-Jones DM, Hong Y, Labarthe D, et al. Defining and setting national goals for cardiovascular health promotion and disease reduction: the American Heart Association's strategic Impact Goal through 2020 and beyond. *Circulation* 2010;121:586-613.
145. Dawber TR, Meadors GF, Moore FE, Jr. Epidemiological approaches to heart disease: the Framingham Study. *Am J Public Health Nations Health* 1951;41:279-81.
146. Sanz J, Moreno PR, Fuster V. The year in atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:932-42.
147. Danaei G, Finucane MM, Lu Y, et al. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet* 2011;378:31-40.
148. Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ, et al. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. *Lancet* 2011;377:557-67.
149. Danaei G, Finucane MM, Lin JK, et al. National, regional, and global trends in systolic blood pressure since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 786 country-years and 5.4 million participants. *Lancet* 2011;377:568-77.
150. Farzadfar F, Finucane MM, Danaei G, et al. National, regional, and global trends in serum total cholesterol since 1980: systematic analysis of health examination surveys

- and epidemiological studies with 321 country-years and 3.0 million participants. *Lancet* 2011;377:578-86.
151. Andres E, Cordero A, Magan P, et al. Long-term mortality and hospital readmission after acute myocardial infarction: an eight-year follow-up study. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)* 2012;65:414-20.
 152. Saely CH, Rein P, Vonbank A, Huber K, Drexel H. Type 2 diabetes and the progression of visualized atherosclerosis to clinical cardiovascular events. *Int J Cardiol* 2012.
 153. Bartnik M, Malmberg K, Norhammar A, Tenerz A, Ohrvik J, Ryden L. Newly detected abnormal glucose tolerance: an important predictor of long-term outcome after myocardial infarction. *Eur Heart J* 2004;25:1990-7.
 154. Dotevall A, Hasdai D, Wallentin L, Battler A, Rosengren A. Diabetes mellitus: clinical presentation and outcome in men and women with acute coronary syndromes. Data from the Euro Heart Survey ACS. *Diabet Med* 2005;22:1542-50.
 155. Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, et al. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2011;32:2999-3054.
 156. Donahoe SM, Stewart GC, McCabe CH, et al. Diabetes and mortality following acute coronary syndromes. *JAMA* 2007;298:765-75.
 157. Hasin T, Hochadel M, Gitt AK, Behar S, Bueno H, Hasin Y. Comparison of treatment and outcome of acute coronary syndrome in patients with versus patients without diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2009;103:772-8.
 158. Chaitman BR, Hardison RM, Adler D, et al. The Bypass Angioplasty Revascularization Investigation 2 Diabetes randomized trial of different treatment strategies in type 2 diabetes mellitus with stable ischemic heart disease: impact of treatment strategy on cardiac mortality and myocardial infarction. *Circulation* 2009;120:2529-40.
 159. Frye RL, August P, Brooks MM, et al. A randomized trial of therapies for type 2 diabetes and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2009;360:2503-15.

160. Hlatky MA, Boothroyd DB, Bravata DM, et al. Coronary artery bypass surgery compared with percutaneous coronary interventions for multivessel disease: a collaborative analysis of individual patient data from ten randomised trials. *Lancet* 2009;373:1190-7.
161. Banning AP, Westaby S, Morice MC, et al. Diabetic and nondiabetic patients with left main and/or 3-vessel coronary artery disease: comparison of outcomes with cardiac surgery and paclitaxel-eluting stents. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:1067-75.
162. Hannan EL, Wu C, Walford G, et al. Drug-eluting stents vs. coronary-artery bypass grafting in multivessel coronary disease. *N Engl J Med* 2008;358:331-41.
163. Stettler C, Allemann S, Wandel S, et al. Drug eluting and bare metal stents in people with and without diabetes: collaborative network meta-analysis. *BMJ* 2008;337:a1331.
164. Reaven G, Tsao PS. Insulin resistance and compensatory hyperinsulinemia: the key player between cigarette smoking and cardiovascular disease? *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1044-7.
165. Edwards R. The problem of tobacco smoking. *BMJ* 2004;328:217-9.
166. Mucha L, Stephenson J, Morandi N, Dirani R. Meta-analysis of disease risk associated with smoking, by gender and intensity of smoking. *Gend Med* 2006;3:279-91.
167. Benowitz NL, Lessov-Schlaggar CN, Swan GE, Jacob P, 3rd. Female sex and oral contraceptive use accelerate nicotine metabolism. *Clin Pharmacol Ther* 2006;79:480-8.
168. Prescott E, Scharling H, Osler M, Schnohr P. Importance of light smoking and inhalation habits on risk of myocardial infarction and all cause mortality. A 22 year follow up of 12 149 men and women in The Copenhagen City Heart Study. *J Epidemiol Community Health* 2002;56:702-6.
169. Raupach T, Schafer K, Konstantinides S, Andreas S. Secondhand smoke as an acute threat for the cardiovascular system: a change in paradigm. *Eur Heart J* 2006;27:386-92.
170. Chow CK, Jolly S, Rao-Melacini P, Fox KA, Anand SS, Yusuf S. Association of diet, exercise, and smoking modification with risk of early cardiovascular events after acute coronary syndromes. *Circulation* 2010;121:750-8.

171. Critchley J, Capewell S. Smoking cessation for the secondary prevention of coronary heart disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2004:CD003041.
172. Mohiuddin SM, Mooss AN, Hunter CB, Grollmes TL, Cloutier DA, Hilleman DE. Intensive smoking cessation intervention reduces mortality in high-risk smokers with cardiovascular disease. *Chest* 2007;131:446-52.
173. Cordero A, Bertomeu-Martinez V, Mazon P, et al. Attitude and efficacy of cardiologists with respect to smoking in patients after acute coronary syndromes. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)* 2012;65:719-25.
174. Hurt RD, Weston SA, Ebbert JO, et al. Myocardial Infarction and Sudden Cardiac Death in Olmsted County, Minnesota, Before and After Smoke-Free Workplace Laws. *Arch Intern Med* 2012:1-7.
175. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003;289:2560-72.
176. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, et al. 2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens* 2007;25:1105-87.
177. Kronmal RA, McClelland RL, Detrano R, et al. Risk factors for the progression of coronary artery calcification in asymptomatic subjects: results from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Circulation* 2007;115:2722-30.
178. van Gils MJ, Bodde MC, Cremers LG, Dippel DW, van der Lugt A. Determinants of calcification growth in atherosclerotic carotid arteries; a serial multi-detector CT angiography study. *Atherosclerosis* 2012.
179. Perk J, De Backer G, Gohlke H, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). Developed with the special contribution of the European Association

- for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J* 2012;33:1635-701.
180. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* 2002;360:1903-13.
181. Skoog I, Lernfelt B, Landahl S, et al. 15-year longitudinal study of blood pressure and dementia. *Lancet* 1996;347:1141-5.
182. Eggers KM, Kempf T, Venge P, Wallentin L, Wollert KC, Lindahl B. Improving long-term risk prediction in patients with acute chest pain: the Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE) risk score is enhanced by selected nonnecrosis biomarkers. *Am Heart J* 2010;160:88-94.
183. Subherwal S, Bach RG, Chen AY, et al. Baseline risk of major bleeding in non-ST-segment-elevation myocardial infarction: the CRUSADE (Can Rapid risk stratification of Unstable angina patients Suppress ADverse outcomes with Early implementation of the ACC/AHA Guidelines) Bleeding Score. *Circulation* 2009;119:1873-82.
184. Wattigney WA, Mensah GA, Croft JB. Increasing trends in hospitalization for atrial fibrillation in the United States, 1985 through 1999: implications for primary prevention. *Circulation* 2003;108:711-6.
185. Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington PN, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicentre randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2004;364:685-96.
186. Kearney PM, Blackwell L, Collins R, et al. Efficacy of cholesterol-lowering therapy in 18,686 people with diabetes in 14 randomised trials of statins: a meta-analysis. *Lancet* 2008;371:117-25.
187. Shepherd J, Barter P, Carmena R, et al. Effect of lowering LDL cholesterol substantially below currently recommended levels in patients with coronary heart disease and diabetes: the Treating to New Targets (TNT) study. *Diabetes Care* 2006;29:1220-6.

188. Hunt D, Young P, Simes J, et al. Benefits of pravastatin on cardiovascular events and mortality in older patients with coronary heart disease are equal to or exceed those seen in younger patients: Results from the LIPID trial. *Ann Intern Med* 2001;134:931-40.
189. Neil HA, DeMicco DA, Luo D, et al. Analysis of efficacy and safety in patients aged 65-75 years at randomization: Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS). *Diabetes Care* 2006;29:2378-84.
190. Miettinen TA, Pyorala K, Olsson AG, et al. Cholesterol-lowering therapy in women and elderly patients with myocardial infarction or angina pectoris: findings from the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Circulation* 1997;96:4211-8.
191. Basisoendial RJ, Hovingh GK, Levels JH, et al. Restoration of endothelial function by increasing high-density lipoprotein in subjects with isolated low high-density lipoprotein. *Circulation* 2003;107:2944-8.
192. McGrath KC, Li XH, Puranik R, et al. Role of 3beta-hydroxysteroid-delta 24 reductase in mediating antiinflammatory effects of high-density lipoproteins in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29:877-82.
193. Rosenson RS, Shott S, Tangney CC. Hypertriglyceridemia is associated with an elevated blood viscosity Rosenson: triglycerides and blood viscosity. *Atherosclerosis* 2002;161:433-9.
194. Tirosh A, Rudich A, Shochat T, et al. Changes in triglyceride levels and risk for coronary heart disease in young men. *Ann Intern Med* 2007;147:377-85.
195. Assmann G, Schulte H, von Eckardstein A. Hypertriglyceridemia and elevated lipoprotein(a) are risk factors for major coronary events in middle-aged men. *Am J Cardiol* 1996;77:1179-84.
196. Sarwar N, Danesh J, Eiriksdottir G, et al. Triglycerides and the risk of coronary heart disease: 10,158 incident cases among 262,525 participants in 29 Western prospective studies. *Circulation* 2007;115:450-8.
197. Loscalzo J, Weinfeld M, Fless GM, Scanu AM. Lipoprotein(a), fibrin binding, and plasminogen activation. *Arteriosclerosis* 1990;10:240-5.

198. Palabrica TM, Liu AC, Aronovitz MJ, Furie B, Lawn RM, Furie BC. Antifibrinolytic activity of apolipoprotein(a) in vivo: human apolipoprotein(a) transgenic mice are resistant to tissue plasminogen activator-mediated thrombolysis. *Nat Med* 1995;1:256-9.
199. Zioncheck TF, Powell LM, Rice GC, Eaton DL, Lawn RM. Interaction of recombinant apolipoprotein(a) and lipoprotein(a) with macrophages. *J Clin Invest* 1991;87:767-71.
200. Erqou S, Kaptoge S, Perry PL, et al. Lipoprotein(a) concentration and the risk of coronary heart disease, stroke, and nonvascular mortality. *JAMA* 2009;302:412-23.
201. Erqou S, Thompson A, Di Angelantonio E, et al. Apolipoprotein(a) isoforms and the risk of vascular disease: systematic review of 40 studies involving 58,000 participants. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:2160-7.
202. Chun AA, McGee SR. Bedside diagnosis of coronary artery disease: a systematic review. *Am J Med* 2004;117:334-43.
203. Sanchis J, Bodi V, Nunez J, et al. Usefulness of pain presentation characteristics for predicting outcome in patients presenting to the hospital with chest pain of uncertain origin. *Emerg Med J* 2011;28:847-50.
204. Swap CJ, Nagurney JT. Value and limitations of chest pain history in the evaluation of patients with suspected acute coronary syndromes. *JAMA* 2005;294:2623-9.
205. Fihn SD, Gardin JM, Abrams J, et al. 2012 ACCF/AHA/ACP/AATS/PCNA/SCAI/STS guideline for the diagnosis and management of patients with stable ischemic heart disease: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association task force on practice guidelines, and the American College of Physicians, American Association for Thoracic Surgery, Preventive Cardiovascular Nurses Association, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *Circulation* 2012;126:e354-471.
206. Emond M, Mock MB, Davis KB, et al. Long-term survival of medically treated patients in the Coronary Artery Surgery Study (CASS) Registry. *Circulation* 1994;90:2645-57.
207. Gibbons RJ, Abrams J, Chatterjee K, et al. ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with chronic stable angina--summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice

- Guidelines (Committee on the Management of Patients With Chronic Stable Angina). *Circulation* 2003;107:149-58.
208. Chaitman BR. Ranolazine for the treatment of chronic angina and potential use in other cardiovascular conditions. *Circulation* 2006;113:2462-72.
209. Phrommintikul A, Kuanprasert S, Wongcharoen W, Kanjanavanit R, Chaiwarith R, Sukonthasarn A. Influenza vaccination reduces cardiovascular events in patients with acute coronary syndrome. *Eur Heart J* 2011;32:1730-5.
210. Thompson PD. Exercise prescription and proscription for patients with coronary artery disease. *Circulation* 2005;112:2354-63.
211. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD. Third universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2012;33:2551-67.
212. Gupta S, de Lemos JA. Use and misuse of cardiac troponins in clinical practice. *Prog Cardiovasc Dis* 2007;50:151-65.
213. Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, Jarolim P, Braunwald E. Detection of acute changes in circulating troponin in the setting of transient stress test-induced myocardial ischaemia using an ultrasensitive assay: results from TIMI 35. *Eur Heart J* 2009;30:162-9.
214. Baigent C, Blackwell L, Collins R, et al. Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials. *Lancet* 2009;373:1849-60.
215. Mehta SR, Tanguay JF, Eikelboom JW, et al. Double-dose versus standard-dose clopidogrel and high-dose versus low-dose aspirin in individuals undergoing percutaneous coronary intervention for acute coronary syndromes (CURRENT-OASIS 7): a randomised factorial trial. *Lancet* 2010;376:1233-43.
216. Theroux P, Ouimet H, McCans J, et al. Aspirin, heparin, or both to treat acute unstable angina. *N Engl J Med* 1988;319:1105-11.
217. Theroux P, Waters D, Qiu S, McCans J, de Guise P, Juneau M. Aspirin versus heparin to prevent myocardial infarction during the acute phase of unstable angina. *Circulation* 1993;88:2045-8.

218. Cairns JA, Gent M, Singer J, et al. Aspirin, sulfinpyrazone, or both in unstable angina. Results of a Canadian multicenter trial. *N Engl J Med* 1985;313:1369-75.
219. Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *N Engl J Med* 2001;345:494-502.
220. Yusuf S, Mehta SR, Zhao F, et al. Early and late effects of clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;107:966-72.
221. Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, et al. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2007;357:2001-15.
222. Wallentin L, Becker RC, Budaj A, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2009;361:1045-57.
223. Harrington RA, Becker RC, Cannon CP, et al. Antithrombotic therapy for non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 2008;133:670S-707S.
224. Petersen JL, Mahaffey KW, Hasselblad V, et al. Efficacy and bleeding complications among patients randomized to enoxaparin or unfractionated heparin for antithrombin therapy in non-ST-Segment elevation acute coronary syndromes: a systematic overview. *JAMA* 2004;292:89-96.
225. Simoons ML, Bobbink IW, Boland J, et al. A dose-finding study of fondaparinux in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: the Pentasaccharide in Unstable Angina (PENTUA) Study. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:2183-90.
226. Yusuf S, Mehta SR, Chrolavicius S, et al. Comparison of fondaparinux and enoxaparin in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2006;354:1464-76.
227. White HD, Ohman EM, Lincoff AM, et al. Safety and efficacy of bivalirudin with and without glycoprotein IIb/IIIa inhibitors in patients with acute coronary syndromes undergoing percutaneous coronary intervention 1-year results from the ACUITY (Acute Catheterization and Urgent Intervention Triage strategY) trial. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:807-14.

228. Stone GW, McLaurin BT, Cox DA, et al. Bivalirudin for patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2006;355:2203-16.
229. Katritsis DG, Siontis GC, Kastrati A, et al. Optimal timing of coronary angiography and potential intervention in non-ST-elevation acute coronary syndromes. *Eur Heart J* 2011;32:32-40.
230. Yusuf S, Peto R, Lewis J, Collins R, Sleight P. Beta blockade during and after myocardial infarction: an overview of the randomized trials. *Prog Cardiovasc Dis* 1985;27:335-71.
231. Lopez-Sendon J, Swedberg K, McMurray J, et al. Expert consensus document on beta-adrenergic receptor blockers. *Eur Heart J* 2004;25:1341-62.
232. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, et al. Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2004;350:1495-504.
233. Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA, et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators. *N Engl J Med* 1992;327:669-77.
234. Pfeffer MA, McMurray JJ, Velazquez EJ, et al. Valsartan, captopril, or both in myocardial infarction complicated by heart failure, left ventricular dysfunction, or both. *N Engl J Med* 2003;349:1893-906.
235. Steg PG, James SK, Atar D, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2012;33:2569-619.
236. De Luca G, Suryapranata H, Ottervanger JP, Antman EM. Time delay to treatment and mortality in primary angioplasty for acute myocardial infarction: every minute of delay counts. *Circulation* 2004;109:1223-5.
237. Kleiman NS, White HD, Ohman EM, et al. Mortality within 24 hours of thrombolysis for myocardial infarction. The importance of early reperfusion. The GUSTO Investigators, Global Utilization of Streptokinase and Tissue Plasminogen Activator for Occluded Coronary Arteries. *Circulation* 1994;90:2658-65.

238. Boersma E. Does time matter? A pooled analysis of randomized clinical trials comparing primary percutaneous coronary intervention and in-hospital fibrinolysis in acute myocardial infarction patients. *Eur Heart J* 2006;27:779-88.
239. Boersma E, Maas AC, Deckers JW, Simoons ML. Early thrombolytic treatment in acute myocardial infarction: reappraisal of the golden hour. *Lancet* 1996;348:771-5.
240. Gierlotka M, Gasior M, Wilczek K, et al. Reperfusion by primary percutaneous coronary intervention in patients with ST-segment elevation myocardial infarction within 12 to 24 hours of the onset of symptoms (from a prospective national observational study [PL-ACS]). *Am J Cardiol* 2011;107:501-8.
241. Hochman JS, Lamas GA, Buller CE, et al. Coronary intervention for persistent occlusion after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;355:2395-407.
242. Van De Werf F, Adgey J, Ardissino D, et al. Single-bolus tenecteplase compared with front-loaded alteplase in acute myocardial infarction: the ASSENT-2 double-blind randomised trial. *Lancet* 1999;354:716-22.
243. Morrison LJ, Verbeek PR, McDonald AC, Sawadsky BV, Cook DJ. Mortality and prehospital thrombolysis for acute myocardial infarction: A meta-analysis. *JAMA* 2000;283:2686-92.
244. Jernberg T, Johanson P, Held C, Svennblad B, Lindback J, Wallentin L. Association between adoption of evidence-based treatment and survival for patients with ST-elevation myocardial infarction. *JAMA* 2011;305:1677-84.
245. Gershlick AH, Stephens-Lloyd A, Hughes S, et al. Rescue angioplasty after failed thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2005;353:2758-68.
246. Cucherat M, Bonnefoy E, Tremeau G. Primary angioplasty versus intravenous thrombolysis for acute myocardial infarction. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;CD001560.
247. Nordmann AJ, Hengstler P, Harr T, Young J, Bucher HC. Clinical outcomes of primary stenting versus balloon angioplasty in patients with myocardial infarction: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Med* 2004;116:253-62.

248. Vlaar PJ, Mahmoud KD, Holmes DR, Jr., et al. Culprit vessel only versus multivessel and staged percutaneous coronary intervention for multivessel disease in patients presenting with ST-segment elevation myocardial infarction: a pairwise and network meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:692-703.
249. Toma M, Buller CE, Westerhout CM, et al. Non-culprit coronary artery percutaneous coronary intervention during acute ST-segment elevation myocardial infarction: insights from the APEX-AMI trial. *Eur Heart J* 2010;31:1701-7.
250. Granger CB, Goldberg RJ, Dabbous O, et al. Predictors of hospital mortality in the global registry of acute coronary events. *Arch Intern Med* 2003;163:2345-53.
251. Gottlieb SH, Ouyang P, Gottlieb SO. Death after acute myocardial infarction: interrelation between left ventricular dysfunction, arrhythmias and ischemia. *Am J Cardiol* 1988;61:7B-12B.
252. Antman EM, Tanasijevic MJ, Thompson B, et al. Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1996;335:1342-9.
253. Hamm CW, Goldmann BU, Heeschen C, Kreymann G, Berger J, Meinertz T. Emergency room triage of patients with acute chest pain by means of rapid testing for cardiac troponin T or troponin I. *N Engl J Med* 1997;337:1648-53.
254. James SK, Lindahl B, Siegbahn A, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide and other risk markers for the separate prediction of mortality and subsequent myocardial infarction in patients with unstable coronary artery disease: a Global Utilization of Strategies To Open occluded arteries (GUSTO)-IV substudy. *Circulation* 2003;108:275-81.
255. Thygesen K, Mair J, Mueller C, et al. Recommendations for the use of natriuretic peptides in acute cardiac care: a position statement from the Study Group on Biomarkers in Cardiology of the ESC Working Group on Acute Cardiac Care. *Eur Heart J* 2012;33:2001-6.
256. Heeschen C, Hamm CW, Bruemmer J, Simoons ML. Predictive value of C-reactive protein and troponin T in patients with unstable angina: a comparative analysis.

- CAPTURE Investigators. Chimeric c7E3 AntiPlatelet Therapy in Unstable angina REfractory to standard treatment trial. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:1535-42.
257. Aronson D, Hammerman H, Suleiman M, Markiewicz W. Usefulness of changes in fasting glucose during hospitalization to predict long-term mortality in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2009;104:1013-7.
258. Suleiman M, Hammerman H, Boulos M, et al. Fasting glucose is an important independent risk factor for 30-day mortality in patients with acute myocardial infarction: a prospective study. *Circulation* 2005;111:754-60.
259. Al Suwaidi J, Reddan DN, Williams K, et al. Prognostic implications of abnormalities in renal function in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2002;106:974-80.
260. Baldus S, Heeschen C, Meinertz T, et al. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;108:1440-5.
261. Brennan ML, Penn MS, Van Lente F, et al. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. *N Engl J Med* 2003;349:1595-604.
262. Morrow DA, Sabatine MS, Brennan ML, et al. Concurrent evaluation of novel cardiac biomarkers in acute coronary syndrome: myeloperoxidase and soluble CD40 ligand and the risk of recurrent ischaemic events in TACTICS-TIMI 18. *Eur Heart J* 2008;29:1096-102.
263. Reichlin T, Hochholzer W, Stelzig C, et al. Incremental value of copeptin for rapid rule out of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:60-8.
264. Van Belle E, Dallongeville J, Vicaut E, Degrandart A, Baulac C, Montalescot G. Ischemia-modified albumin levels predict long-term outcome in patients with acute myocardial infarction. The French Nationwide OPERA study. *Am Heart J* 2010;159:570-6.
265. Viswanathan K, Kilcullen N, Morrell C, et al. Heart-type fatty acid-binding protein predicts long-term mortality and re-infarction in consecutive patients with suspected acute coronary syndrome who are troponin-negative. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:2590-8.

266. Antman EM, Cohen M, Bernink PJ, et al. The TIMI risk score for unstable angina/non-ST elevation MI: A method for prognostication and therapeutic decision making. *JAMA* 2000;284:835-42.
267. Fox KA, Dabbous OH, Goldberg RJ, et al. Prediction of risk of death and myocardial infarction in the six months after presentation with acute coronary syndrome: prospective multinational observational study (GRACE). *BMJ* 2006;333:1091.
268. Taylor GJ, Humphries JO, Mellits ED, et al. Predictors of clinical course, coronary anatomy and left ventricular function after recovery from acute myocardial infarction. *Circulation* 1980;62:960-70.
269. Gibson RS, Watson DD, Craddock GB, et al. Prediction of cardiac events after uncomplicated myocardial infarction: a prospective study comparing pre-discharge exercise thallium-201 scintigraphy and coronary angiography. *Circulation* 1983;68:321-36.
270. Matthews C, Gorenne I, Scott S, et al. Vascular smooth muscle cells undergo telomere-based senescence in human atherosclerosis: effects of telomerase and oxidative stress. *Circ Res* 2006;99:156-64.
271. Panayiotou AG, Nicolaidis AN, Griffin M, et al. Leukocyte telomere length is associated with measures of subclinical atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2010;211:176-81.
272. Nzietchueng R, Elfarra M, Nloga J, et al. Telomere length in vascular tissues from patients with atherosclerotic disease. *J Nutr Health Aging* 2011;15:153-6.
273. Huzen J, Peeters W, de Boer RA, et al. Circulating leukocyte and carotid atherosclerotic plaque telomere length: interrelation, association with plaque characteristics, and restenosis after endarterectomy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31:1219-25.
274. O'Donnell CJ, Demissie S, Kimura M, et al. Leukocyte telomere length and carotid artery intimal medial thickness: the Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:1165-71.

275. Wang YY, Chen AF, Wang HZ, Xie LY, Sui KX, Zhang QY. Association of shorter mean telomere length with large artery stiffness in patients with coronary heart disease. *Aging Male* 2011;14:27-32.
276. Wilson WR, Herbert KE, Mistry Y, et al. Blood leucocyte telomere DNA content predicts vascular telomere DNA content in humans with and without vascular disease. *Eur Heart J* 2008;29:2689-94.
277. Chang E, Harley CB. Telomere length and replicative aging in human vascular tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:11190-4.
278. Satoh M, Ishikawa Y, Takahashi Y, Itoh T, Minami Y, Nakamura M. Association between oxidative DNA damage and telomere shortening in circulating endothelial progenitor cells obtained from metabolic syndrome patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2008;198:347-53.
279. Fuster JJ, Andres V. Telomere biology and cardiovascular disease. *Circ Res* 2006;99:1167-80.
280. Samani NJ, Boulton R, Butler R, Thompson JR, Goodall AH. Telomere shortening in atherosclerosis. *Lancet* 2001;358:472-3.
281. Ogami M, Ikura Y, Ohsawa M, et al. Telomere shortening in human coronary artery diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:546-50.
282. Brouillette S, Singh RK, Thompson JR, Goodall AH, Samani NJ. White cell telomere length and risk of premature myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:842-6.
283. Solorio S, Murillo-Ortiz B, Hernandez-Gonzalez M, et al. Association between telomere length and C-reactive protein and the development of coronary collateral circulation in patients with coronary artery disease. *Angiology* 2011;62:467-72.
284. Farzaneh-Far R, Cawthon RM, Na B, Browner WS, Schiller NB, Whooley MA. Prognostic value of leukocyte telomere length in patients with stable coronary artery disease: data from the Heart and Soul Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:1379-84.

285. Huzen J, de Boer RA, van Veldhuisen DJ, van Gilst WH, van der Harst P. The emerging role of telomere biology in cardiovascular disease. *Front Biosci* 2010;15:35-45.
286. Russo A, Palumbo L, Fornengo C, et al. Telomere length variation in juvenile acute myocardial infarction. *PLoS One* 2012;7:e49206.
287. Fitzpatrick AL, Kronmal RA, Gardner JP, et al. Leukocyte telomere length and cardiovascular disease in the cardiovascular health study. *Am J Epidemiol* 2007;165:14-21.
288. Brouillette SW, Moore JS, McMahon AD, et al. Telomere length, risk of coronary heart disease, and statin treatment in the West of Scotland Primary Prevention Study: a nested case-control study. *Lancet* 2007;369:107-14.
289. Maubaret CG, Salpea KD, Jain A, et al. Telomeres are shorter in myocardial infarction patients compared to healthy subjects: correlation with environmental risk factors. *J Mol Med (Berl)* 2010;88:785-94.
290. Ye S, Shaffer JA, Kang MS, et al. Relation Between Leukocyte Telomere Length and Incident Coronary Heart Disease Events (from the 1995 Canadian Nova Scotia Health Survey). *Am J Cardiol* 2013;111:962-7.
291. Weischer M, Bojesen SE, Cawthon RM, Freiberg JJ, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Short telomere length, myocardial infarction, ischemic heart disease, and early death. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32:822-9.
292. Matsubara Y, Murata M, Watanabe K, et al. Coronary artery disease and a functional polymorphism of hTERT. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;348:669-72.
293. Nordfjall K, Osterman P, Melander O, Nilsson P, Roos G. hTERT (-1327)T/C polymorphism is not associated with age-related telomere attrition in peripheral blood. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;358:215-8.
294. Calvert PA, Liew TV, Gorenne I, et al. Leukocyte telomere length is associated with high-risk plaques on virtual histology intravascular ultrasound and increased proinflammatory activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31:2157-64.

295. Narducci ML, Grasselli A, Biasucci LM, et al. High telomerase activity in neutrophils from unstable coronary plaques. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:2369-74.
296. Armstrong EJ, Xing L, Zhang J, et al. Association between leukocyte telomere length and drug-eluting stent strut coverage by optical coherence tomography. *J Am Coll Cardiol* 2012;59:2218-9.
297. Olivieri F, Mazzanti I, Abbatecola AM, et al. Telomere/Telomerase system: a new target of statins pleiotropic effect? *Curr Vasc Pharmacol* 2012;10:216-24.
298. Voghel G, Thorin-Trescases N, Farhat N, et al. Chronic treatment with N-acetyl-cystein delays cellular senescence in endothelial cells isolated from a subgroup of atherosclerotic patients. *Mech Ageing Dev* 2008;129:261-70.
299. Leri A, Franco S, Zacheo A, et al. Ablation of telomerase and telomere loss leads to cardiac dilatation and heart failure associated with p53 upregulation. *EMBO J* 2003;22:131-9.
300. Chimenti C, Kajstura J, Torella D, et al. Senescence and death of primitive cells and myocytes lead to premature cardiac aging and heart failure. *Circ Res* 2003;93:604-13.
301. Oh H, Wang SC, Prahash A, et al. Telomere attrition and Chk2 activation in human heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:5378-83.
302. van der Harst P, van der Steege G, de Boer RA, et al. Telomere length of circulating leukocytes is decreased in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:1459-64.
303. Raymond AR, Norton GR, Sareli P, Woodiwiss AJ, Brooksbank RL. Relationship between average leucocyte telomere length and the presence or severity of idiopathic dilated cardiomyopathy in black Africans. *Eur J Heart Fail* 2013;15:54-60.
304. Collerton J, Martin-Ruiz C, Kenny A, et al. Telomere length is associated with left ventricular function in the oldest old: the Newcastle 85+ study. *Eur Heart J* 2007;28:172-6.
305. Huber M, Treszl A, Wehland M, et al. Genetic variants implicated in telomere length associated with left ventricular function in patients with hypertension and cardiac organ damage. *J Mol Med (Berl)* 2012;90:1059-67.

306. Nawrot TS, Staessen JA, Gardner JP, Aviv A. Telomere length and possible link to X chromosome. *Lancet* 2004;363:507-10.
307. Bekaert S, De Meyer T, Rietzschel ER, et al. Telomere length and cardiovascular risk factors in a middle-aged population free of overt cardiovascular disease. *Aging Cell* 2007;6:639-47.
308. Imanishi T, Hano T, Nishio I. Estrogen reduces endothelial progenitor cell senescence through augmentation of telomerase activity. *J Hypertens* 2005;23:1699-706.
309. Brouillette SW, Whittaker A, Stevens SE, van der Harst P, Goodall AH, Samani NJ. Telomere length is shorter in healthy offspring of subjects with coronary artery disease: support for the telomere hypothesis. *Heart* 2008;94:422-5.
310. De Meyer T, Van Daele CM, De Buyzere ML, et al. No shorter telomeres in subjects with a family history of cardiovascular disease in the Asklepios study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32:3076-81.
311. von Zglinicki T. Role of oxidative stress in telomere length regulation and replicative senescence. *Ann N Y Acad Sci* 2000;908:99-110.
312. Babizhayev MA, Yegorov YE. Smoking and health: association between telomere length and factors impacting on human disease, quality of life and life span in a large population-based cohort under the effect of smoking duration. *Fundam Clin Pharmacol* 2011;25:425-42.
313. Demissie S, Levy D, Benjamin EJ, et al. Insulin resistance, oxidative stress, hypertension, and leukocyte telomere length in men from the Framingham Heart Study. *Aging Cell* 2006;5:325-30.
314. Gardner JP, Li S, Srinivasan SR, et al. Rise in insulin resistance is associated with escalated telomere attrition. *Circulation* 2005;111:2171-7.
315. Chen W, Gardner JP, Kimura M, et al. Leukocyte telomere length is associated with HDL cholesterol levels: The Bogalusa heart study. *Atherosclerosis* 2009;205:620-5.
316. Richards JB, Valdes AM, Gardner JP, et al. Homocysteine levels and leukocyte telomere length. *Atherosclerosis* 2008;200:271-7.

317. Vasan RS, Demissie S, Kimura M, et al. Association of leukocyte telomere length with circulating biomarkers of the renin-angiotensin-aldosterone system: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2008;117:1138-44.
318. van der Harst P, Wong LS, de Boer RA, et al. Possible association between telomere length and renal dysfunction in patients with chronic heart failure. *Am J Cardiol* 2008;102:207-10.
319. Epel ES, Lin J, Wilhelm FH, et al. Cell aging in relation to stress arousal and cardiovascular disease risk factors. *Psychoneuroendocrinology* 2006;31:277-87.
320. Lung FW, Chen NC, Shu BC. Genetic pathway of major depressive disorder in shortening telomeric length. *Psychiatr Genet* 2007;17:195-9.
321. Cherkas LF, Aviv A, Valdes AM, et al. The effects of social status on biological aging as measured by white-blood-cell telomere length. *Aging Cell* 2006;5:361-5.
322. Nordfjall K, Eliasson M, Stegmayr B, Lundin S, Roos G, Nilsson PM. Increased abdominal obesity, adverse psychosocial factors and shorter telomere length in subjects reporting early ageing; the MONICA Northern Sweden Study. *Scand J Public Health* 2008;36:744-52.
323. Spyridopoulos I, Hoffmann J, Aicher A, et al. Accelerated telomere shortening in leukocyte subpopulations of patients with coronary heart disease: role of cytomegalovirus seropositivity. *Circulation* 2009;120:1364-72.
324. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. Myocardial infarction redefined--a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:959-69.
325. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail* 2012;14:803-69.

326. Wijns W, Kolh P, Danchin N, et al. Guidelines on myocardial revascularization. *Eur Heart J* 2010;31:2501-55.
327. Fyhrquist F, Saijonmaa O, Strandberg T. The roles of senescence and telomere shortening in cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol* 2013.
328. Butler MG, Tilburt J, DeVries A, et al. Comparison of chromosome telomere integrity in multiple tissues from subjects at different ages. *Cancer Genet Cytogenet* 1998;105:138-44.
329. Cawthon RM. Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic Acids Res* 2002;30:e47.
330. Gil ME, Coetzer TL. Real-time quantitative PCR of telomere length. *Mol Biotechnol* 2004;27:169-72.
331. Boulay JL, Reuter J, Ritschard R, Terracciano L, Herrmann R, Rochlitz C. Gene dosage by quantitative real-time PCR. *Biotechniques* 1999;27:228-30, 32.
332. Sedgwick P. Parametric v non-parametric statistical tests. *BMJ* 2012;344:e1753.
333. Fagerland MW. t-tests, non-parametric tests, and large studies--a paradox of statistical practice? *BMC Med Res Methodol* 2012;12:78.
334. Rationale and design of the GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events) Project: a multinational registry of patients hospitalized with acute coronary syndromes. *Am Heart J* 2001;141:190-9.
335. Mandelzweig L, Battler A, Boyko V, et al. The second Euro Heart Survey on acute coronary syndromes: Characteristics, treatment, and outcome of patients with ACS in Europe and the Mediterranean Basin in 2004. *Eur Heart J* 2006;27:2285-93.
336. Bueno H, Bardaji A, Fernandez-Ortiz A, Marrugat J, Marti H, Heras M. [Management of non-ST-segment-elevation acute coronary syndromes in Spain. The DESCARTES (Descripcion del Estado de los Sindromes Coronarios Agudos en un Registro Temporal Espanol) study]. *Rev Esp Cardiol* 2005;58:244-52.

337. Ferreira-Gonzalez I, Permanyer-Miralda G, Marrugat J, et al. MASCARA (Manejo del Síndrome Coronario Agudo. Registro Actualizado) study. General findings. *Rev Esp Cardiol* 2008;61:803-16.
338. Aros F, Cunat J, Loma-Osorio A, et al. [Management of myocardial infarction in Spain in the year 2000. The PRIAMHO II study]. *Rev Esp Cardiol* 2003;56:1165-73.
339. Cequier A, Bueno H, Auge JM, Bardaji A, Fernandez-Ortiz A, Heras M. [Characteristics and mortality following primary percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction in Spain. Results from the TRIANA 1 (TRatamiento del Infarto Agudo de miocardio eN Ancianos) Registry]. *Rev Esp Cardiol* 2005;58:341-50.
340. Marrugat J, Sala J, Masia R, et al. Mortality differences between men and women following first myocardial infarction. RESCATE Investigators. Recursos Empleados en el Síndrome Coronario Agudo y Tiempo de Espera. *JAMA* 1998;280:1405-9.
341. An international randomized trial comparing four thrombolytic strategies for acute myocardial infarction. The GUSTO investigators. *N Engl J Med* 1993;329:673-82.
342. Armstrong PW, Fu Y, Chang WC, et al. Acute coronary syndromes in the GUSTO-IIb trial: prognostic insights and impact of recurrent ischemia. The GUSTO-IIb Investigators. *Circulation* 1998;98:1860-8.
343. Fajadet J, Chieffo A. Current management of left main coronary artery disease. *Eur Heart J* 2012;33:36-50b.
344. Stone PH, Thompson B, Anderson HV, et al. Influence of race, sex, and age on management of unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction: The TIMI III registry. *JAMA* 1996;275:1104-12.
345. Anderson JL, Adams CD, Antman EM, et al. ACC/AHA 2007 guidelines for the management of patients with unstable angina/non-ST-Elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2002 Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction) developed in collaboration with the American College of Emergency Physicians, the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and the Society of Thoracic Surgeons endorsed by the American Association of Cardiovascular

- and Pulmonary Rehabilitation and the Society for Academic Emergency Medicine. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:e1-e157.
346. Montalescot G, Dallongeville J, Van Belle E, et al. STEMI and NSTEMI: are they so different? 1 year outcomes in acute myocardial infarction as defined by the ESC/ACC definition (the OPERA registry). *Eur Heart J* 2007;28:1409-17.
347. Claassen M, Sybrandy KC, Appelman YE, Asselbergs FW. Gender gap in acute coronary heart disease: Myth or reality? *World J Cardiol* 2012;4:36-47.
348. Zimmerman FH, Cameron A, Fisher LD, Ng G. Myocardial infarction in young adults: angiographic characterization, risk factors and prognosis (Coronary Artery Surgery Study Registry). *J Am Coll Cardiol* 1995;26:654-61.
349. Maddox TM, Reid KJ, Spertus JA, et al. Angina at 1 year after myocardial infarction: prevalence and associated findings. *Arch Intern Med* 2008;168:1310-6.
350. Stone GW, Witzenbichler B, Guagliumi G, et al. Heparin plus a glycoprotein IIb/IIIa inhibitor versus bivalirudin monotherapy and paclitaxel-eluting stents versus bare-metal stents in acute myocardial infarction (HORIZONS-AMI): final 3-year results from a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet* 2011;377:2193-204.
351. Suleiman M, Khatib R, Agmon Y, et al. Early inflammation and risk of long-term development of heart failure and mortality in survivors of acute myocardial infarction predictive role of C-reactive protein. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:962-8.
352. Eagle KA, Lim MJ, Dabbous OH, et al. A validated prediction model for all forms of acute coronary syndrome: estimating the risk of 6-month postdischarge death in an international registry. *JAMA* 2004;291:2727-33.
353. Oh MS. Does serum creatinine rise faster in rhabdomyolysis? *Nephron* 1993;63:255-7.
354. Shemesh O, Golbetz H, Kriss JP, Myers BD. Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients. *Kidney Int* 1985;28:830-8.
355. Dargie HJ. Effect of carvedilol on outcome after myocardial infarction in patients with left-ventricular dysfunction: the CAPRICORN randomised trial. *Lancet* 2001;357:1385-90.

356. Dickstein K, Kjekshus J. Effects of losartan and captopril on mortality and morbidity in high-risk patients after acute myocardial infarction: the OPTIMAAL randomised trial. Optimal Trial in Myocardial Infarction with Angiotensin II Antagonist Losartan. *Lancet* 2002;360:752-60.
357. Pitt B, Remme W, Zannad F, et al. Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2003;348:1309-21.
358. Hirsch A, Windhausen F, Tijssen JG, Verheugt FW, Cornel JH, de Winter RJ. Long-term outcome after an early invasive versus selective invasive treatment strategy in patients with non-ST-elevation acute coronary syndrome and elevated cardiac troponin T (the ICTUS trial): a follow-up study. *Lancet* 2007;369:827-35.
359. Njolstad I, Arnesen E, Lund-Larsen PG. Smoking, serum lipids, blood pressure, and sex differences in myocardial infarction. A 12-year follow-up of the Finnmark Study. *Circulation* 1996;93:450-6.
360. Critchley JA, Capewell S. Mortality risk reduction associated with smoking cessation in patients with coronary heart disease: a systematic review. *JAMA* 2003;290:86-97.
361. Lawes CM, Vander Hoorn S, Rodgers A. Global burden of blood-pressure-related disease, 2001. *Lancet* 2008;371:1513-8.
362. Bangalore S, Qin J, Sloan S, Murphy SA, Cannon CP. What is the optimal blood pressure in patients after acute coronary syndromes?: Relationship of blood pressure and cardiovascular events in the PRavastatin OR atorVastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis In Myocardial Infarction (PROVE IT-TIMI) 22 trial. *Circulation* 2010;122:2142-51.
363. de Lange T, Shiue L, Myers RM, et al. Structure and variability of human chromosome ends. *Mol Cell Biol* 1990;10:518-27.
364. Lansdorp PM, Verwoerd NP, van de Rijke FM, et al. Heterogeneity in telomere length of human chromosomes. *Hum Mol Genet* 1996;5:685-91.

365. Canela A, Vera E, Klatt P, Blasco MA. High-throughput telomere length quantification by FISH and its application to human population studies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:5300-5.
366. Rufer N, Brummendorf TH, Kolvraa S, et al. Telomere fluorescence measurements in granulocytes and T lymphocyte subsets point to a high turnover of hematopoietic stem cells and memory T cells in early childhood. *J Exp Med* 1999;190:157-67.
367. Baerlocher GM, Lansdorp PM. Telomere length measurements in leukocyte subsets by automated multicolor flow-FISH. *Cytometry A* 2003;55:1-6.
368. Kimura M, Aviv A. Measurement of telomere DNA content by dot blot analysis. *Nucleic Acids Res* 2011;39:e84.
369. Bendix L, Horn PB, Jensen UB, Rubelj I, Kolvraa S. The load of short telomeres, estimated by a new method, Universal STELA, correlates with number of senescent cells. *Aging Cell* 2010;9:383-97.
370. Lee J, Sandford AJ, Connett JE, et al. The relationship between telomere length and mortality in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *PLoS One* 2012;7:e35567.
371. Zee RY, Castonguay AJ, Barton NS, Germer S, Martin M. Mean leukocyte telomere length shortening and type 2 diabetes mellitus: a case-control study. *Transl Res* 2010;155:166-9.
372. White HD. Lifting the smoke-screen: the enigma of better outcome in smokers after myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1995;75:278-9.
373. Perez-Rivero G, Ruiz-Torres MP, Rivas-Elena JV, et al. Mice deficient in telomerase activity develop hypertension because of an excess of endothelin production. *Circulation* 2006;114:309-17.
374. Kobayashi K, Imanishi T, Akasaka T. Endothelial progenitor cell differentiation and senescence in an angiotensin II-infusion rat model. *Hypertens Res* 2006;29:449-55.
375. Geifman-Holtzman O, Xiong Y, Holtzman EJ, Hoffman B, Gaughan J, Liebermann DA. Increased placental telomerase mRNA in hypertensive disorders of pregnancy. *Hypertens Pregnancy* 2010;29:434-45.

376. Zee RY, Ridker PM, Chasman DI. Genetic variants in eleven telomere-associated genes and the risk of incident cardio/cerebrovascular disease: The Women's Genome Health Study. *Clin Chim Acta* 2011;412:199-202.

11 ANEXO

11.1 Comunicaciones científicas

11.1.1 Congresos internacionales

- *Prognostic value of telomere length and telomerase polymorphisms in patients admitted for acute coronary syndrome.*

Autores: J. A. Pérez Rivera, P. Pabón Osuna, C. Cieza Borrella, F. Martín Herrero, J. R. González Porras, O. Durán Bobín, M. C. Valenzuela Vicente, J. C. Rama Merchán, C. Martín Luengo, R. González Sarmiento.

Tipo de presentación: Comunicación oral.

Título de la reunión: ESC Congress 2013.

Lugar y fecha: Amsterdam (31-08-2013 – 4-09-2013).

Publicado en: European Heart Journal.2013;34 Abstract Supplement:488-488.

11.1.2 Congresos nacionales

- *Estudio de la longitud telomérica en varones con síndrome coronario agudo y su relación con variables clínicas y genéticas.*

Autores: J. Pérez Rivera, P. Pabón Osuna, C. Cieza Borrella, F. Martín Herrero, M. C. Valenzuela Vicente, T. González Sánchez, C. Martín Luengo, R. González Sarmiento.

Tipo de presentación: Póster.

Título de la reunión: Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares 2011. Sociedad Española de Cardiología.

Lugar y fecha: Maspalomas (Gran Canaria), 20 – 22-10-2011.

Publicado en: Rev Esp Cardiol. 2011;64 Supl 3:153-416.

- *Aplicación de la longitud telomérica y polimorfismos de la telomerasa en el estudio de varones con síndrome coronario agudo.*

Autores: J. A. Pérez Rivera, P. Pabón Osuna, C. Cieza Borrella, F. Martín Herrero, J. R. González Porras, M. C. Valenzuela Vicente, C. Martín Luengo, R. González Sarmiento.

Tipo de presentación: Póster.

Título de la reunión: Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares 2012. Sociedad Española de Cardiología.

Lugar y fecha: Sevilla (18 – 20-10-2012).

Publicado en: Rev Esp Cardiol. 2012;65 Supl 3:176-486.

- *Longitud telomérica como marcador de enfermedad coronaria recurrente.*

Autores: J. A. Pérez Rivera, P. Pabón Osuna, C. Cieza Borrella, O. Durán Bobín, F. Martín Herrero, J. R. González Porras, M. C. Valenzuela Vicente, R. González Sarmiento.

Tipo de presentación: Póster.

Título de la reunión: Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares 2013. Sociedad Española de Cardiología.

Lugar y fecha: Valencia (24 – 26-10-2013).

Publicado en: Rev Esp Cardiol. 2013;66 Supl 1:626.

11.1.3 Congresos regionales

- *Estudio de la longitud telomérica en varones con síndrome coronario agudo.*

Autores: J. Pérez Rivera, P. Pabón Osuna, C. Cieza Borrella, F. Martín Herrero, M. C. Valenzuela Vicente, S. Merchán Gómez, T. Rodríguez Gabella, A. Amor Salamanca, M. Fernández Regueras, C. Martín Luengo, R. González Sarmiento.

Tipo de presentación: Póster comentado.

Título de la reunión: XVI Congreso de la Sociedad Castellano-Leonesa de Cardiología.

Lugar y fecha: León (4-06-2011).

Galardonado con el Tercer Premio al mejor Póster comentado.

- *Papel de la longitud telomérica en el pronóstico de los enfermos con síndrome coronario agudo.*

Autores: J. Pérez Rivera, P. Pabón Osuna, C. Cieza Borrella, F. Martín Herrero, J. R. González Porras, M. C. Valenzuela Vicente, R. A. López Jiménez, T. Cano Mozo, M. Fernández Regueras, C. Martín Luengo, R. González Sarmiento.

Tipo de presentación: Comunicación oral.

Título de la reunión: XVII Congreso de la Sociedad Castellano-Leonesa de Cardiología.

Lugar y fecha: Ávila (8 – 9-06-2012).

Galardonado con el Segundo Premio a la mejor Comunicación oral.

- *Análisis de la distribución del polimorfismo TERC-63G>A (rs2293607) en función de la presencia de síndrome coronario agudo.*

Autores: J. Pérez Rivera, P. Pabón Osuna, C. Cieza Borrella, F. Martín Herrero, J. R. González Porras, M. C. Valenzuela Vicente, P. Perdiguero Martín, O. Drán Bobín, E. Sánchez Corral, C. Martín Luengo, R. González Sarmiento.

Tipo de presentación: Póster.

Título de la reunión: XVII Congreso de la Sociedad Castellano-Leonesa de Cardiología.

Lugar y fecha: Ávila (8 – 9-06-2012).

- *Diferencias en el valor pronóstico de la longitud telomérica en el síndrome coronario agudo en función de la edad biológica*

Autores: J. A. Pérez Rivera, P. Pabón Osuna, C. Cieza Borrella, O. Durán Bobín, F. Martín Herrero, J. R. González Porras, M. C. Valenzuela Vicente, J. C. Rama Merchán, M. Fernández Regueras, A. Amor Salamanca, R. González Sarmiento.

Tipo de presentación: Comunicación oral.

Título de la reunión: XVIII Congreso de la Sociedad Castellano-Leonesa de Cardiología.

Lugar y fecha: Salamanca (21 – 22-06-2013).

- *Longitud telomérica en pacientes con angina recurrente.*

Autores: J. A. Pérez Rivera, P. Pabón Osuna, C. Cieza Borrella, O. Durán Bobín, F. Martín Herrero, M. C. Valenzuela Vicente, M. Fernández Regueras, M. J. García Sánchez, E. García Piney, C. Lugo Godoy, R. González Sarmiento.

Tipo de presentación: Comunicación oral.

Título de la reunión: XVIII Congreso de la Sociedad Castellano-Leonesa de Cardiología.

Lugar y fecha: Salamanca (21 – 22-06-2013).

Galardonado con el Segundo premio a la mejor Comunicación oral.

11.2 Artículos publicados en revistas científicas

- Perez-Rivera JA, Pabon-Osuna P, Cieza-Borrella C, Martin-Herrero F, Gonzalez-Porras JR, Gonzalez-Sarmiento R. Prognostic value of telomere length in acute coronary syndrome. *Mech Ageing Dev* 2012 Nov-Dec;133(11-12):695-7.
- Perez-Rivera JA, Pabon-Osuna P, Cieza-Borrella C, Duran-Bobin O, Martin-Herrero F, Gonzalez-Porras JR, Gonzalez-Sarmiento R. Effect of telomere length on prognosis in men with acute coronary syndrome. *Am J Cardiol* 2013; In Press, Accepted Manuscript.