Rev Bras Cardiol Invasiva
2014;22(2):131-6

DOI: 10.1590/0104-1843000000023

Artículo original

Características Inmunohistoquímicas de Trombos Coronarios en Pacientes con Infarto de Miocardio con Elevación del Segmento ST y *Diabetes Mellitus:* Estudio Piloto

Daniel Rios Pinto Ribeiro, Eduardo Cambruzzi, Juliana Canedo Sebben, Karina Pezzi Melleu, Mareia Moura Schmidt, Carlos AM Gottschall, Alexandre Schaan de Quadros

RESUMEN

Introducción: En el contexto del infarto agudo de miocardio, la *diabetes mellitus* se asocia con un aumento de la mortalidad. El objetivo de este estudio fue evaluar si existen, entre los diabéticos, peculiaridades del proceso de aterotrombosis que podrían estar implicadas en el mayor riesgo de este evento. **Métodos:** Estudio piloto, de una cohorte de pacientes con diagnóstico de infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST sometidos a intervención coronaria percutánea primaria y tromboaspiración. Se estudiaron las variables clínicas y de laboratorio para cada caso. Los trombos se analizaron en relación a las características histopatológicas y a las expresiones inmunohistoquímicas de CD34, CD61 y factor VIII. **Resultados:** Fueron incluidos los diez primeros pacientes portadores de *diabetes mellitus* con materiales disponibles para el análisis, agrupados por edad, sexo y tiempo de evolución del infarto, y comparados con otros diez pacientes sin *diabetes mellitus*. No se encontró asociación significativa entre las expresiones inmunohistoquímicas de CD34, CD61 y factor VIII con respecto a las variables histopatológicas, clínicas y de laboratorio estudiadas, incluso con relación a la presencia de *diabetes mellitus*. **Conclusiones:** En un análisis preliminar, no pudimos demostrar diferencias significativas en relación a la expresión de la actividad de células endoteliales, de la función plaquetaria y de la activación de la cascada de coagulación entre trombos de pacientes con y sin diagnóstico de *diabetes mellitus* sometidos a intervención coronaria primaria.

DESCRIPTORES: Infarto de miocardio. *Diabetes mellitus.* Trombosis coronaria. Imunohistoquímica. Intervención coronaria percutánea.

ABSTRACT

Immunohistochemical Characteristics of Coronary Thrombi in Patients with ST-Elevation Myocardial Infarction and Diabetes Mellitus: Pilot Study

Background: Diabetes mellitus is associated with increased mortality rates in the setting of acute myocardial infarction. The aim of this study was to evaluate whether there are peculiarities in the atherothrombotic process that might be implicated in increased risk for this outcome in patients with diabetes. **Methods:** Pilot study in a cohort of patients with ST-elevation acute myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention and aspiration thrombectomy. Clinical and laboratory variables were evaluated in all of the cases. Thrombi were analyzed for histopathological features as well as immunohistochemical expression of CD34, CD61 and factor VIII. **Results:** Our sample included the first ten diabetic patients with material available for analysis, who were matched according to age, gender and time elapsed since myocardial infarction with ten patients without diabetes. There was no significant association between the immunohistochemical expression of CD34, CD61 and factor VIII with other histopathological, clinical and laboratory variables, including the presence of diabetes mellitus. **Conclusions:** In this preliminary analysis, it was not possible to demonstrate any significant difference in the expression of endothelial cell activity, platelet function and activation of the coagulation cascade between thrombi of patients with and without diabetes undergoing primary coronary intervention.

DESCRIPTORS: Myocardial infarction. Diabetes mellitus. Coronary thrombosis. Immunohistochemistry. Percutaneous coronary intervention.

Instituto de Cardiologia/Fundação Universitária de Cardiologia, Porto Alegre, RS, Brasil.

Correspondencia a: Alexandre Schaan de Quadros. Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul - Unidade de Pesquisa - Avenida Princesa Isabel, 370 - Santana - CEP: 90620-001 - Porto Alegre, RS, Brasil
Correo electrónico: alesq@terra.com.br.

Recibido el: 10/03/2014 • Aceptado el: 18/5/2014

Rev Bras Cardiol Invasiva.
2014;22(2):131-6

La enfermedad arterial coronaria (EAC) es la principal causa de muerte en el mundo, siendo que la mayoría de los eventos adversos están asociados con la ocurrencia de infarto agudo de miocardio (IAM).[1] Con la optimización de las terapias antitrombóticas y de reperfusión, se ha observado una reducción en la mortalidad por IAM con elevación del segmento ST (IAMCST).[2] Sin embargo, se requieren esfuerzos para mejorar el manejo de esta condición, ya que también se han reportado altas tasas de mortalidad.[3] En la mayoría de los casos, el IAMCST es causado por la rotura de placas ateroscleróticas vulnerables asociadas a la actividad inflamatoria y a un endotelio disfuncional. La placa rota es el disparador para la activación y la agregación plaquetarias y la formación de trombina, resultando en la oclusión total de la arteria coronaria por un trombo.[4]

La intervención coronaria percutánea primaria (ICPp) se considera el método preferido de reperfusión en el IAM.[5] En los últimos años, la técnica de tromboaspiración adjunta se ha utilizado en forma creciente, con la mejora en los resultados angiográficos y los resultados clínicos en algunos estudios.[6] Además, la eliminación de trombos permitió una nueva línea investigativa en relación al análisis morfológico, la histología y los factores asociados con diferentes tipos de trombos.[7-9] Variables como el color rojo y la cronología del trombo se asociaron con una mayor mortalidad,[10,11] pero el papel fisiopatológico de los diferentes componentes del mismo se han estudiado poco.

El análisis inmunohistoquímico de los trombos aspirados puede ser una importante herramienta complementaria en la búsqueda de estas respuestas. La expresión de la actividad de las células endoteliales, de la función plaquetaria y de la activación de la cascada de coagulación se puede estimar mediante la expresión inmunohistoquímica de los antígenos CD34, CD61 y del factor VIII, respectivamente.[12-15] En el escenario de un IAMCST, pocos estudios han evaluado el perfil inmunohistoquímico del trombo intracoronario *in vivo* y su correlación con las variables clínicas.[13-16] En este contexto, se conoce la importancia de la *diabetes mellitus* (DM), ya sea por aumentar el riesgo de EAC y de trombosis o por estar asociada a una mayor mortalidad en el IAMCST.[17,18] Sin embargo, existen dudas acerca de si este riesgo está mediado por las diferencias en los procesos fisiopatológicos de la aterotrombosis o por el aumento de las comorbilidades asociadas con la DM. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la expresión inmunohistoquímica de los antígenos CD34, CD61 y factor VIII en trombos coronarios en pacientes portadores de DM con IAMCST.

MÉTODOS

Pacientes

Se trata de un estudio piloto proveniente de una muestra de pacientes ingresados de forma consecutiva en nuestro hospital con el diagnóstico de IAMCST entre diciembre de 2010 y noviembre de 2012. El IAMCST se define como un dolor torácico en reposo con duración superior a 30 minutos asociado con supradesnivel del segmento ST de por lo menos 1 mm en dos derivaciones contiguas en el plano frontal o de por lo menos 2 mm en el plano horizontal o asociado con el nuevo bloqueo de rama izquierda. Fueron excluidos los pacientes con tiempo de evolución superior a 12 horas, edad inferior a 18 años o que se negaron a participar del estudio.

Todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética en la Investigación del Instituto de Cardiología de la Fundación Universitaria de Cardiología, Porto Alegre (RS).

Características clínicas y seguimiento

Todos los pacientes fueron evaluados prospectivamente en relación a las características clínicas y demográficas por uno de los investigadores. Las variables clínicas, de laboratorio y angiográficas se registraron en una base de datos específica. Durante la hospitalización, los participantes en el estudio fueron seguidos diariamente por uno de los investigadores para verificar los eventos ocurridos en el hospital. Después del alta, los pacientes fueron contactados por teléfono o atendidos de forma ambulatoria para verificar los resultados.

Procedimiento de intervención coronaria percutánea

En el momento de la internación en el hospital, todos los pacientes recibieron 300 mg de aspirina y de 300 a 600 mg de clopidogrel. Para la realización del procedimiento de ICPp, se administraron entre 60 y 100 U/kg de heparina no fraccionada. Se realizaron los procedimientos de ICPp tal como se recomienda en la literatura.[19,20] Las decisiones relativas a los aspectos técnicos del procedimiento, como elección de la vía de acceso (radial o femoral), proceder o no a realizar la tromboaspiración, tipo y número de stents y utilización de inhibidores de la glicoproteína IIb/IIIa fueron tomadas a criterio de los operadores. En cuanto a la tromboaspiración, se utilizaron tres catéteres diferentes: Export (Medtronic Vascular Inc, Santa Rosa, CA, Estados Unidos), Diver (Invatec, Brescia, Italia) o Pronto (Vascular Solutions, Minneapolis, MN, Estados Unidos). En todos los casos, las aspiraciones se realizaron antes del inflado del balón y con más de una pasada a través del sitio de la oclusión. La sangre aspirada y el material intracoronario fueron retenidos en un filtro.

Análisis de los trombos

Inmediatamente después de la retirada del trombo de la arteria coronaria, la muestra se sumergió en 10% de formalina y se fijó en parafina durante 24 horas. Las muestras fueron cortadas con un micrótomo y se tiñeron con hematoxilina-eosina para los análisis histopatológicos, que fueron realizados por un patólogo que no conocía las características clínicas de los pacientes. Se estudiaron las siguientes características de los trombos: volumen (cm3), color (blanco o rojo), patrón microscópico (reciente, con lisis celular o en organización) y el porcentaje de leucocitos, fibrina y eritrocitos, así como también la expresión inmunohistoquímica de CD34, CD61 y factor VIII. Los trombos

recientes se caracterizan por presentar fibrina, leucocitos y eritrocitos. Los trombos con lisis celular se caracterizan por la aparición de la apoptosis de los leucocitos. Ya los trombos en organización se caracterizan por la formación de tejido conectivo laxo.[7]

Para la inmunohistoquímica, se obtuvieron secciones de tejido de tres micrómetros de espesor, que se colocaron sobre láminas silanizadas. Para proceder a realizar la técnica de inmunohistoquímica, cada muestra fue sometida a eliminación de la parafina, utilizando xileno e hidratación de los cortes con etanol. La recuperación antigénica fue realizada en un horno de microondas, con solución de ácido cítrico de 10 mM/pH 6,0, en dos ciclos de 9 minutos cada uno, a una potencia de 750 W. El bloqueo de la peroxidasa endógena se realizó con el uso de peróxido de hidrógeno al 3% (10 volúmenes). El anticuerpo primario se diluyó en albúmina al 1% y azida sódica al 0,1% en PBS (sigla en inglés de *phosphate-buffered saline*), se incubó en una cámara húmeda durante 30 minutos a 37 °C; a continuación, el material se refrigeró a 4 °C durante 18 horas. El anticuerpo secundario biotinilado así como el complejo estreptavidina-biotina-peroxidasa (StreptABC) se incubaron en una cámara húmeda a 37 °C durante 30 minutos. El sustrato cromogénico utilizado fue la diaminobencidina 60 mg% en PBS y, como contra colorante se utilizó la hematoxilina de Harris. Se utilizaron los siguientes anticuerpos (Dako Corporation o Novocastra): CD34, CD61 y el factor de Von Willebrand (factor VIII). En todos los casos, se formó un panel inmunohistoquímico. La expresión obtenida por las células sanguíneas y/o componentes de la muestra se revelaron por la presencia de coloración marrón en diferentes áreas de la muestra. Fue considerada expresión positiva fuerte la reacción inmunohistoquímica que exhibía una coloración marrón fuerte y difusa en diversas células del tejido analizado. Se definió como expresión positiva moderada la reacción inmunohistoquímica que exhibía una coloración marrón de intensidad moderada ("marrón más claro") en algunas células del tejido analizado.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el software *Statistical Package for the Social Science* (SPSS) para Windows, considerándose como significativos los valores con $p < 0,05$. Las variables cuantitativas se expresaron como promedio ± desviación estándar o mediana e intervalos intercuartiles (25-75%). Las variables categóricas se expresaron como frecuencia absoluta y relativa y se analizaron mediante la prueba chi-cuadrado o exacta de Fisher. La infiltración celular se analizó utilizando una escala semicuantitativa.

RESULTADOS

Durante el período del estudio, 310 pacientes fueron sometidos exitosamente a tromboaspiración (flujo TIMI 3 y recuperación de trombos). En este análisis, se incluyeron los primeros diez pacientes portadores de DM con material disponible para análisis, que fueron agrupados por edad, sexo y tiempo de infarto de miocardio y comparados con diez pacientes sin DM. En ambos grupos, el 60% de la muestra pertenecía al sexo masculino, con edades de 55 ± 6 años y 56,5 ± 5,8 años y promedios de tiempo de evolución del IAM de 3,9 horas (2,0 a 9,0 horas) y 3,7 horas (2,8 a 9,3 horas), respectivamente.

El perfil histopatológico se muestra en la Tabla 1 y el inmunohistoquímico en la Tabla 2. En cuanto a la expresión de CD34, hubo una tendencia de asociación con presencia de fibrina en el trombo y los mayores niveles séricos de fibrinógeno. No hubo asociación con otras características clínicas, laboratoriales o histológicas (Tabla 3).

La asociación entre la expresión de los anticuerpos CD61 y del factor VIII y las variables analizadas (Tablas 4 y 5) no presentó diferencias estadísticamente significativas, excepto por una tendencia de asociación entre la expresión de los anticuerpos CD61 y la presencia de hematíes en el trombo.

DISCUSIÓN

En este estudio piloto, no se encontró asociación significativa entre la expresión inmunohistoquímica de las proteínas CD34, CD61 y factor VIII con relación a las variables histopatológicas, laboratoriales y clínicas estudiadas, incluso con relación a la presencia de DM. Hubo, sin embargo, tanto la tendencia a la asociación de la expresión de CD34 con el contenido de fibrina en el trombo y mayores niveles de fibrinógeno sérico, como una tendencia a la asociación de la expresión de CD61 con presencia hematíes.

TABLA 1
Características histopatológicas de los trombos de los pacientes estudiados

Caso	Tipo de trombo	Leucocitos (%)	Fibrina (%)	Hematíes (%)
1	Con foco de lisis	10	40	50
2	Con foco de lisis	5	90	5
3	En organización	5	70	25
4	En organización	15	65	20
5	Reciente	20	70	10
6	Reciente	5	45	50
7	Reciente	10	50	40
8	En organización	5	90	5
9	Reciente	30	50	20
10	Reciente	30	50	20
11	En organización	10	80	10
12	Con foco de lisis	10	60	30
13	Reciente	5	35	60
14	En organización	10	50	40
15	Reciente	10	45	45
16	En organización	5	50	15
17	Reciente	35	50	15
18	Reciente	5	60	35
19	Con lisis celular	10	50	40
20	Reciente	10	20	70

Rev Bras Cardiol Invasiva.
2014;22(2):131-6

TABLA 2

Panel imunohistoquímico

Caso	*Diabetes mellitus*	CD34	Factor VIII	CD61
1	No	Positivo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
2	Sí	Negativo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
3	No	Positivo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
4	No	Positivo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
5	No	Negativo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
6	Sí	Negativo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
7	No	Negativo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
8	Sí	Negativo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
9	No	Positivo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
10	No	Positivo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
11	No	Positivo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
12	No	Negativo	Positivo, moderado	Positivo, moderado
13	No	Positivo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
14	Sí	Positivo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
15	Sí	Positivo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
16	Sí	Negativo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
17	Sí	Positivo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
18	Sí	Positivo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
19	Sí	Positivo	Positivo, fuerte	Positivo, fuerte
20	Sí	Positivo	Positivo, moderado	Positivo, fuerte

TABLA 3

Asociación entre la expresión de CD34 e las variables clínico-laboratoriales e histológicas

Expresión de CD34/variable	Valor de *p*
Tipo de trombo	0,77
Color del trombo	0,53
Volumen del trombo	0,33
Presencia de leucocitos	0,19
Presencia de fibrina	0,06
Presencia de hematíes	0,08
Diabetes mellitus.	0,64
Hipertensión arterial sistémica	0,53
índice de masa corporal	0,69
Tabaquismo	0,78
HDL colesterol	0,96
Colesterol total	0,12
PCR ultrasensible	0,66
Triglicéridos	0,79
Fibrinógeno	0,07
Clopidogrel	0,64
Inhibidor de glicoproteína IIb/IIIa	0,16

HDL: lipoproteína de alta densidad; PCR: proteína C-reactiva.

TABLA 4

Asociación entre la expresión de CD61 y las variables clínico-laboratoriales e histológicas

Expresión de CD61/variable	Valor de *p*
Tipo de trombo	0,21
Color del trombo	0,37
Volumen del trombo	0,69
Presencia de leucocitos	0,57
Presencia de fibrina	0,19
Presencia de hematíes	0,06
Diabetes mellitus.	0,86
Hipertensión arterial sistémica	0,21
índice de masa corporal	0,16
Tabaquismo	0,28
HDL colesterol	0,28
Colesterol total	0,27
PCR ultrasensible	0,35
Triglicéridos	0,27
Fibrinógeno	0,26
Clopidogrel	0,74
Inhibidor de glicoproteína IIb/IIIa	0,58

HDL: lipoproteína de alta densidad; PCR: proteína C-reactiva.

TABLA 5

Asociación entre la expresión de factor VIII e las variables clínico-laboratoriales e histológicas

Expresión del factor VIII/variable	Valor de *p*
Tipo de trombo	0,51
Color del trombo	0,15
Volumen del trombo	0,49
Presencia de leucocitos	0,28
Presencia de fibrina	0,59
Presencia de hematíes	0,19
Diabetes mellitus.	0,58
Hipertensión arterial sistémica	0,37
índice de masa corporal	0,14
Tabaquismo	0,71
HDL colesterol	0,44
Colesterol total	0,26
PCR ultrasensible	0,37
Triglicéridos	0,26
Fibrinógeno	0,22
Clopidogrel	0,75
Inhibidor de glicoproteína IIb/IIIa	0,36

HDL: lipoproteína de alta densidad; PCR: proteína C-reactiva.

Diferentes autores han propuesto técnicas de inmunohistoquímica como herramienta adicional al examen

histopatológico con el fin de aumentar la sensibilidad para el reconocimiento de los componentes formadores de trombos, ya sea en el nivel vascular o de las cavidades, utilizando especímenes extraídos quirúrgicamente o provenientes de autopsia.[12,21] Estudios de este tipo realizados en pacientes con diagnóstico de síndromes coronarios agudos *in vivo* son escasos en la literatura.[13,15,16,22]

Ikuta et al.[22] comparando material extraído de pacientes con angina de pecho estable frente a pacientes con angina inestable, constataron mayor agregación y activación plaquetaria en el segundo grupo, vistas, respectivamente, por la inmunoexpresión aumentada de glicoproteína IIb / IIIa (p < 0,0005) y P-selectina (p < 0,0001). También se identificó una mayor concentración de neutrófilos en las placas de los pacientes inestables. En otro estudio, que evaluó trombos en el contexto de IAMCST tratado por reperfusión mecánica, se demostró correlación negativa del contenido plaquetario con el tiempo transcurrido desde el inicio del dolor. Además, la tasa de células con expresión para CD34 tuvo correlación positiva con la reestenosis en el seguimiento posterior (coeficiente de correlación = 0,76; p = 0,01).[13]

En un estudio reciente, que destacó el potencial de aplicabilidad práctica de un mayor conocimiento de la constitución de los trombos, Sambola et al.[15] evaluaron la carga trombótica aspirada de diez pacientes sometidos a ICPp, en comparación con otros diez pacientes sometidos a ICP de rescate después de la respuesta ineficaz a la tenecteplasa. En este último grupo de pacientes se detectaron niveles más altos de fibrina (p = 0,016), P-selectina (p = 0,03) y de factor de von Willebrand (p = 0,03).

Aunque las evidencias indican reactividad plaquetaria y aumento de la coagulabilidad, así como fibrinólisis comprometida en pacientes con DM de tipo 2,[23] el perfil inmunohistoquímico de nuestros pacientes diabéticos no fue diferente del perfil de los no diabéticos, incluso comparando los grupos para factores de confusión importantes como edad, sexo y tiempo de evolución del IAMCST. Nuestros resultados también se opusieron a los resultados de Yamashita et al.,[16] que llegaron a un número significativamente menor de células CD34 positivas en los trombos en pacientes portadores de DM tipo 2. Se cree que este agrupamiento celular puede restringir la formación y facilitar la organización del trombo, de modo que su escasez puede influir negativamente en el pronóstico. Además, no se observó ningún tipo de asociaciones con significancia estadística entre los antígenos CD34, CD61 o el factor VIII y otras variables clínicas o componentes del trombo.

La principal limitación de este estudio piloto fue el reducido tamaño de la muestra, lo que puede haber contribuido a la ausencia de diferencias entre los grupos. Por otra parte, la difusión de estos resultados puede alertar a otros investigadores e intervencionistas sobre la importancia del análisis inmunohistoquímico de los trombos coronarios en pacientes con IAMCST.

CONCLUSIONES

Llegamos a la conclusión que en este análisis preliminar no pudimos demostrar diferencias significativas en relación a la expresión de la actividad de las células endoteliales, de la función plaquetaria ni de la activación de la cascada de coagulación entre trombos de pacientes diabéticos y no diabéticos sometidos a intervención coronaria primaria como tratamiento de infarto agudo de miocardio con supradesnivel del segmento ST.

CONFLICTO DE INTERESES

No existe.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO

Este trabajo fue financiado por el Instituto de Cardiología/Fundación Universitaria de Cardiología (IC/FUC), de Porto Alegre (RS), a través del Fondo de Apoyo del IC/FUC para la Ciencia y la Cultura (FAPICC).

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a nuestros colegas Alexandre Azmus, André Mânica, Carlos Cardoso, Cláudio Vasques de Moraes, Cláudio Ramos de Moraes, Cristiano Cardoso, Flavio Leboute, Henrique Gomes, Julio Teixeira, La Hore Rodrigues, Luis Maria Yordi, Mauro Moura y Rogério Sarmento-Leite, por la participación en la ejecución de los procedimientos de intervención coronaria percutánea primaria.

REFERENCIAS

1. World Health Organization. The top 10 cause of death. Fact sheet N° 310, updated May 2014 [Internet]. Geneva; 2014 [cited 2014 Apr 25]. Available from: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/
2. 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(16):1677-84.
3. Fox KA, Dabbous OH, Goldberg RJ, Pieper KS, Eagle KA, Van de Werf F, 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(7578):1091.
4. Libby P. Mechanisms of acute coronary syndromes and their implications for therapy. N Engl J Med. 2013;368(21):2004-13.
5. Keeley EC, Boura JA, Grines CL. Primary angioplasty versus intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review of 23 randomised trials. Lancet. 2003; 361 (9351):13-20.
6. Vlaar PJ, Svilaas T, van der Horst IC, Diercks GF, Fokkema ML, de Smet BJ, et al. Cardiac death and reinfarction after 1 year in the thrombus aspiration during percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction study (TAPAS): a 1-year follow-up study. Lancet. 2008;371(9628):1915-20.
7. Rittersma SZ, Van Der Wal AC, Koch KT, Piek JJ, Henriques JP, Mulder KJ, et al. Plaque instability frequently occurs days or weeks before occlusive coronary thrombosis: a pathological thrombectomy study in primary percutaneous coronary intervention. Circulation. 2005;111(9):1160-5.

8. Silvain J, Collet JP, Nagaswami C, Beygui F, Edmondson KE, Bellemain-Appaix A, et al. Composition of coronary thrombus in acute myocardial infarction. J Am Coll Cardiol. 2011;57(12): 1359-67.
9. Cambruzzi E, Sebben JC, David RB, Mattos El, Bernardi GLM, Ioppi J, et al. Avaliação histopatológica de trombos coronários em pacientes com infarto agudo do miocárdio e elevação do segmento ST. Rev Bras Cardiol Invasiva. 2012;20(3):267-73.
10. Kramer MC, van der Wal AC, Koch KT, Ploegmakers JP, van der Schaaf RJ, Henriques JP, et al. Presence of older thrombus is an independent predictor of long-term mortality in patients with ST-elevation myocardial infarction treated with throm- bus aspiration during primary percutaneous coronary intervention. Circulation. 2008;118(18):1810-6.
11. Quadros AS, Cambruzzi E, Sebben J, David RB, Abelin A, Welter D, et al. Red versus white thrombi in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: clinical and angiographic outcomes. Am Heart J. 2012;164(4):553-60.
12. Arbustini E, Dal Bello B, Morbini P, Gavazzi A, Specchia C, Viganò M. Immunohistochemical characterization of coronary thrombi in allograft vascular disease. Transplantation. 2000;69(6):1095-101.
13. Iwata H, Satã M, Ando J, Fujita H, Morita T, Sawaki D, et al. Impact of primitive cells in intracoronary thrombi on lesion prognosis: temporal analysis of cellular constituents of thrombotic material obtained from patients with acute coronary syndrome. Heart. 2010;96(10):748-55.
14. Aoki J, Serruys PW, van Beusekom H, Ong AT, McFadden EP, Sianos G, et al. Endothelial progenitor cell capture by stents coated with antibody against CD34: the HEALING-FIM (Healthy Endothelial Accelerated Lining Inhibits Neointimal Growth-First In Man) Registry. J Am Coll Cardiol. 2005;45(10):1574-9.
15. Sambola A, Francisco J, Del Blanco BG, Ruiz-Meana M, Marti G, Otaegui I, et al. Immunohistochemical and molecular characteristics of coronary thrombus resistant to fibrinolysis. J Am Coll Cardiol. 2012;59(13s1):E448-E448.
16. Yamashita A, Nishihira K, Matsuura Y, Ito T, Kawahara K, Hata-keyama K, et al. Paucity of CD34-positive cells and increased expression of high-mobility group box 1 in coronary thrombus with type 2 diabetes mellitus. Atherosclerosis. 2012;224(2):511-4
17. Moreno PR, Murcia AM, Palácios IF, Leon MN, Bernardi VH, Fuster V, et al. Coronary composition and macrophage infiltration in atherectomy specimens from patients with diabetes mellitus. Circulation. 2000;102(18):2180-4.
18. Donahoe SM, Stewart GC, McCabe CH, Mohanavelu S, Murphy SA, Cannon CP, et al. Diabetes and mortality following acute coronary syndromes. JAMA. 2007;298(7):765-75.
19. Levine GN, Bates ER, Blankenship JC, Bailey SR, Bittl JA, Cercek B, et al. 2011ACCF/AHA/SCAI Guideline for Percutaneous Coronary Intervention: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions. J Am Coll Cardiol. 2011; 58(24):e44-122.
20. Holmes DR Jr, Hirshfeld J Jr, Faxon D, Vlietstra RE, Jacobs A, King SB 3rd, et al. ACC Expert Consensus document on coronary artery stents. Document of the American College of Cardiology. J Am Coll Cardiol. 1998;32(5):1471-82.
21. Fukuchi M, Watanebe J, Kumagai K, Katori Y, Baba S, Fukuda K, et al. Increased von Willebrand factor in the endocardium as a local predisposing factor for thrombogenesis in overloaded human atrial appendage. J Am Coll Cardiol. 2001;37(5): 1436-42.
22. Ikuta T, Naruko T, Ikura Y, Ohsawa M, Fukushima H, Shirai N, et al. Immunolocalization of platelet glycoprotein IIb/IIIa and P-selectin, and neutrophil - platelet interaction in human coronary unstable plaques. Int J Mol Med. 2005; 15(4): 573-7.
23. Ferroni P, Basili S, Falco A, Davi G. Platelet activation in type 2 diabetes mellitus. J Thromb Haemost. 2004;2(8):1282-91.