

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

**PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO DE LA ENFERMEDAD CAROTIDEA EN PACIENTES  
CON PIE DIABETICO QUE CONSULTARON EN EL HOSPITAL RAFAEL ANGEL CALDERON  
GUARDIA ENTRE OCTUBRE DEL 2015 Y ABRIL DEL 2016**

Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado de  
Vascular Periférico para optar al grado de Especialista en Vascular Periférico

Dr. Michael Rafael Abarca Brenes

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2016

## **Dedicatoria**

Esta tesis de posgrado la dedico a mi familia por su apoyo desde que inicie mis estudios a mi esposa Laura por ser fuente de inspiración y a mi hija Sofía que me motiva a ser mejor cada día.

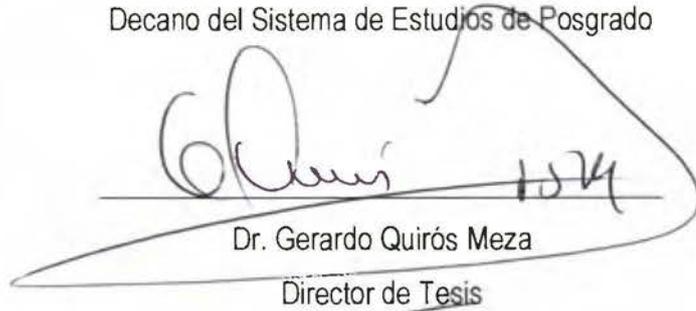
## **Agradecimientos**

Agradecimiento al servicio de vascular periférico del Hospital Rafael Ángel Calderón Guardia, en especial al Dr. Gerardo Quirós Meza por ser el director de esta tesis, a todos los asistentes tanto de este hospital como del Hospital San Juan de Dios y el Hospital México los cuales con su ejemplo me motivan a buscar siempre la excelencia.

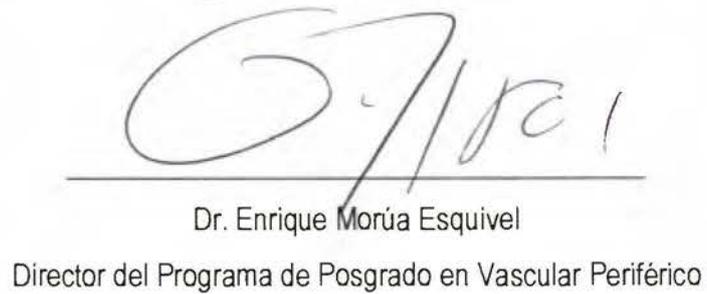
"Esta tesis fue aceptada por la Comisión de Estudios de Postgrado en Vascular Periférico de la Universidad de Costa Rica, como requisito para optar al grado y título de Especialista en Vascular Periférico".

---

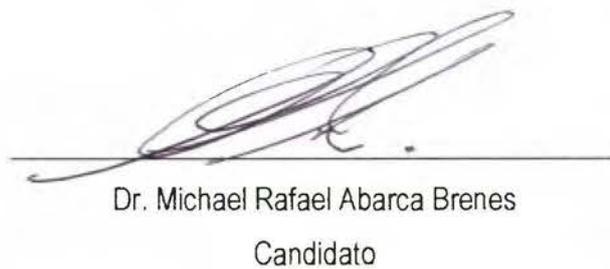
Dr. Álvaro Morales Ramírez  
Decano del Sistema de Estudios de Posgrado



Dr. Gerardo Quirós Meza  
Director de Tesis



Dr. Enrique Morúa Esquivel  
Director del Programa de Posgrado en Vascular Periférico



Dr. Michael Rafael Abarca Brenes  
Candidato

## Tabla de contenidos

### Preliminares

Portada	I
Dedicatoria	II
Agradecimiento	II
Aprobación de Tesis	III
Tabla de Contenidos	IV
Resumen	VI
Lista de Cuadros	VII
Lista de Figuras	VII
Lista de Gráficos	VII

### Desarrollo

I- Introducción	1
II- Marco Teórico	3
Anatomía de las Arterias Carótidas	3
Caracterización de la Placa Aterosclerótica en la enfermedad carotídea	4
Enfermedad Carotídea y Factores de Riesgo	6
a) Hipertensión	6
b) Diabetes	7
c) Dislipidemia	8
d) Fumado	9
Efecto Endotelial	10
Efecto Hematológico	11
Efecto Fisiológico	11
Tratamiento Antitrombótico	13
a) Aspirina	13

b) Tienopiridinas	14
c) Inhibidores de la Fosfodiesterasa	14
d) Antagonista del Receptor IIB/IIIA	14
Evaluación de la placa aterosclerótica mediante ultrasonido	15
III- Materiales y Metodología	17
IV- Resultados	18
V- Discusión	21
VI- Conclusiones	22
VII- Bibliografía	23

## Resumen

La enfermedad carotídea, resulta de la enfermedad aterosclerótica sistémica, la cual es una patología de gran relevancia tanto en vascular periférico como en otras disciplinas médicas.

Su manifestación como evento cerebro vascular establecido o como isquemia cerebral transitoria tiene grandes implicaciones no solo por las secuelas físicas que conlleva, generando una discapacidad al paciente y limitándole en diferentes grados su cotidianidad, además de un alto costo económico generado a los servicios de salud.

El objetivo principal de la presente tesis es establecer la prevalencia y factores de riesgo acompañantes que se encontraron en un grupo de pacientes que asistieron a la consulta externa del pie diabético del Hospital Rafael Ángel Calderón Guardia entre el mes de octubre del 2015 y el mes de abril del 2016.

También se logran otros secundarios como repaso. Se realiza una revisión de la literatura en relación a la patología carotídea, sus bases embriológicas y anatómicas, también un análisis de los principales factores de riesgo ateroscleróticos asociados con la enfermedad.

El presente es un estudio prospectivo y observacional, con una muestra de 28 pacientes, con rangos de edades que van de 50 años hasta 89 años.

El criterio de inclusión fue: diabéticos que consultaran a la clínica de Pie diabético del hospital Calderón Guardia. Los mismos firmaron un consentimiento informado, se les realizó una historia clínica por parte del investigador identificando factores de riesgo cardiovasculares y posteriormente se les realizó un ultrasonido doppler de vasos de cuello, realizado por un experto con amplia experiencia, en busca de enfermedad carotídea. Se analiza la asociación entre diabetes y la enfermedad carotídea, definiéndose esta como la presencia de estenosis crítica mayor del 70%. De un total de 28 pacientes analizado, solo 26 pacientes se les realizó ultrasonido doppler carotídeo. De los 26 pacientes solo 3 tenían datos de enfermedad significativa.

### **Lista de Cuadros**

Cuadro 1: Efecto del cigarro y mecanismos de acción – Página 11

Cuadro 2: Pacientes por grupos de edad, según sexo, 2016 – Página 18

Cuadro 3: Pacientes según grado de estenosis carotídea, 2016 – Página 20

### **Lista de Figuras**

Figura 1: Migración de Leucocitos a nivel Sub endotelial – Página 6

Figura 2: Diabetes Mellitus y su efecto a nivel Endotelial – Página 8

### **Lista de Gráficos**

Gráfico 1: Grupo de edades de los pacientes según sexo, 2016 – Página 18

Gráfico 2: Prevalencia de comorbilidades asociadas en el grupo de pacientes, 2016 – Página 19

Gráfico 3: Pacientes con amputación previa, 2016 – Página 19

Gráfico 4: Pacientes según grado de estenosis carotídea – Página 20

## I - INTRODUCCIÓN

El presente trabajo surge como un plan piloto para determinar la presencia de enfermedad carotídea significativa, en un grupo de pacientes portadores de Diabetes Mellitus atendidos en la Clínica de Pie Diabético del Hospital Calderón Guardia, identificando factores de riesgo cardiovasculares de dicha población. Esto debido a que se ha visto que en este grupo de pacientes, es más frecuente la patología atero-oclusiva carotídea.

La aterosclerosis ocurre en sitios específicos del árbol arterial, para entender bien este fenómeno hay que recordar los factores hemodinámicos que interactúan con el endotelio como es el stress de las fuerzas de cizallamiento ejercido sobre la pared arterial, los sitios donde se da este fenómeno resisten la formación de las placas de ateroma. Este fenómeno es de suma importancia a nivel del territorio carotídeo, donde por las características anatómicas la convierten en una zona de flujo turbulento y bajo stress de cizallamiento sobre todo en la bifurcación carotídea, lo que hace de esta zona un sitio susceptible para la formación de aterosclerosis. (Akimoto S, et al, 2000)

El stress de cizallamiento responde a elementos que ocurren en regiones promotoras de diferentes genes ateroprotectores. El eNOS es uno de esos genes, las fuerzas de cizallamiento incrementan la producción de este gen con la consiguiente producción de óxido nítrico, con lo cual se garantiza una superficie endotelial, mas resistente a eventos trombóticos, hay menor expresión de moléculas de adhesión y una disminución en la migración de células musculares lisas. (Mach F, et al, 1997) La superóxido dismutasa es expresada en sitios de alto stress de cizallamiento reduciendo el stress oxidativo. Estas áreas con flujo laminar alto tienen propiedades antiinflamatorias, antioxidantes además de presentar poca capacidad de adhesión a leucocitos. (Edelberg JM, et al, 2001)

Las bifurcaciones y las curvaturas mayores de las arterias son sitios de disrupción del flujo laminar, lo que causa una separación de las capas del flujo laminar, hay flujo reverso lo que genera zonas de estasis. La estasis genera un aumento en el tiempo de contacto sobre la superficie endotelial de los diferentes elementos sanguíneos, lo que favorece el depósito de lípidos en este sitio. Estos cambios hemodinámicos favorecen el desarrollo de aterosclerosis a nivel del árbol arterial. La disrupción en el flujo laminar promueve una transformación fenotípica en las células de la pared arterial favoreciendo un estado proliferativo. (Nakashima Y, et al, 2002)

La formación de la placa aterosclerótica es multifactorial, donde intervienen factores cardiovasculares, fuerzas hemodinámicas, toxinas, agentes infecciosos, los cuales interactúan con el endotelio para finalmente producir una lesión, esto conlleva a una menor producción de óxido nítrico y a un mayor aumento de la permeabilidad endotelial. (Quehenberger O, 2006)

Es importante recordar que la diabetes tiene implicaciones tanto a nivel microvascular como macrovascular. Un ejemplo de la afectación microvascular es la nefropatía y la retinopatía diabética, con un riesgo de 20 y 25 veces respectivamente respecto a la población general. A nivel macrovascular esta estrechamente relacionada con la aterosclerosis, la cual se manifiesta en diferentes territorios del árbol arterial, a nivel periférico hay afectación de vasos tibiales y carotídeos, sin dejar de lado la afectación coronaria.

Tanto la diabetes establecida como la resistencia a la insulina están asociados con la enfermedad aterosclerótica. A nivel endotelial juega un papel de gran importancia, esta relacionado con la hemostasis, regulación del tono vascular, la actividad plaquetaria, la adhesión y la diapédesis de las células musculares lisas que migran y proliferan a nivel subendotelial.

Según la encuesta de factores de riesgo cardiovasculares de nuestro país, la incidencia de diabetes mellitus hasta el 2010 en mayores de 20 años es de 1,3 % y en la población diagnosticada de 9,5%, lo que nos da una prevalencia nacional del 10,8%, la cual se compara con la del 11.3% de Estados Unidos. La prevalencia aumenta de manera significativa con la edad, teniendo una prevalencia del 3,7% en adultos de 20 a 44 años de edad, del 26.9% en adultos mayores de 65 años. (Análisis de situación en salud, 2014)

La elevación de los niveles de glucosa en sangre esta asociado con un aumento en el riesgo de presentar un accidente cerebro vascular en pacientes con enfermedad carotídea aterosclerótica. Estudios como The Insulin Resistance in the Community study y Atherosclerosis Risk in the Community study (ARIC, 1989) muestran que la diabetes esta asociada con un aumento en el grosor de la capa media e intima de la arteria carótida. La diabetes es un factor de riesgo cardiovascular importante, con alto impacto en la morbi- mortalidad. Estadísticas en Estados Unidos indican un aumento en 1,8 a 6 veces de eventos cerebro vasculares respecto a la población sin la enfermedad.

## II - Marco Teórico

### **Anatomía de Arterias Carótidas**

La arteria carótida se encuentra localizada en la región lateral del cuello, delimitada por la región lateral del músculo esternocleidomastoideo (ECM), encima del proceso mastoideo y superior a la clavícula y el esternón. El mayor punto de referencia es el ECM se el cual extiende desde la región de la apófisis mastoideo hasta la porción lateral de la clavícula.

Dentro de las estructuras superficiales en relación con la arteria carótida se encuentran las fascia cervical superficial, la vena yugular externa con su ramas del plexo cervical. Todas estas estructuras están cubiertas por el musculo platisma. Cabe mencionar que el musculo ECM se encuentra firmemente adherido debido a la duplicación de la fascia a nivel del cuello, este a su vez presenta dos porciones una esternal que se inserta en el esternón y otra clavicular que se inserta a nivel de la clavícula en su tercio proximal. En un plano mas profunda la fascia es mas delgada y fibrosa. La fascia profunda cubre de manera separada al musculo de las otras estructuras. Si se realiza una retracción lateral del musculo ECM se puede observar la vena yugular interna en su parte superior. Existen gran cantidad de nódulos linfáticos dispuestos entre el músculo y la vena adheridos mas o menos en ambas estructuras.

La vaina carotídea es una estructura tubular que es la continuidad de la fascia cervical profunda que a este nivel encierra las arteria carótida común, arteria carótida interna, la vena yugular interna y el nervio vago. Encima de la arteria carótida común la vaina carotídea se hace mas delgada. La pared posterior esta en estrecha relación con la fascia pre vertebral. La pared anterior es una extensión y continuidad de la fascia pre traqueal. Esta es tenue sobre la vena yugular sin embargo a nivel de la arteria carótida es mas densa.

La arteria carótida común derecha surge de la arteria innominada en el lado derecho y del lado izquierdo es una rama directa del arco aórtico. Ambas surgen detrás de las articulaciones esterno claviculares y ascienden oblicuas en dirección al ángulo de la mandíbula. A nivel del margen superior del cartílago tiroideo, justo después del bulbo carotideo se divide en dos ramas: la arteria carótida interna y la arteria carótida externa. La arteria carótida interna continua en dirección de su tronco común. La arteria carótida común esta en relación posterior con la cadena y ganglios

simpáticos, la fascia pre vertebral, subyacente a los músculos pre vertebrales y anterior a la superficie del proceso transversos.

La arteria carótida interna comienza a nivel del margen superior del cartílago tiroideo, se ubica ligeramente postero lateral a la arteria carótida externa, pero esta asciende y pasa medial a la pared lateral de la faringe. La arteria carótida externa viaja en dirección hacia arriba y posterior del ángulo de la mandíbula

La vena yugular interna es el tronco venoso principal del cuello siendo una continuación del seno transversos lateral. La vaina carotídea puede ser identificada por su color gris azulado, esta corre ligeramente en un punto lateral a la articulación esterno clavicular, donde se une la vena subclavia con la vena innominada.

Es importante mencionar en este apartado la vena facial común, la cual es una rama de la vena yugular interna. Este tronco se forma a nivel de la glándula submaxilar por la unión de la vena facial anterior y posterior, esta pasa por abajo y por detrás para perforar la vaina carotídea y entrar a la vena yugular interna. En este punto se une el afluente de las venas tiroidea y lingual lo que podría denominarse el tronco tirolingual superficial. (Ascher E, *et al*, 2012) Otra estructura de suma importancia es el nervio vago el cual se encuentra entre la vena yugular interna y la arteria carótida común, esta atraviesa el cuello para finalizar en ramas que llegan hasta el abdomen. El nervio hipogloso es otra estructura de gran importancia en esta región, viaja profundo a nivel de la glándula parótida y desciende entre la arteria carótida interna y la vena yugular interna. De muchísima importancia durante la disección de cuello.

### **Caracterización de la placa aterosclerótica en la enfermedad Carotídea**

Para entender la fisiopatología de la enfermedad carotídea es obligatorio realizar un repaso sobre el desarrollo de la placa aterosclerótica, ya que su entendimiento nos brindará más herramientas para combatir la enfermedad atero- oclusiva la cual se manifiesta en diferentes territorios vasculares.

El endotelio es un órgano con gran actividad autocrina, paracrina y endocrina, todo con el objetivo de regular el tono vascular y crear una superficie no trombogénica. El endotelio sintetiza diferentes sustancias entre las que encontramos el óxido nítrico, prostaglandinas, endotelinas,

angiotensina II, todas estas sustancias interactúan con diferentes componentes de la sangre como el plasminógeno y trombomodulina entre otros, todo con el fin de mantener un balance hemostático.

( Joannides R, et al, 1995) La disfunción endotelial es de las primeras manifestaciones a nivel del vaso antes de aparecer cambios ateroscleróticos evidentes. Otro componente importante de mencionar es el espacio subendotelial, sitio donde se van a localizar las partículas aterogénicas, ahí son retenidas y modificadas para posteriormente ser fagocitadas por los macrófagos y las células musculares lisas. (Nivelstein PF, et al, 1991) El espacio subendotelial es rico en proteoglicanos que contienen condroitina, este último componente interactúa con la apolipoproteína B-100 y la lipoproteína de baja densidad (LDL), ambas lipoproteínas juegan un papel importante en la formación de la placa de ateroma. (Tabas I, et al, 2007)

Las lesiones ateroscleróticas pueden tener una consistencia suave y friables otras pueden ser escleróticas y calcificadas. También pueden tener una capa fibrosa bien formada, otras pueden presentar un adelgazamiento con pérdida del tejido conectivo y tener solo exposición del endotelio. Una capa necrótica se puede encontrar en la parte profunda de la placa aterosclerótica, donde se pueden encontrar lípidos de características amorfas y cristales de colesterol, rodeados además de células musculares lisas y células inflamatorias, lo que hacen un ambiente mas susceptible a la ruptura, debido a que se disminuye la capacidad de proliferación celular en este sitio. ( Skalen K, et al, 2002)

Una simple lesión a nivel endotelial desencadena una respuesta inflamatoria, lo que se traduce en una mayor expresión de leucocitos con capacidad de adhesión molecular, células vasculares, moléculas de adhesión intracelular tipo 1, selectina tipo 1 y E. La expresión de todas estas moléculas lo que genera es la adherencia de los macrófagos y otros leucocitos al endotelio, generando permeabilidad de lipoproteínas y leucocitos dentro del espacio subendotelial. Hay retención de lipoproteínas a nivel subendotelial, donde sufren un cambio a nivel bioquímico, son incorporadas por los macrófagos y las células musculares lisas para formar las células espumosas, las cuales tienen un papel central en el desarrollo del ateroma. (Burke AP, 2001) , Figura 2

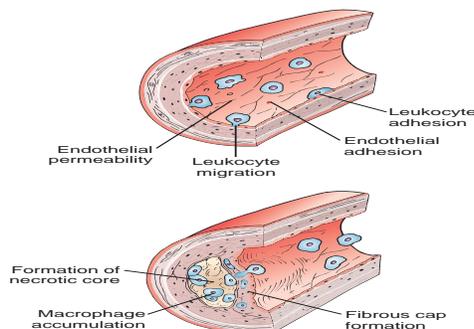


Figura 1. Imagen donde se ilustra la migración de leucocitos a nivel subendotelial, los cuales son fagocitados por los macrófagos para formar las células espumosas.

## Factores de riesgo asociados

La enfermedad carotídea aterosclerótica tiene una estrecha relación con factores de riesgo cardiovasculares, los cuales son obligatorio mencionar. Un manejo médico óptimo reducirá el avance de la enfermedad aterosclerótica así como la prevención de eventos cerebrovasculares.

### a) Hipertensión

La elevación de la presión arterial incrementa el riesgo de un evento cerebrovascular, teniendo una relación constante e independiente de otros factores de riesgo. Múltiples estudios, desde el estudio Framingham, Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC, 1989) y el Cardiovascular Health Study (Fried LP, 1991) identificaron que la hipertensión es un elemento asociado a la enfermedad carotídea. Por cada 10 mmHg de incremento de la presión arterial aumenta el riesgo de un evento cerebrovascular en un 30% a 40%, al contrario la reducción de al menos 10mmHg de la presión arterial disminuye el riesgo de un evento cerebrovascular en un 33%. (Roggers A, 1996) Lo recomendable en pacientes con enfermedad carotídea asintomática e hipertensos es mantener cifras tensionales menores de 140/90 mmHg. Sin embargo se debe de tener mucha prudencia durante la compensación de la hipertensión en pacientes con enfermedad carotídea asintomática o dentro de las primeras 24 horas posterior a un evento cerebrovascular ya que una disminución agresiva de las cifras tensionales puede producir una disminución en la perfusión cerebral. (Lawes CM, 2004) Por lo que esta cifra tensional es lo más recomendado en pacientes con un evento cerebrovascular reciente o una isquemia cerebral transitoria. Sin embargo existe algunas excepciones en las cuales

se debe de manejar la hipertensión en las primeras 24 horas como son el uso del activador del plasminógeno tipo tisular (aTPa) con presión sistólica mayor de 220mmHg y presión arterial diastólica mayor de 120mmHg. En pacientes con estado neurológico estable se recomienda iniciar el tratamiento antihipertensivo después de las 24 hrs. (Chobanian AV, et al, 2003)

La prevalencia de hipertensión en pacientes con eventos isquémicos es de alrededor del 70%. El riesgo de un primer evento isquémico es directamente relacionado a la presión arterial. (Sacco RL, 2006)

## **b) Diabetes**

La diabetes se caracteriza por ser un estado de hiperglicemia sostenido, resultado de la deficiencia en la producción de insulina por parte de las células B del páncreas, (Tipo 1) o por resistencia periférica a la insulina (Tipo 2). (Smith, 2002) El costo económico para los servicios de salud es tres veces mas altos respecto a la población general.

La hiperglicemia incrementa la producción de especies de oxígeno reactivo, favoreciendo el stress oxidativo y produciendo disfunción endotelial. Las especies de oxígeno reactivo hacen que exista una menor producción de óxido nítrico. La hiperglicemia incrementa a nivel mitocondrial la generación de aniones superóxido que estimulan las vías de activación mitogénica como la activación de la proteína quinasa, factores nucleares celulares entre otros, produciendo finalmente una respuesta inflamatoria importante a nivel endotelial. Las especies de oxígeno reactivo tienen la capacidad de activar genes que sintetizan proteínas quimioatrayentes como las selectinas, células de adhesión molecular y células de adhesión intracelular. Estas facilitan la adhesión de los monocitos a la pared vascular, se da una traslocación al subendotelio con la subsecuente formación de células espumosas. Figura 3 ( Wagenknecht, 1997)

El efecto aterogénico de la resistencia a la insulina, produce cambios en el perfil de lípidos, hay un aumento de los niveles de triglicéridos, una disminución del HDL, un incremento de remanentes de lipoproteínas, aumento de los niveles de apoproteína B (ApoB) y de los niveles de LDL. (Dobs As, 1999)

A nivel plaquetario la diabetes produce una disfunción de estos componentes celulares, provocando un estado protrombótico, favoreciendo la ruptura de la placa aterosclerótica. A nivel de la membrana celular existe dos glicoproteínas llamadas Ib y IIIa las cuales en estados

hiperglicémicos favorecen la producción del factor de von Willebrand y la interacción de las plaquetas con la fibrina. Hay aumento de sustancias procoagulantes como el factor VIII, trombina y factor tisular, hay una disminución de los anticoagulantes endógenos y de los inhibidores de fibrina trombomodulina, proteína C, inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1. Todos estos factores favorecen no solo la aterosclerosis, si no predisponen a la ruptura de la placa aterosclerótica. (Li Y, et al, 2001)

La resistencia a la insulina y la incapacidad de esta de hacer efecto relacionado con un mal funcionamiento de las células B pancreáticas, tiene resultado en el aumento del depósito de tejido adiposo, además que a nivel sistémico la hiperglicemia lo que genera es un estado pro-inflamatorio, con un aumento en la secreción de diferentes de tipos de citoquinas con efecto a nivel endotelial arterial.

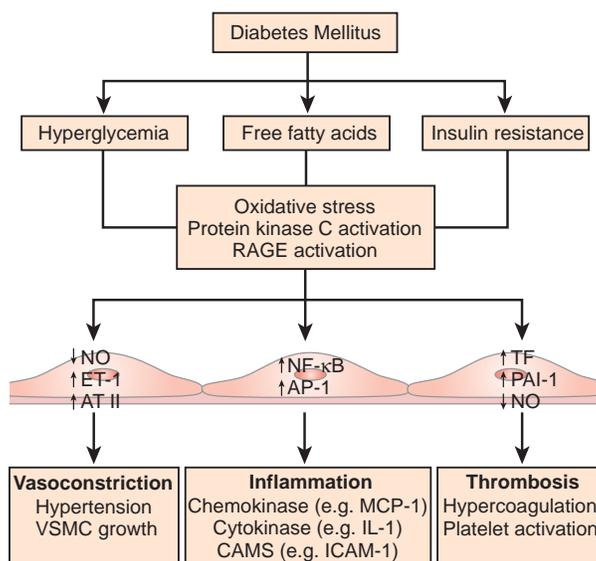


Figura 2. La hiperglicemia, hiperlipidemia y la resistencia a la insulina favorecen el stress oxidativo generando un estado proinflamatorio a nivel endotelial.

### c) Dislipidemia

Niveles altos de colesterol se han relacionado con un aumento en el riesgo de presentar un evento cerebrovascular. Existen diferentes meta análisis que demuestran la relación entre la hipercolesterolemia y la incidencia de eventos cerebrovasculares. Esta demostrado que pacientes

con enfermedad aterosclerótica carotídea y tratamiento hipolipemiante presentan una disminución en la incidencia de eventos cerebrovasculares. Múltiples estudios intervencionales de factores de riesgo y estatinas como terapia para disminuir el colesterol indican que una disminución en los niveles de LDL se asocian con una reducción en el riesgo de eventos cerebro vasculares. En un meta-análisis de 26 estudios se observó que el riesgo de un evento cerebro vascular disminuyó en un 15% por cada 10% en la reducción del LDL sérico. El Stroke Prevention by Aggressive Reduccion in Cholesterol Trail encontró que la Atorvastatina como hipolipemiante en pacientes con evento cerebro vascular reciente o isquemia cerebral transitoria presentó una disminución en un 16% en un seguimiento a 5 años. Sin embargo es poco claro que el tratamiento agresivo en la disminución de los niveles de colesterol represente una regresión de la aterosclerosis a nivel de la carótida. El Agreessive statin therapy in the Measuring Effects on Intima – Media Thickneess, evaluó utilizando como tratamiento la Rosuvastatina la regresión del grosor de la capa íntima y media de la arteria, encontrando una disminución del grosor respecto al grupo control.

Dentro las principales lipoproteínas se encuentra la LDL, la cual es de gran importancia como factor de riesgo cardiovascular así como el HDL. Ambas lipoproteínas son un factor independiente asociado para el desarrollo de un evento cerebro vascular. Según las últimas guías se recomienda niveles de colesterol LDL menores de 100 mg/dL para enfermedad coronaria asintomática y para pacientes sintomáticos se recomienda niveles menores de 70mg/dL.

#### **d) Fumado**

La prevalencia de consumo de tabaco en nuestro país hasta el 2010 es del 24,8% entre la población de 12 a 70 años. Dicha prevalencia ha disminuido si se compara con décadas anteriores, por ejemplo en la década de los 90, la prevalencia era de un 34,4%. (Análisis situación de salud, 2014)

El fumado es un factor de riesgo que para el desarrollo de un evento cerebro vascular. El fumado actúa de manera sinérgica con los otros factores de riesgo anteriormente mencionados. A pesar que la cantidad de fumadores ha disminuido en comparación a 10 años anteriores.

La fisiopatología de la adicción al cigarrillo ha sido ampliamente estudiada. El cigarro tiene efectos deletéreos a nivel cardiovascular, principalmente a nivel de la pared arterial, endotelio vascular, tono simpático vascular, metabolismo, coagulación y sistema fibrinolítico. Tabla 1.

- Efecto Endotelial

El cigarro esta relacionado con daño directo a la célula endotelial, alterando su funcionamiento. A nivel de componentes sanguíneos tiene efecto sobre la agregación plaquetaria, la adhesión leucocitaria sobre el endotelio, aumentando la permeabilidad del fibrinógeno al endotelio. Hay una disminución del óxido nítrico a nivel endotelial con repercusiones de importancia a nivel del tono vascular, que junto con la endotelina -1 tienen un efecto vasoconstrictor. Es importante mencionar no dejar de lado al grupo de pacientes llamados fumadores pasivos o de segunda mano, ya varios estudios han identificado un aumento en los marcadores de daño endotelial, quimiotaxis de células progenitoras endoteliales y disminución de sustancias vasodilatadoras.

El cigarro tiene un efecto sinérgico con la dislipidemia por lo que se recomienda el uso de estatinas como tratamiento antioxidante. Cabe destacar que el efecto inflamatorio y de stress oxidativo sobre el endotelio. Se ha observado que esa disfunción endotelial es reversible con la cesación del fumado.

Algunos estudios se han realizado el análisis de la pared arterial buscando engrosamiento de la íntima y la capa media de la arteria carótida, por ejemplo el Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC), el cual fue un estudio observacional con una muestra bastante amplia de participantes, donde se relacionó la exposición al fumado y los cambios ateroscleróticos, analizando el engrosamiento de la capa media e íntima de la arteria carótida, en un periodo de seguimiento a 3 años. Sus resultados son de sumamente interesantes, se logra identificar que durante el periodo de observación hay un engrosamiento de hasta 43.0  $\mu\text{m}$  vs 28,6 $\mu\text{m}$  en el grupo de los no fumadores. Se identificó un aumento del 25% de progresión de la aterosclerosis comparado con los no fumadores. Una conclusión interesante de este estudio es que hay un efecto irreversible y acumulativo del cigarro con gran peso sobre la progresión de la enfermedad y el engrosamiento de la íntima y media de la arteria carótida. Lo cual contradice lo anteriormente mencionado

- Efecto Hematológico

El cigarrillo tiene un efecto procoagulante, asociado con anormalidades a nivel de la función plaquetaria, coagulación y de la fibrinólisis. Los fumadores incrementan la agregación plaquetaria, lo que se asocia con anormalidades protrombóticas de la cascada de la coagulación, incluyendo aumento del fibrinógeno y del factor VII, hay anormalidades del sistema fibrinolítico incluido la liberación del plasminógeno tipo tisular. Hay aumento de la viscosidad sanguínea, este efecto también es reversible con la cesación del fumado

- Efecto Fisiológico

El cigarrillo tiene un efecto deletéreo a nivel fisiológico y metabólico sobre el sistema cardiovascular. Dentro de los principales componentes presentes en el cigarrillo se encuentran la nicotina, la cual a nivel endotelial produce un aumento del tono simpático, aumentando la frecuencia cardíaca, la presión arterial, las demandas de oxígeno a nivel del miocardio, además se produce un estado de vasoconstricción periférica, hay elevación de los niveles de catecolaminas. Los fumadores presentan niveles aumentados de proteína C reactiva, además de presentar disminución de los niveles de HDL e incremento del LDL. También este efecto nocivo es reversible con la cesación del fumado. Existe una asociación entre el fumado y la resistencia a la insulina en fumadores, lo que predispone a síndrome metabólico con las consecuencias cardiovasculares asociadas.

### Cuadro 1. Efectos adversos y mecanismos de acción del cigarrillo a nivel cardiovascular

#### Lesión vascular

Daño endotelial

Aumento de adhesión de leucocitos y plaquetas a nivel de las células endoteliales

Deterioro de la biodisponibilidad el óxido nítrico causando un tono vasomotor anormal

Aumento del tono vasomotor mediado por endotelina-1

**Anormalidades metabólicas**

Aumento del colesterol total y LDL

Aumento de triglicéridos

Disminución del colesterol HDL

Resistencia a la Insulina

**Efectos Hemorreológicos**

Aumento de la agregación plaquetaria

Aumento del fibrinógeno y del factor VII

Aumento de la expresión del factor tisular

Deterioro de la liberación del activador del plasminógeno tipo tisular

Aumento de la viscosidad sanguínea

**Inflamación**

Aumento del stress oxidativo

Incremento de marcadores inflamatorios ( Proteína C reactiva, conteo total de leucocitos)

Incremento de la actividad de las metaloproteinasas a nivel de la matriz celular

**Efecto cardiovascular**

Aumento del Tono Simpático

Aumento de la frecuencia cardiaca

Aumento de la presión arterial

Aumento de las demandas de oxígeno en el miocardio

Vasoconstricción periférica

## Tratamiento antitrombótico

Es imperativo durante el análisis de la enfermedad carotídea realizar un repaso de los diferentes antiagregantes plaquetarios, los cuales son un pilar fundamental en el tratamiento médico de la enfermedad carotídea.

La plaquetas contribuyen en la iniciación y avance de la enfermedad aterosclerótica. Los agentes antiplaquetarios son una herramienta en el manejo de la aterotrombosis. Está bien establecido el rol que juega durante la formación de un trombo, en cualquier territorio vascular. Cuando las plaquetas se activan, hay liberación de gránulos que contienen citoquinas, factores de crecimiento, a esto se le suma la actividad de la trombina, lo que contribuye con la migración y proliferación de células musculares lisas y monocitos.

Se debe de mencionar que existen varios grupos de agentes antiagregantes, sin embargo realizaremos el repaso con las cuatro clases más importantes dentro del arsenal terapéutico. Aspirina, tienopiridinas (ticlopidina y el clopidogrel), inhibidores de la fosfodiesterasa (dipiridamol y el cilostazol), antagonistas del receptor plaquetario GP IIb/IIIa.

### Rol de las plaquetas en la aterotrombosis

La activación de las plaquetas se da por diferentes mecanismos. Después de la ruptura de la placa aterosclerótica, las plaquetas se adhieren a nivel subendotelial, hay una activación importante producto de la interacción a sustancias subendoteliales como el colágeno. Hay un efecto amplificador mediado por tromboxanos y adenosina.

#### **a) Aspirina**

El mecanismo de acción de la aspirina es a nivel de la inhibición irreversible de la ciclooxigenasa tipo 1, la cual es una enzima encargada de transformar el ácido araquidónico a prostaglandinas. A pesar que la vida media de la aspirina es muy corta, alrededor de 15 min – 20 min, logra inhibir la activación de las plaquetas de manera permanente. Solo un 10% de las plaquetas no son inhibidas esto debido al recambio diario, por lo que mantener una dosis diaria es

suficiente para mantener completamente inhibida esta vía. Diferentes meta análisis indican que la aspirina reduce en un 25% el riesgo de un evento cerebro vascular, comparado con placebo en poblaciones de alto riesgo. Se recomienda una dosis de 75mg- 160mg como optima cada día.

### **b) Tienopiridinas**

Las tienopiridinas es un tipo de antiagregante plaquetario que tiene su actividad a nivel del receptor de ADP de la plaqueta. Los mas utilizados son el clopidogrel y la ticlopidina. Que a dosis de 75mg y 500mg respectivamente producen una inhibición del completa a los 5 días. Sin embargo durante procedimientos endovasculares o eventos agudos se considera que la dosis de 300mg para el clopidogrel es la dosis mas recomendada.

Es importante mencionar la combinación de aspirina y clopidogrel, dicha combinación es de gran utilidad en pacientes de alto riesgo de oclusión vascular, implantación de stents en diferentes territorios, sin embargo en pacientes estables, la recomendación es el uso de monoterapia

### **c) Inhibidores de la Fosfodiesterasa**

Los inhibidores de la fosfodiesterasa son una familia de medicamentos cuyo mecanismo de acción es producir la inhibición del AMPc (adenosin monofosfato cíclico) a nivel de la plaqueta, evitando la agregación de las mismas. De los medicamentos mas conocidos tenemos el dipiridamol y el cilostazol. Ambos medicamentos tienen actividad vasodilatadora. El cilostazol inhibe la proliferación de células musculares lisas. En el caso del cilostazol está contraindicado de utilizar en pacientes con insuficiencia cardiaca congestiva y no se utiliza como un medicamento con efecto cardioprotector, su único uso esta aprobado para claudicación intermitente, donde si ha demostrado un aumento en la distancia de caminata en los pacientes con enfermedad arterial periférica y claudicación discapacitante.

### **d) Antagonistas del Receptor IIB/IIIA**

Dentro del grupo de los inhibidores del receptor GPIIB/IIIA, existen tres clases de medicamentos: abciximab, el grupos de medicamentos derivados de anticuerpos monoclonales

(eptifibatide), heptapéptidos sintéticos (tirofiban) y los antagonistas no peptídicos del receptor GPIIb/IIIa. Todas las preparaciones son sintéticas. Las preparaciones orales han fracasado en prevenir a largo plazo los eventos isquémicos recurrentes, además de haber una relación en el aumento de la mortalidad y de complicaciones de sangrado. Los Inhibidores del receptor GPII/IIIa están indicados en situaciones clínicas, donde su eficacia esta bien documentada, como en síndrome coronario agudo. Abciximab es el único tratamiento estudiado para eventos cerebro vasculares agudos. Lo que se ha notado es el aumento del riesgo de sangrado en pacientes con eventos cerebro vasculares agudos.

### **Evaluación de la placa carotídea mediante ultrasonido**

La enfermedad aterosclerótica es la causa mas frecuente de enfermedad carotídea. El Desarrollo de las placas ateroscleróticas ocurre a lo largo del tiempo secundario a un proceso de aterogénesis, el cual es progresivo y que finaliza con la acumulación de lípidos a nivel subendotelial y una respuesta inflamatoria relacionada. (Stein JH, 2008) La composición de las placas ateroscleróticas reflejan la severidad local de la enfermedad. La placa aterosclerótica avanzada es rica en tejido fibroso con un núcleo necrótico rico en lípidos, depósitos de calcio y células inflamatorias (Touboul, 2013). La ruptura de la placa aterosclerótica es la causante del evento trombótico agudo, el cual se puede manifestar en diferentes territorios del árbol arterial. La posibilidad de ruptura esta relacionada a las características de la placa y la vulnerabilidad de esta (Hollander, 2002). De ahí la importancia de una identificación oportuna de placas ateroscleróticas de riesgo para evitar eventos futuros. En este caso el método utilizado como tamizaje de enfermedad carotídea es el ultrasonido doppler, siendo este un método no invasivo, relativamente barato y disponible en la mayoría de centros de atención primaria de nuestro país. Existen diferentes técnicas para identificar placas ateroscleróticas de alto riesgo como son: score de calcio coronario para pacientes cardiopatas coronarios, grosor de la capa intima y media carotídea y las características de la placa carotídea

La sociedad americana de ecocardiografía sugiere una valoración standard para la valoración de la placa aterosclerótica. Se realiza una valoración inicial circunferencial en ángulo anterior y posterior, alejando y acercando la imagen a la pared de la arteria carótida común, bulbo y

segmentos de la arteria carótida interna. La placa se debe observar en vista axial y longitudinal. Con esto se puede observar el engrosamiento de la pared, lo cual es significativo si es mayor a 0,5mm o se puede utilizar el engrosamiento de la media y de la íntima, el cual es significativo si es mayor de 1,5mm. La placa se puede caracterizar por la presencia, ausencia, localización, engrosamiento, número, irregularidad ( ulceración) y ecogenicidad de la placa. Se debe hacer un análisis cuantitativo como cualitativo de la placa. (Nambi V, 2010). Existe un riesgo de 1,5 veces mas respecto a la población general de padecer un evento cerebro vascular para aquellos pacientes con presencia de placas ateroscleróticas. Cabe mencionar que la presencia de placa aterosclerótica a nivel de la carótida es un predictor de riesgo de padecer un evento coronario. Esta demostrado la relación entre el numero de placas ateroscleróticas y la mortalidad cardiovascular. (Nambi V, 2010) . Otro dato importante es analizar si la placa es ecolúcida ( placa rica lípidos) o si es ecogénica ( rica en tejido fibroso y calcio). La placa ecolúcida se observa con tonos negros mientras que la placa ecogénica se observa en tonos grises.(Rundek, 2008). El ultrasonido es una excelente herramienta para identificar la presencia de placa a nivel carotídeo. Es un método barato, seguro. La presencia de placa carotídea es un mejor predictor de riesgo cardiovascular comparado con la relación que existe entre la media y la íntima. Dentro de las desventajas es que el ultrasonido es operador dependiente.

### III - Materiales y Metodología

Se realizó un estudio prospectivo observacional donde se caracterizó un grupo de pacientes diabéticos que consultaron a la Clínica de Pie Diabético entre los meses de octubre del 2015 a abril del 2016.

Es un estudio tipo prospectivo observacional, donde se toma una muestra de 28 pacientes que consultaron a la clínica de pie diabético del Hospital Rafael Ángel Calderón Guardia, a los cuales mediante una entrevista por parte del investigador se completa una historia clínica con el objetivo de identificar los principales factores de riesgo cardiovasculares como son diabetes, hipertensión, dislipidemia, enfermedad arterial coronaria y tabaquismo. Como criterio de inclusión obligatorio es ser diabético y haber consultado a la clínica de pie diabético en los meses anteriormente mencionados y haberse realizado un ultrasonido doppler de carótidas por un experto en ultrasonido doppler, con el objetivo de buscar datos de estenosis carotídea significativa en el grupo de pacientes analizado. Se define estenosis significativa como el grado de estenosis a nivel de la arteria carótida mayor del 70% de su diámetro, el ultrasonografista utiliza los criterios de NASCET para determinar el grado de estenosis.

#### **Objetivo General**

Determinar la prevalencia de la enfermedad carotídea aterosclerótica en pacientes diabéticos que consultaron a la clínica de Pie Diabético del Hospital Calderón Guardia entre los meses de octubre del 2015 y abril del 2016.

#### **Objetivos Específicos**

- 1) Caracterizar el perfil epidemiológico relacionado a factores de riesgo cardiovascular en la población estudiada.
  
- 2) Evaluar el grado de oclusión a nivel carotídeo mediante ultrasonido doppler.

#### IV - Resultados

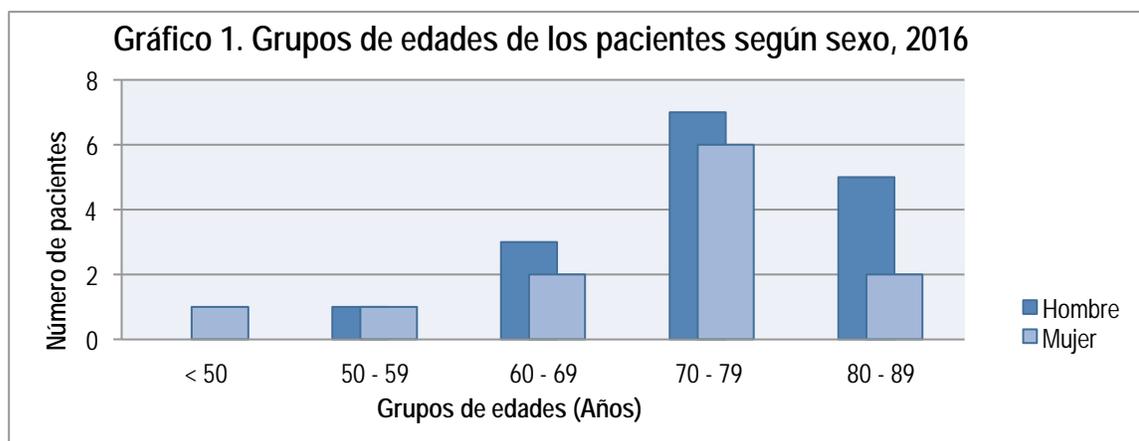
Durante un periodo de 6 meses, desde octubre del 2015 a abril del 2016 se recolectaron 28 casos, de los cuales no se pudieron incluir 2 casos por no contar con el ultrasonido doppler de carótidas.

Se cuenta con una muestra de 28 pacientes, de los cuales 12 son mujeres y 16 son hombres, con los rangos de edades que se describen en el Cuadro 2.

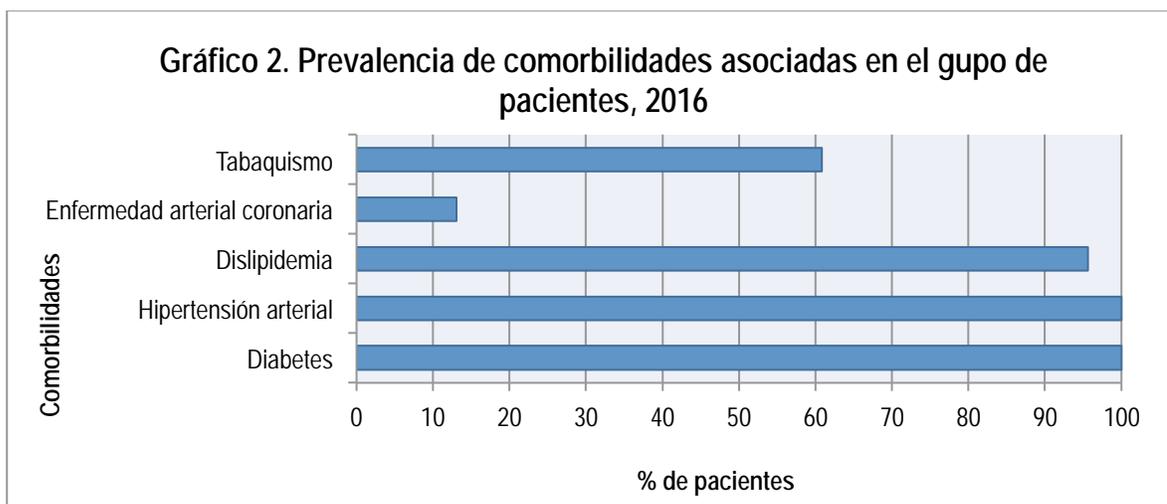
Cuadro 2. Pacientes por grupos de edades, según sexo, 2016			
Grupo de edades	Sexo		
	Hombre	Mujer	Total
< 50	0	1	1
50 - 59	1	1	2
60 - 69	3	2	5
70 - 79	7	6	13
80 - 89	5	2	7
<b>Total</b>	<b>16</b>	<b>12</b>	<b>28</b>

Fuente: propia

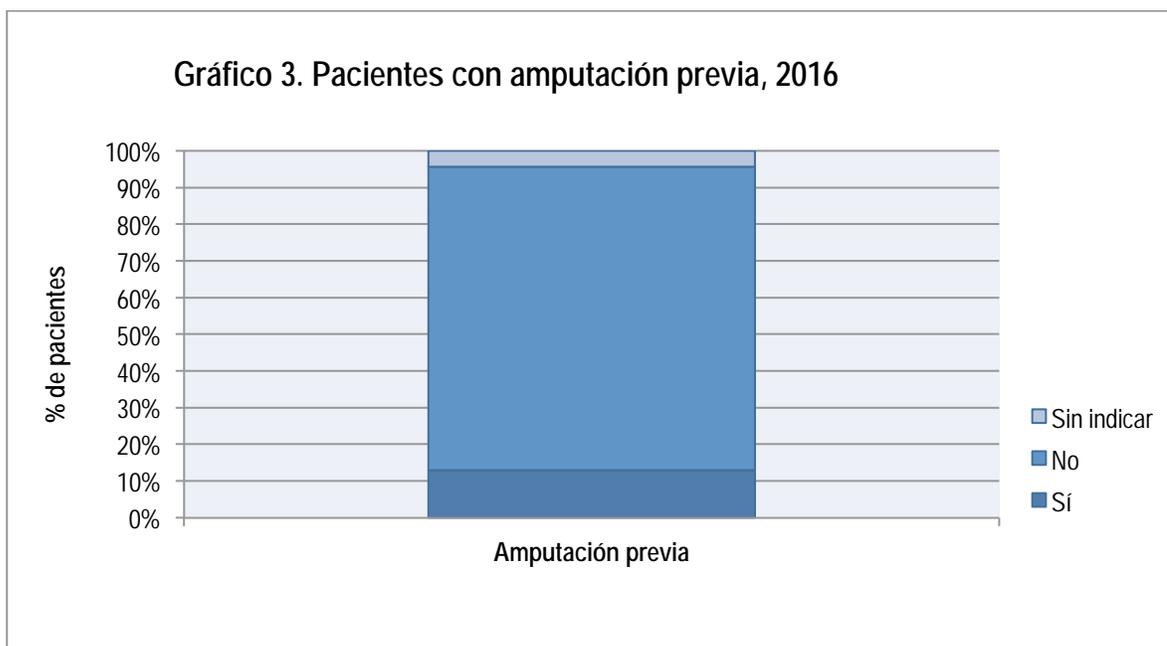
Dentro de los grupos de edades se puede analizar que la mayoría de los pacientes se encuentran por encima de los 70 años de edad. Ver Gráfico 1



Del grupo de pacientes se analiza que el 100% son diabéticos, lo cual es algo esperado ya que es un criterio de inclusión, tanto la hipertensión como la dislipidemia son de las comorbilidades que mas prevalecen en la muestra pacientes. Ver gráfico 2



Del grupo de pacientes se encuentra que un 10% tienen el antecedente de una amputación menor. Ver Gráfico 3

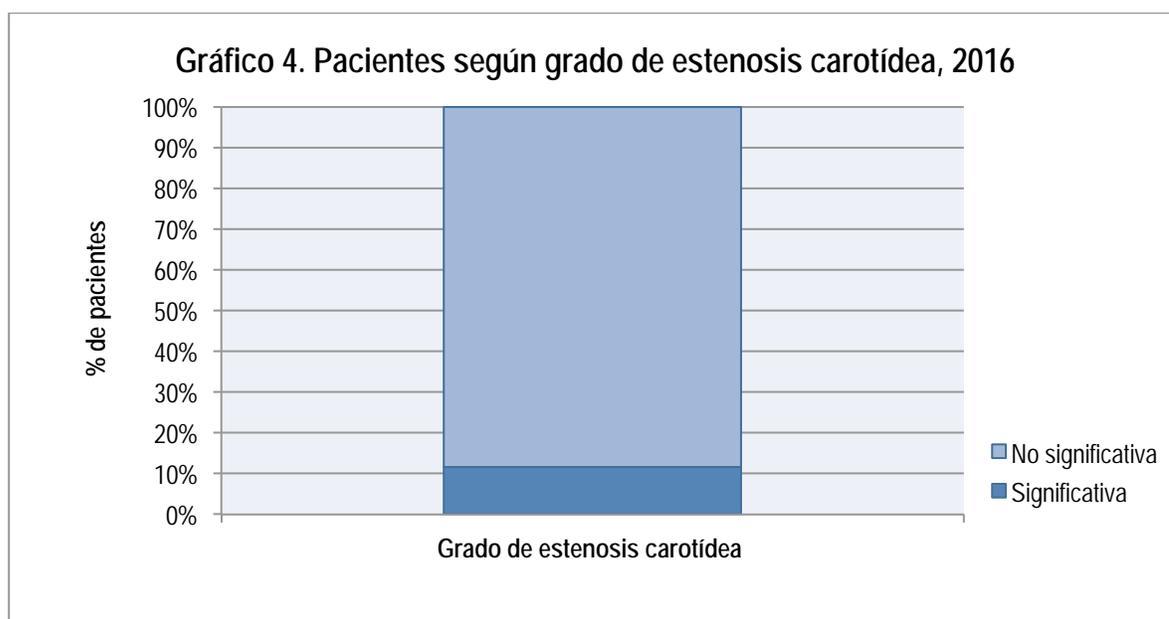


Después de esta caracterización del grupo de pacientes, se analizan los hallazgos ultrasonográficos doppler de vasos carotídeos realizado al grupo de pacientes. Del total de pacientes que eran 28, solo se les realizó el estudio doppler a 26 de ellos, debido a que dos pacientes nunca llegaron a realizarse el estudio ultrasonográfico. Ver Cuadro 3.

<b>Cuadro 3. Pacientes según grado de estenosis carotídea, 2016</b>		
<b>Grado de estenosis carotídea</b>	<b>N° de pacientes</b>	<b>%</b>
Significativa	3	12
No significativa	23	88
Total	26	100

Fuente: Propia

Del total de pacientes a los que se les realizó ultrasonido doppler de vasos de cuello, solo tres presentaron estenosis significativa. Lo que corresponde a un 10% del total de pacientes. Ver Gráfico 4.



## V – Discusión

Para caracterizar la población en estudio se utilizaron variables que ya están demostradas como factor de riesgo de la enfermedad aterosclerótica oclusiva carotídea. La población en estudio esta conformada por 28 pacientes, en su mayoría adultos mayores (el 71% mayores a 70 años). El 57% eran hombres, todos diabéticos e hipertensos, mas del 50% eran tabaquistas, dislipidémicos y un 12% tenían en antecedente de arteriopatía coronaria. Ya es conocido el efecto aterogénico de la diabetes, esta produce cambios en el perfil de lípidos, hay un aumento de los niveles de triglicéridos, una disminución del HDL, lo que nos sugiere que los pacientes diabéticos tienen una alta predisposición a ser dislipidémicos. (Dobs As, 1999). Igualmente la presencia de hipertensión, tabaquismo y enfermedad arterial coronaria son factores asociados que predisponen a la enfermedad aterosclerótica carotídea. Estos hallazgos se confirman con la caracterización de nuestra población.

En el caso del fumado ya es de amplio conocimiento que aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares y en este caso de enfermedad carotídea, hay una estrecha relación con el proceso de aterosclerosis, existiendo un desbalance en la hemostasis lo que predispone la formación trombos y un aumento entre la relación intima media carotídea, lo que se traduce en un aumento en la progresión aterosclerótica oclusiva. ( Csordos A, et al, 2013).

El grupo de pacientes se caracterizaba por ser diabéticos en un 100%, a pesar que la muestra es muy pequeña para realizar un análisis estadístico. Ya otros estudios han identificado la asociación de diabetes y la progresión de la enfermedad carotídea aterosclerótica (Vouillarmet J, et al, 2016).

El presente estudio es un plan piloto para iniciar un control mas estricto y vigilante del grupo de pacientes diabéticos. Con el objetivo de monitorizar el desarrollo de la enfermedad carotídea aterosclerótica oclusiva. Evitando el desarrollo de eventos cerebro vasculares, con todo lo que implica esta patología tanto para el paciente (produciendo diferentes grados de discapacidad, acortando los años de vida productiva) , como para los servicios de salud a los cuales se les genera un alto costo económico durante el tratamiento inicial y posterior tratamiento de rehabilitación.

## VI - Conclusiones

Ya en múltiples estudios con muestras grandes de pacientes se ha logrado demostrar la asociación de diabetes mellitus y enfermedad carotídea oclusiva. En el presente trabajo se realizó una caracterización de nuestra población diabética, sin embargo la muestra de pacientes en este caso es de tan solo 28 pacientes, lo cual desde el punto de vista estadístico no es significativo. Por lo cual no se aplicó ningún método estadístico. Sin embargo este estudio es un esfuerzo para caracterizar esta población. Existe la posibilidad de ir aumentando la cantidad de pacientes analizados con lo cual se podrían tener datos estadísticos más prometedores.

Se pretende realizar la identificación de la enfermedad carotídea en sus etapas iniciales, para evitar el avance acelerado de la enfermedad, tomar medidas preventivas y en el caso donde se identifiquen estenosis significativas, con placas ateroscleróticas de alto riesgo tomar medidas terapéuticas acertadas, donde se le podría ofrecer al paciente una terapia endovascular (stent carotídeo) o terapia quirúrgica abierta mediante una endarterectomía carotídea para así evitar la morbi-mortalidad generada por un evento cerebrovascular.

## VII - Bibliografía

- 1) Akimoto S, et al: Laminar shear stress inhibits vascular endothelial cell proliferation by inducing cyclin-dependent kinase inhibitor p21(Sdil/Cip/Waf1). *Circ Res* 86:185-190, 2000.
- 2) Mach F, et al: Functional CD40 ligand is expressed on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implications for CD40-CD40 ligand signaling in atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 1931-1936, 1997.
- 3) Nakashima Y, et al: Distributions of diffuse intimal thickening in human arteries: preferential expression in atherosclerosis-prone arteries from an early age. *Virchows Arch* 441: 279-288, 2002.
- 4) Quehenberger O: Thematic review series: the immune system and atherogenesis. Molecular mechanisms regulating monocyte recruitment in atherosclerosis. *J Lipid Res* 46: 1582-1590, 2005.
- 5) Análisis de Situación de Salud en Costa Rica, Ministerio de Salud, 2014
- 6) The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study: Design and Objectives, *Am J Epidemiol.* (1989) 129 (4): 687-702.
- 7) Ascher E, Veith F, Gloviczki P, et al, *Haimovici's Vascular Surgery*, 2012, pág 317-319.
- 8) Joannides R, et al: Nitric oxide is responsible for flow – dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation* 91: 1314-1319, 1995.
- 9) Nievelstein PF, et al: Lipid accumulation in rabbit aortic intima 2 hours after bolus infusion of low density lipoprotein. A deep-etch and immunolocalization study of ultrarapidly frozen tissue. *Arterioscler Thromb* 11:1795-1085,1991.
- 10) Tabas I, et al: Subendothelial lipoprotein retention as the initiating process in atherosclerosis: update and therapeutic implications. *Circulation* 116: 18832-1844, 2007.
- 11) Shalen k, et al: subendothelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis. *Nature* 417:750-754, 2002.
- 12) Burke AP, et al: Healed plaque ruptures and sudden coronary death: evidence that subclinical rupture has a role in plaque progression. *Circulation* 103: 934-940, 2001.
- 13) Fried LP, et al, The Cardiovascular Health Study: Design and rationale, *Ann Epidemiol* 1991 Feb; 1(3): 263-76.

- 14) Sacco RL, et al, Guidelines for prevention of stroke in patients with ischemic stroke or transient ischemic attack: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association Council on Stroke: co-sponsored by the Council on Cardiovascular Radiology and Intervention: the American Academy of Neurology affirms the value of this guideline. *Stroke* 2006; 37: 577-617
- 15) Smith NL, et al, Fasting and 2-hour postchallenge serum glucose measures and risk of incident cardiovascular events in the elderly: the Cardiovascular Health Study. *Arch Intern Med* 2002; 162:209-16
- 16) Wagenknecht LE, et al, Duration of diabetes and carotid Wall thickness. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Stroke* 1997; 28: 999-1005
- 17) Dobs As, Nieto FJ, Szklo M, Barnes R, Sharret AR, Ko WJ. Risk factors for popliteal and carotid Wall thicknesses in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Epidemiol* 1999; 150: 1055-67
- 18) Laakso M. Benefits of strict glucosa and blood pressure control in type 2 diabetes: lessons from the UK Prospective Diabetes Study. *Circulation* 1999; 99: 461-2
- 19) Li Y, et al: Platelet hyperactivity and abnormal Ca<sup>2</sup> homeostasis in diabetes mellitus. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 280(4): H1480-H1489, 2001.
- 20) Stein JH, et al, Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr* 2008; 21: 93-11
- 21) Toubol PJ, et al, Mannheim carotid intima-media thickness consensus, 2007
- 22) Nambi V, et al, Carotid intima-media thickness and presence or absence of plaque improves prediction of coronary heart disease risk: the ARIC ( Atherosclerosis Risk In Communities) study. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 1600-7
- 23) Rundek T, et al, Carotid plaque, a subclinical precursor of vascular events: the Northern Manhattan Study. *Neurology* 2008; 70: 1200-7
- 24) Csordos A. Bernhard D. The Biology Behind the Atherotrombotic Effects of Cigarette Smoke. *Nat Rev Cardiol*. 2013; 10 (4): 219-230.

- 25) Vouillemt, J; Helfre, M; Maueart-Bouloh, D; Riches,B; Thivolet, C; Grange, C. Carotid atherosclerosis progression and cardiovascular events in patients with diabetes. *Journal of Diabetes and its complications*. 2016; 30: 638-643.
- 26) Carlson BM: *Human embryology and developmental biology*, ed 4, Philadelphia, 2009, Elsevier.
- 27) Red-Horse K, Crawford Y, Shojaci F, Ferrara N: Endothelium microenvironment interactions in the developing embryo and in the adult. *Dev Cell* 12: 181-194, 2007.