

Expertos Invitados

GAMMAGRAFIA MIOCARDICA CON DOBLE ISOTOPO EN LA DETECCION DE HIPOPERFUSION REVERSIBLE

Columnista Experta de SIIC
Dra. Amalia Peix González



Especialista en Cardiología y Medicina Nuclear, Jefe de la Sección de Medicina Nuclear, Instituto de Cardiología y Cirugía Cardiovascular, La Habana, Cuba
en colaboración con

Ing. Adlin López Díaz, Lic. Felizardo Ponce Vicente, Dr. Raymid García Fernández, Téc. Ana María Maltas Pineda, Dr. David García Barreto (Sección de Medicina Nuclear, Instituto de Cardiología y Cirugía Cardiovascular) y **Dr. José D. Barrera Sarduy** (Departamento de Ergometría y Rehabilitación, Instituto de Cardiología y Cirugía Cardiovascular)

La Habana, Cuba (**especial para SIIC**)

La gammagrafía con técnica de doble isótopo ^{201}Tl en reposo / $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrofosmín en estrés es comparable con la gammagrafía con ^{201}Tl con protocolo estrés-redistribución para detectar hipoperfusión miocárdica reversible.

RESUMEN

La técnica de doble isótopo talio-201 (^{201}Tl) en reposo / tecnecio-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$)-sestamibi en estrés es útil para evaluar la perfusión miocárdica en pacientes con cardiopatía isquémica. Por otra parte, el $^{99\text{m}}\text{Tc}$ tetrofosmín es un radiofármaco con características similares al sestamibi, por lo que decidimos usarlo para detectar hipoperfusión miocárdica reversible en un grupo de pacientes con antecedentes de infarto del miocardio y manifestaciones de isquemia. Se incluyeron 20 pacientes con infarto del miocardio previo confirmado y signos clínicos y ergométricos de isquemia, a quienes se les hizo una gammagrafía miocárdica con técnica de doble isótopo (3 mCi de ^{201}Tl en reposo y 25 mCi de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ tetrofosmín en esfuerzo). A cada paciente se le hizo también una gammagrafía con ^{201}Tl y protocolo estrés / redistribución de 4 horas / redistribución de 24 horas. Cualitativamente no hubo diferencias significativas en el número de segmentos miocárdicos con severa disminución de la captación del trazador en estrés que mejoraron en las imágenes de reposo o en la redistribución, aun considerando la redistribución de 24 horas. Con el análisis cuantitativo global de la captación se encontró una reversibilidad similar del defecto con ambos protocolos, aunque si se consideraban las imágenes de redistribución de 24 horas, la mejoría de la captación fue significativa sólo comparando con las imágenes de ^{201}Tl en reposo en el protocolo con doble isótopo (75 ± 8% vs. 81 ± 9% de la actividad pico, reposo vs. redistribución de 24 horas; $p < 0.01$) y no con la redistribución de 4 horas en la gammagrafía con ^{201}Tl . Por otra parte, analizando sólo los segmentos con captación severamente disminuida (± 50% de la actividad pico), en ambos protocolos la redistribución de 24 horas mejoró la captación miocárdica significativamente ($p < 0.001$ vs. reposo y vs. redistribución de 4 horas). Concluimos que la gammagrafía con técnica de doble isótopo ^{201}Tl en reposo / $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrofosmín en estrés es comparable con la gammagrafía con ^{201}Tl con protocolo estrés-redistribución para detectar hipoperfusión miocárdica reversible; pero, en ambos casos, la adición de imágenes de redistribución de 24 horas incrementa su utilidad, principalmente en segmentos severamente hipoperfundidos, si se cuantifica la captación del radiofármaco.

Palabras clave: gammagrafía con doble isótopo, cardiopatía isquémica, compuestos marcados con tecnecio.

ABSTRACT

The dual-isotope technique. rest ^{201}Tl and stress $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi is useful to assess myocardial perfusion in coronary disease patients. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled tetrofosmin is a radiopharmaceutical whose characteristics are similar to sestamibi. Thus, we decided to use it to detect reversible myocardial hypoperfusion in patients with a background of myocardial infarction and ischemia. A dual-isotope scintigraphy (3 mCi rest ^{201}Tl and 25 mCi stress $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrofosmin) with 24-hour ^{201}Tl redistribution was performed in 20 patients with previously confirmed myocardial infarction and clinical and ergometric signs of ischemia. Each patient also underwent a stress / 4-hour redistribution / 24-hour redistribution ^{201}Tl scintigraphy. The qualitative uptake analysis showed no significant differences in the number of myocardial segments with severe reduction of tracer uptake on stress that improved at rest or in redistribution images, even if 24-hour redistribution images were considered. The quantitative global uptake analysis showed a similar defect reversibility with both protocols; however if 24-hour redistribution images were considered the uptake improvement was significant only when compared with the rest ^{201}Tl images in dual-isotope scintigraphy protocol (75 ? 8% vs. 81 ? 9% of peak activity, rest vs. 24-hour redistribution; p ? 0.01) and not when compared with the 4-hour redistribution in the ^{201}Tl scintigraphy. On the other hand, when only the segments with severely reduced uptake (? 50% of peak activity) were analyzed, the 24-hour redistribution improved myocardial uptake significantly (p ? 0.001 vs. rest and vs. 4-hour redistribution) in both protocols. We conclude that a dual-isotope rest ^{201}Tl / stress $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrofosmin scintigraphy is comparable with stress / redistribution ^{201}Tl scintigraphy to detect reversible myocardial hypoperfusion; however in both cases, the addition of 24-hour images increases its usefulness in severely hypoperfused segments, if the uptake of the radiopharmaceutical is quantified.

Key words: dual-isotope scintigraphy, coronary artery disease, technetium- labeled compounds.

GAMMAGRAFIA MIOCÁRDICA CON DOBLE ISÓTOPO (^{201}Tl EN REPOSO / $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -TETROFOSMIN EN ESFUERZO) EN LA DETECCIÓN DE HIPOPERFUSION REVERSIBLE

El protocolo de doble isótopo con talio-201 (^{201}Tl) y tecnecio-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) sestamibi aplicado a la gammagrafía de perfusión miocárdica constituye un método útil para evaluar pacientes con cardiopatía isquémica conocida o sospechada. Berman y cols. [1] lo introdujeron con el objetivo de reducir el tiempo del protocolo reposo/estrés con sestamibi, atendiendo fundamentalmente a la sensibilidad de la técnica para detectar cardiopatía isquémica, determinada principalmente por las imágenes de estrés [1-3].

Por otra parte, tanto las imágenes de reposo con compuestos marcados con tecnecio, como las imágenes de redistribución del ^{201}Tl , ya sea a las 4 horas [4] o a las 24 horas [5], son importantes para determinar la reversibilidad del defecto.

Siebelenk y cols. [6] demostraron que haciendo un análisis cuantitativo de la captación miocárdica con el empleo de una base de datos normal específica para cada radioisótopo, puede interpretarse adecuadamente la reversibilidad de los defectos con la técnica de doble isótopo.

En nuestro servicio empleamos el $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrofosmín, radiofármaco con características similares al sestamibi para la evaluación de la cardiopatía isquémica [7], como parte del protocolo de doble isótopo, con el propósito de determinar hipoperfusión reversible en un grupo de pacientes con infarto del miocardio previo y signos de isquemia por la clínica y la ergometría.

Se incluyeron 20 pacientes (16 hombres y 4 mujeres), con infarto del miocardio previo documentado y edad media de 57 ? 9 años que presentaban angor, episodios de angina estable clase II y signos eléctricos de isquemia en la ergometría. A cada uno se le realizó una gammagrafía secuencial con técnica de doble isótopo: ^{201}Tl en reposo (con inyección de 3 mCi) / $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrofosmín en esfuerzo (inyección de 25 mCi), con redistribución de ^{201}Tl de 24 horas, así como una gammagrafía con ^{201}Tl (inyección de 3 mCi), con protocolo esfuerzo / redistribución de 4 horas / redistribución de 24 horas, dentro de los 15 días posteriores al primer estudio.

En ambas gammagrafías se obtuvieron tres proyecciones planares en cada adquisición de imágenes: anterior, oblicua anterior izquierda (OAI) de 450 y lateral de 700. Estas fueron divididas en los siguientes segmentos:

- Anterior: anterolateral, inferior y apical
- OAI 450: septal, inferoapical y posterolateral
- Lateral 700: anterior, posterior y apical

Se hizo un análisis cualitativo y cuantitativo de la captación miocárdica. En cuanto al análisis cuantitativo, el segmento miocárdico con el mayor número de conteos se consideró como la región normal de referencia, expresándose la captación de cada radiofármaco en el resto de los segmentos de la proyección, en forma del porcentaje que representaba en relación con la actividad medida en la región de referencia. Un segmento se consideró anormal si la captación de ^{99m}Tc -tetrofosmín o de ^{201}Tl en estrés era ≥ 2 DE por debajo de la media observada en la misma región para sujetos normales. Los segmentos con captación anormal se clasificaron (sobre la base de la severidad en la reducción de la actividad del trazador) como: defectos moderados ($\geq 50\%$ de la actividad pico) y defectos severos ($\geq 50\%$ de la actividad pico). Un defecto de captación en estrés se consideró reversible si la actividad del trazador aumentó $\geq 10\%$ o más en las imágenes de ^{201}Tl en reposo (gammagrafía con doble isótopo), en las de redistribución de 4 horas (gammagrafía con ^{201}Tl) o en las de redistribución de 24 horas (en ambas gammagrafías); y se consideró irreversible si la actividad no aumentó $\geq 10\%$ o aumentó $\geq 10\%$ pero se mantuvo menor del 50% en las imágenes de ^{201}Tl en reposo, redistribución de 4 horas o redistribución de 24 horas.

En cuanto a los resultados obtenidos, no hubo diferencias significativas entre ambas gammagrafías en relación con las características del estrés (porcentaje de frecuencia cardíaca máxima alcanzada, carga máxima y tiempo de ejercicio realizado) ni en el número de pacientes que presentaron angina o infradesnivel del segmento ST durante el esfuerzo.

Se analizó un total de 120 segmentos. En las imágenes de ^{99m}Tc - tetrofosmín en estrés, 51 tuvieron captación normal del trazador, mientras que 69 mostraron captación disminuida. De estos 69 segmentos, el 29% mejoró en reposo; mientras que el 16% sólo lo hizo en las imágenes de redistribución de 24 horas. En las imágenes de ^{201}Tl en estrés, 55 segmentos tuvieron captación normal y 65 mostraron un defecto de perfusión. De estos 65 segmentos el 32% mejoró en las imágenes de redistribución de 4 horas y el 9% sólo lo hizo en las de redistribución de 24 horas. Las diferencias entre ambas gammagrafías no fueron significativas (figura 1).

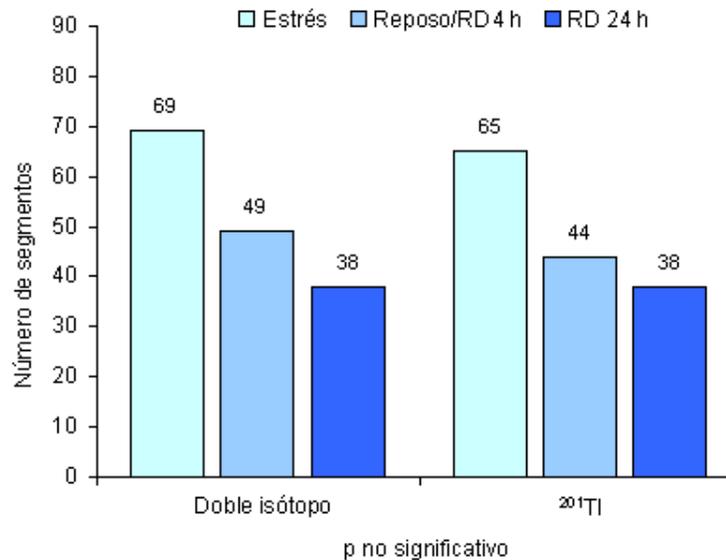


Figura 1. Análisis cualitativo de la captación miocárdica (referido al número de segmentos hipoperfundidos). Comparación entre la gammagrafía con doble isótopo (primera mitad de la figura) y la gammagrafía con ^{201}Tl (segunda mitad). Las barras de color celeste claro corresponden a las imágenes de estrés; las barras celestes a las de reposo (con doble isótopo) o a las de RD de 4 horas (con ^{201}Tl) y las barras azules a las imágenes de RD de 24 horas. Nótese que no hay diferencia significativa entre ambas gammagrafías. RD: redistribución.

La figura 2 muestra la comparación del análisis cuantitativo de la captación miocárdica global entre ambas gammagrafías.

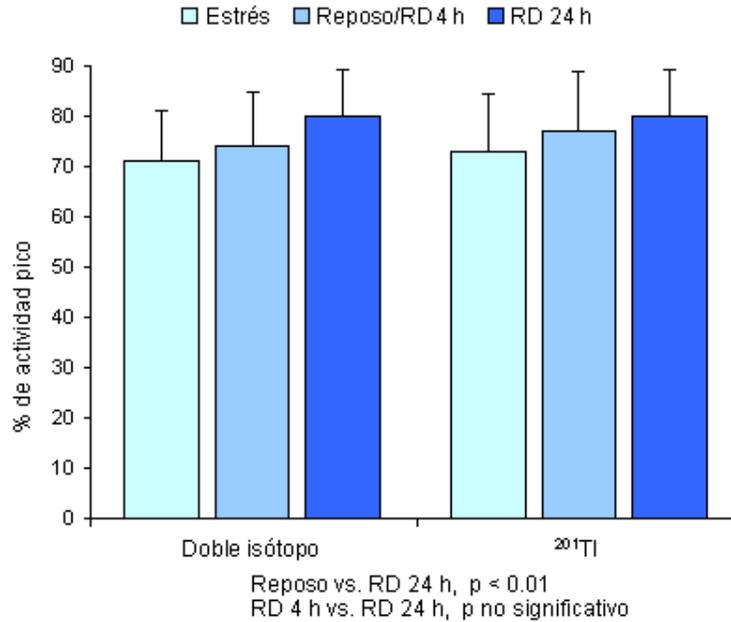


Figura 2. Análisis cuantitativo de la captación miocárdica global. Comparación entre la gammagrafía con doble isótopo (primera mitad de la figura) y la gammagrafía con ²⁰¹Tl (segunda mitad). Las barras de color celeste claro corresponden a las imágenes de estrés; las barras celestes a las de reposo (con doble isótopo) o a las de RD de 4 horas (con ²⁰¹Tl) y las barras azules a las imágenes de RD de 24 horas. Nótese que sólo hay diferencia significativa entre las captaciones en reposo y en RD de 24 horas. RD: redistribución.

No hubo diferencias significativas entre ambas en estrés ni entre las imágenes de redistribución de 4 y de 24 horas en la gammagrafía con ²⁰¹Tl ($79 \pm 9\%$ vs. $81 \pm 9\%$ de la actividad pico). Sin embargo, la captación miocárdica global mejoró significativamente en las imágenes de redistribución de 24 horas comparadas con las del reposo: $75 \pm 8\%$ (en reposo) vs. $81 \pm 9\%$ (en la redistribución de 24 horas), $p \pm 0.01$, en la gammagrafía con doble isótopo.

Considerando sólo los segmentos con captación severamente disminuida (figura 3), hubo una diferencia significativa en la captación del trazador entre las imágenes en reposo y las de redistribución de 24 horas ($33 \pm 19\%$ vs. $49 \pm 26\%$ de la actividad pico, $p \pm 0.001$) y entre las de redistribución de 4 y de 24 horas ($26 \pm 14\%$ vs. $49 \pm 26\%$ de la actividad pico, $p \pm 0.001$).

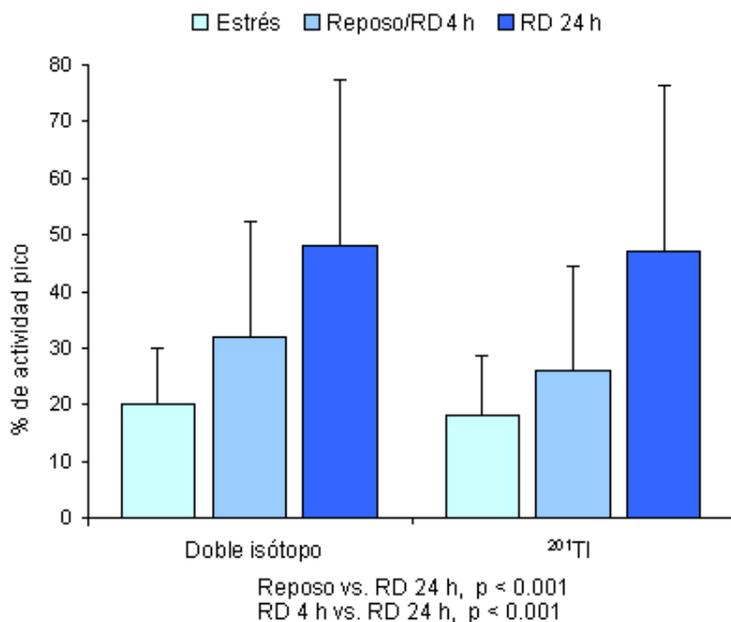


Figura 3. Análisis cuantitativo en la captación en segmentos severamente hipoperfundidos

Comparación entre la gammagrafía con doble isótopo (primera mitad de la figura) y la gammagrafía con ^{201}Tl (segunda mitad). Las barras de color celeste claro corresponden a las imágenes de estrés; las barras celestes a las de reposo (con doble isótopo) o a las de RD de 4 horas (con ^{201}Tl) y las barras azules a las imágenes de RD de 24 horas. RD: redistribución.

De acuerdo con Berman y cols. [1], considerando una reducción mayor o igual al 70% del diámetro de la luz de la arteria coronaria como criterio para la detección de cardiopatía isquémica, la técnica de doble isótopo mostró una sensibilidad del 96% y una especificidad del 82%; mientras que el grado de reversibilidad del defecto fue comparable para la gammagrafía con doble isótopo (^{201}Tl en reposo / $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi en estrés) y la gammagrafía SPECT (siglas en inglés, correspondientes a tomografía de emisión de fotón único) estándar con sestamibi, en protocolo reposo-estrés [1,8,9]. Heo y cols. [2] obtuvieron valores inferiores de sensibilidad y especificidad, pero consideraron que esto era debido al hecho de que fueron incluidos en el estudio muchos pacientes con estenosis coronaria ligera. Por su parte, Fukuzawa y cols. [10] encontraron que todos los pacientes con defectos reversibles en la gammagrafía con doble isótopo (^{201}Tl en reposo / $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrofosmín en estrés) mostraron una mejoría significativa de la motilidad parietal tras la revascularización.

En este sentido, nosotros obtuvimos también una buena concordancia comparando la gammagrafía con protocolo de doble isótopo (^{201}Tl en reposo / $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrofosmín en estrés) con la gammagrafía de ^{201}Tl con protocolo estrés/redistribución de 4 horas para la detección de hipoperfusión reversible, empleando el análisis cualitativo y cuantitativo de la perfusión miocárdica.

La adquisición de imágenes de redistribución de 24 horas incrementa la posibilidad de detectar hipoperfusión reversible y, aunque la gammagrafía con ^{201}Tl es en general el procedimiento de elección si el propósito del estudio es detectar viabilidad, las imágenes de redistribución de ^{201}Tl de 24 horas pueden usarse para determinar isquemia y, por tanto, zonas viables, incluso con el protocolo de doble isótopo [2]. Kiat y cols [11] demostraron que la incorporación de las imágenes de redistribución de ^{201}Tl de 24 horas al protocolo de adquisición separada con doble isótopo (usando sestamibi) identifica un 17% adicional de pacientes y un 12% más de territorios coronarios con defectos reversibles que no podrían ser detectados por gammagrafía reposo/esfuerzo únicamente.

En relación con esto, cuando consideramos la captación miocárdica global hubo una mejoría significativa comparando las imágenes de ^{201}Tl en reposo con las de redistribución de 24 horas (con la técnica de doble isótopo); pero no al comparar la redistribución de 4 horas con la de 24 horas (con la gammagrafía con ^{201}Tl). Una explicación puede ser que, debido a las diferencias en los niveles de energía del ^{201}Tl y del $^{99\text{m}}\text{Tc}$, hay también diferencias en la atenuación y en la dispersión, lo cual puede afectar la severidad y la reversibilidad, pero no necesariamente la detección de los defectos de perfusión con el protocolo de doble isótopo [2]. Por ello, en nuestros casos, aunque no hubo una diferencia significativa, se observó una tendencia ($p = 0.05$) a una mayor captación del trazador en las imágenes de redistribución de 4 horas en relación con las de ^{201}Tl en reposo al comparar ambas gammagrafías.

Si se consideran únicamente aquellos segmentos con severa reducción de la captación miocárdica del trazador, la adquisición de imágenes de redistribución de 24 horas fue útil para detectar hipoperfusión reversible en ambas gammagrafías. Esto se explica porque la isquemia severa demora más en desaparecer y por tanto es más difícil detectarla si sólo se comparan las imágenes en estrés con las de reposo o las de redistribución de 4 horas, según el protocolo empleado.

La mayor ventaja de la técnica de imagen con doble isótopo es una menor duración del estudio que con el protocolo convencional reposo/esfuerzo usando compuestos marcados con tecnecio-99m, donde el intervalo entre los procedimientos de reposo y estrés es generalmente de 3 a 4 horas.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

- Se empleó la técnica de imágenes planares, que si bien ofrece mayor especificidad para el diagnóstico de cardiopatía isquémica que la técnica SPECT, es inferior en cuanto a su sensibilidad. No obstante, consideramos que puede ser una opción aun válida en los casos en que no se dispone de cámara gamma SPECT.
- La no inclusión en el protocolo de la realización de un estudio angiográfico, lo que habría incrementado el valor del trabajo al permitir correlacionar los defectos de perfusión por territorios con los resultados de la coronariografía.

Consideramos que la gammagrafía con doble isótopo ^{201}Tl en reposo / $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrofosmín en estrés es comparable con la gammagrafía con ^{201}Tl con protocolo estrés / redistribución para detectar hipoperfusión miocárdica reversible; pero, en ambos casos, la adición de las imágenes de redistribución de 24 horas incrementa su utilidad, principalmente si se considera el análisis cuantitativo de la captación en segmentos severamente hipoperfundidos.

ACTUALIZACION DEL TEMA

La técnica de doble isótopo continúa siendo una alternativa útil para la gammagrafía de perfusión miocárdica, tanto desde el punto de vista del pronóstico en la cardiopatía isquémica [12-14], como de la determinación de zonas de miocardio viable [15-19] o de su contribución al diagnóstico de la enfermedad [20]. En el primer caso, Hachamovitch y cols. [12] encontraron que un resultado normal estuvo asociado con una muy baja tasa de eventos «duros» (0.4% por año), que aumentaba significativamente en función del resultado del SPECT, por lo que concluían que este estudio incrementa el valor pronóstico y contribuye a una mejor estratificación de riesgo en pacientes con electrocardiograma normal, con un adecuada balanza de costos.

Por otra parte, Amanullah y cols. [14] demostraron que es igualmente útil en la estratificación pronóstica en pacientes con hipertrofia de ventrículo izquierdo, en quienes hallaron que aquellos con gammagrafía normal tuvieron una reducida tasa de infarto miocárdico no fatal y muerte cardíaca (menor de 1% por año de seguimiento); mientras que la tasa de eventos cardíacos aumentaba significativamente en función del resultado de la gammagrafía: 4.9% en pacientes con resultados ligeramente anormales y 10.3% en aquellos con resultados moderada a severamente anormales.

En cuanto al diagnóstico de la cardiopatía isquémica, un trabajo relativamente reciente [20] retoma el viejo dilema de si el supradesnivel del segmento ST representa la existencia de una zona aneurismática o es simplemente isquemia. Personalmente, esta última alternativa nos parece muy atractiva, sobre todo si se considera el supradesnivel del ST que aparece en el curso del esfuerzo. Kang y cols. [20] encontraron que el sitio del máximo infradesnivel del ST durante el esfuerzo no identifica con certeza la localización de los defectos de perfusión miocárdica; mientras que cuando el supradesnivel del ST fue mayor en las derivaciones anteriores, el 96% de los pacientes mostraron defectos de perfusión en el territorio de la arteria descendente anterior.

Cuando fue más marcado en las derivaciones inferiores, el 100% de los casos tenía defectos de perfusión en el territorio de la coronaria derecha.

Referente a la determinación de miocardio viable, Paeng y cols. [15] consideran que para optimizar el uso del estudio de ^{201}Tl reposo/redistribución en el SPECT con doble isótopo (^{201}Tl / $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi), es importante tener en cuenta el grado de reserva de perfusión existente, la cual obtienen mediante el score de la diferencia de perfusión: perfusión en reposo – perfusión en estrés. Un score bajo representa isquemia ligera o no inducible; mientras que un score elevado indica isquemia inducible. En general obtuvieron que la redistribución de 24 horas del ^{201}Tl tiene una capacidad predictora de viabilidad significativamente mejor en los casos con bajo score, es decir, con miocardio disfuncionante con defectos de perfusión persistentes. Esto es útil para el manejo de los pacientes previo a la revascularización, pues es precisamente en los casos con defectos severos de perfusión y poco cambio de la perfusión en el protocolo reposo/esfuerzo donde interesa estar realmente seguro de si existe o no tejido viable antes de decidir un proceder terapéutico invasivo.

En general, nosotros consideramos que la adición de imágenes de redistribución tardía de ^{201}Tl es importante si el objetivo del estudio es la detección de miocardio viable.

El *gated*-SPECT es aplicable también al protocolo con doble isótopo [17-19], tanto con el empleo de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi como de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetrofosmín, lo que permite, al tener en cuenta el aporte simultáneo de perfusión y función y el análisis del engrosamiento sistólico de pared, mejorar la detección de miocardio viable y contribuir a obtener resultados de mayor sensibilidad diagnóstica al descartar defectos de atenuación como los que pueden aparecer debido a la mama en el segmento anterior en el caso de las mujeres, o por atenuación diafragmática en la pared inferior en los hombres.

Para conducir, un interesante trabajo de Narula y cols. [19] señala que es posible evaluar perfusión, función ventricular y reserva contráctil sin emplear la ecocardiografía si se aplica un protocolo *gated*-SPECT con ^{201}Tl reposo / redistribución de 4 horas y $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi con dobutamina. Las imágenes de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi fueron adquiridas una hora luego de infusión de la máxima dosis de dobutamina y nuevamente durante la infusión de dobutamina a baja dosis para evaluar reserva contráctil. De esta forma pudieron clasificar los segmentos miocárdicos en hibernados, atónitos, remodelados y necróticos; mientras que observaron reserva contráctil, representada por la mejoría en el movimiento

de pared / engrosamiento con la dobutamina a baja dosis, en el 83% de los segmentos atónitos, 59% de los hibernados, 35% de los remodelados y 13% de los necróticos.

CONCLUSION

En resumen, consideramos que el protocolo con doble isótopo conserva su lugar en la cardiología nuclear actual, ya que permite, en un solo estudio y sobre todo si se aplica el *gated*-SPECT, combinar las ventajas del talio-201 y de los compuestos marcados con tecnecio-99m para la detección de viabilidad miocárdica y para la evaluación pronóstica de pacientes con cardiopatía isquémica.

BIBLIOGRAFIA

1. Berman DS, Kiat H, Friedman JD. Separate acquisition rest thallium/stress 99mTc- sestamibi dual-isotope myocardial perfusion single-photon emission computed tomography: a clinical validation study. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:1455
2. Heo J, Wolmer I, Kegel J, Iskandrian AS. Sequential dual-isotope SPECT imaging with thallium and 99mTc-sestamibi. *J Nucl Cardiol* 1994;35:549
3. Kiat H, Germano G, Friedman J, Van Train K, Silagan G, Wang FP, et al. Comparative feasibility of separate and simultaneous rest thallium/stress 99mTc-sestamibi dual-isotope myocardial perfusion SPECT. *J Nucl Med* 1994;35:542
4. Gabain M, Guedira S, Bontemps L, Itti R, Benoit T, Rigo P. Quantification of defect size and severity in a three-step myocardial imaging protocol (abstract). *J Nucl Cardiol* 1997 (Suppl);4:109S
5. Alexanderson E, Puente A, Ancona V, Victoria D, Bialostozky D, Arroyo A. Reverse redistribution of stress 99mTc-sestamibi in dual isotope myocardial perfusion SPECT as a marker of myocardial viability. *J Nucl Cardiol* 1997 (Suppl);4:105S
6. Siebelink HM, Natale D, Sinusas AJ, Wackers FJ. Quantitative comparison of single-isotope and dual-isotope stress-rest single-photon emission computed tomographic imaging for reversibility of defects. *J Nucl Cardiol* 1996;3:483
7. Braat SH, Leclercq B, Itti R, Lahiri A, Sridhara B, Rigo P. Myocardial imaging with 99mTc-tetrofosmin: Comparison of one-day and two-days protocols. *J Nucl Med* 1994;35:1581
8. Matzer L, Kiat H, Chen M. Comparison of separate acquisition dual-isotope SPECT including late redistribution imaging with rest/stress Tc-sestamibi SPECT for rest defect size and reversibility pattern (abstract). *Circulation* 1992;86:505
9. Alexanderson E, Varguez V, Bialostozky D, Arroyo A, Alexanderson G, Victoria D. Simultaneous assessment of perfusion and myocardial viability with dual isotope studies (thallium at rest and sestamibi in exercise). Initial experience in Mexico and Latin America. *Arch Inst Cardiol Mex* 1997;67:106
10. Fukuzawa S, Inagaki M, Morooka S, Inoue T, Matsumoto Y, Yokohama K, et al. Evaluation of myocardial viability using sequential dual-isotope single photon emission tomography imaging with rest 201Tl/stress 99mTc-tetrofosmin in the prediction of wall motion recovery after revascularization. *Jpn Circ J* 1997;61:481
11. Kiat H, Biasio Y, Wang FP. Frequency of reversible resting hypoperfusion in patients undergoing rest 201Tl/stress 99mTc-sestamibi separate acquisition dual-isotope myocardial perfusion SPECT (abstract). *J Am Coll Cardiol* 1993;21:222A
12. Hachamovitch R, Berman DS, Kiat H, Cohen I, Friedman JD, Shaw LJ. Value of stress myocardial perfusion single photon emission computed tomography in patients with normal resting electrocardiograms: an evaluation of incremental prognostic value and cost-effectiveness. *Circulation* 2002;105:823
13. Groutars RG, Verzijlbergen JF, Zwinderman AH, Tie-Van Buul MM, Ascoop CA, van Hemel NM, et al. Incremental prognostic value of myocardial SPECT with dual- isotope rest (201)Tl / stress (99m)Tc-tetrofosmin. *Eur J Nucl Med* 2002;29:46
14. Amanullah AM, Berman DS, Kang X, Cohen I, Germano G, Friedman JD. Enhanced prognostic stratification of patients with left ventricular hypertrophy with the use of single- photon emission computed tomography. *Am Heart J* 2000;140:456
15. Paeng JC, Lee DS, Cheon GJ, Kim KB, Yeo JS, Chung JK, et al. Consideration of perfusion reserve in viability assessment by myocardial Tl-201 rest-redistribution SPECT: A quantitative study with dual-isotope SPECT. *J Nucl Cardiol* 2002;9:68
16. Matsuno K, Kuwabara Y, Watanabe S, Kuroda T, Mikami Y, Fujii K, et al. Detection of myocardial viability using rest-redistribution thallium-201 imaging in a stress 99mTc- tetrofosmin / rest thallium-201 dual-isotope protocol. *Nucl Med Commun* 2001;22:165
17. Puente A, Alexanderson E, Arroyo A, Lorenzo A, Victoria D. Simultaneous assessment of myocardial perfusion and ventricular function using thallium-201 at rest / Tc-99m tetrofosmin at effort with single-photon emission computerized tomography, synchronized with electrocardiogram (synchronized SPECT). Initial experience in Latin America. *Arch Inst Cardiol Mex* 2000;70:448
18. Kumita S, Cho K, Nakajo H, Toba M, Kijima T, Mizimura S, et al. Serial assessment of left ventricular function during dobutamine stress by means of electrocardiography- gated myocardial SPECT: combination with dual-isotope myocardial perfusion SPECT for detection of ischemic heart disease. *J Nucl Cardiol* 2001;8:152

19. Narula J, Dawson MS, Singh BK, Amanullah A, Acio ER, Chaudhry FA, et al. Noninvasive characterization of stunned, hibernating, remodeled and nonviable myocardium in ischemic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:1913
20. Kang X, Berman DS, Lewin HC, Miranda R, Agafitei R, Cohen I, et al. Comparative localization of myocardial ischemia by exercise electrocardiography and myocardial perfusion SPECT. *J Nucl Cardiol* 2000;7:140

RESISTENCIA A LA INSULINA, DIABETES MELLITUS E INFLAMACION: SU ASOCIACION CON LA ENFERMEDAD VASCULAR



Joshua Barzilay
Columnista Experto de SIIC

Institucion:
Kaiser Permanente of Georgia and Emory University School of Medicine, Tucker, Georgia, EE.UU.

Hacia fines de la década del noventa surgió un nuevo paradigma para la comprensión de la diabetes mellitus (DM) y de la resistencia a la insulina (RI). Este modelo considera ambos estados como situaciones inflamatorias. Además, ofrece un nuevo marco para explicar la fuerte asociación de la DM y la RI con la enfermedad vascular, con lo cual se abre la posibilidad de generar nuevas opciones de tratamiento.

Esta revisión se divide en tres partes. Primero, describiré los estudios que llevan a la idea de que la DM y la RI son patologías inflamatorias. En segundo lugar analizaré como la inflamación relaciona la DM, la RI, la arteriosclerosis y la enfermedad microvascular.

Comento además, el papel de la dieta occidental como posible causa de inflamación. Por último, discuto las consecuencias de este nuevo modelo en el tratamiento de la enfermedad.

Diabetes como una enfermedad inflamatoria

En la década del ochenta se reconoció que la arteriosclerosis es un proceso inflamatorio y que el endotelio interviene en forma crucial en este estado.^{1,2} En general, el endotelio participa en forma central en la homeostasis vascular³ a través de varios mecanismos. Primero, libera factores vasodilatadores y vasoconstrictores con la finalidad de mantener el tono vascular y la fluidez de la sangre. El óxido nítrico (NO) es uno de los vasodilatadores más importantes, liberado por el endotelio. El endotelio también regula la homeostasis mediante su participación en la trombosis y fibrinólisis. Finalmente, el endotelio interviene activamente en la inflamación. Recluta glóbulos blancos en los sitios de lesión mediante la producción de moléculas de adhesión que permiten que dichas células se adhieran a su superficie y por la secreción de citoquinas. La disfunción del endotelio (DE) surge como consecuencia de un estado de desequilibrio entre estas múltiples funciones. La DE se asocia con vasoconstricción, adherencia de leucocitos, activación de plaquetas, trombosis, alteración de la coagulación e inflamación vascular. La infiltración de monocitos y macrófagos en la íntima y media origina las primeras lesiones en el proceso de la aterosclerosis. La liberación sostenida de factores de crecimiento y de marcadores de inflamación juega un papel muy importante en el desarrollo y ruptura de las placas de aterosclerosis.

Coincidentemente con la idea de que la aterosclerosis es un proceso inflamatorio, en la década del noventa se descubrieron otros hechos importantes. En primer lugar, se comprendió que la obesidad, especialmente la adiposidad central abdominal, se asocia con la secreción de citoquinas inflamatorias y proteínas,⁴⁻⁶ entre ellas el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la leptina, la adiponectina y la interleuquina (IL) 6.

En respuesta a niveles altos de IL-6 se estimula la expresión del gen de la proteína C reactiva (PCR). La PCR es miembro de una familia de proteínas denominadas reactantes de fase aguda, cuyos niveles aumentan en respuesta a la inflamación. En segundo lugar, se hizo evidente que los factores de la coagulación tienen participación importante en la respuesta inflamatoria^{7,8} y que dichos factores también son reactantes de fase aguda. Finalmente, la investigación experimental demostró que las citoquinas afectan la sensibilidad a la insulina. Por ejemplo, el TNF- α genera un estado de RI al reducir la autofosforilación del receptor de insulina y los transportadores GLUT-4 en las células musculares, con lo cual se compromete la captación de glucosa por estas células.⁹⁻¹³ En virtud de toda esta nueva información, fue lógico preguntarse por ese entonces si la DM también se asociaría con inflamación. La mayoría de los pacientes adultos con DM tiene sobrepeso, muchos tienen

elevación de los factores de coagulación y muchos presentarán o tienen aterosclerosis. Además, la mayor parte de los adultos con diabetes tiene, por definición, RI. John Pickup (en Londres, Reino Unido) fue el primero en evaluar la asociación entre la DM y la inflamación. Demostró que los individuos con RI tienen niveles altos de proteínas inflamatorias respecto de los sujetos sin RI. La diferencia es aún más notoria en pacientes con enfermedad cardiovascular.^{14,15} Luego de las observaciones del doctor Pickup, varios grupos de investigación expandieron los hallazgos iniciales. No tardó en demostrarse que los enfermos con IR/DM tenían alta concentración de PCR,^{16,17} del inhibidor-1 del activador de plasminógeno,^{18,19} de factor VII¹⁸ así como también mayor recuento de leucocitos^{20,21} y nivel elevado de TNF- α ^{22,23} en comparación con los enfermos sin RI/DM. Los estudios en parientes de pacientes diabéticos sin diabetes también revelaron mayor nivel de factores inflamatorios respecto de los sujetos sin parientes diabéticos.^{18,23} En forma global, estos resultados sugieren que los individuos con diabetes y con RI tienen niveles de proteínas inflamatorias en sangre por encima de lo normal.

La prueba más firme de la asociación entre DM, RI e inflamación surgió, sin embargo, a partir de estudios prospectivos. El primero de ellos, Atherosclerosis Risk in Community Study, en 1999,²⁴ mostró que el riesgo de DM al cabo de 7 años de seguimiento era el doble en pacientes con mayor número de leucocitos respecto de individuos con bajo recuento de glóbulos blancos. Un estudio en mujeres reveló que la incidencia de DM podía anticiparse por los niveles de PCR y de IL-6.²⁵ Por su parte, un estudio de mi autoría, en adultos de 65 años o más, demostró que la PCR predecía la incidencia de DM.²⁶ Desde entonces se publicaron otros estudios adicionales que mostraron que los niveles de marcadores inflamatorios, tales como el recuento de glóbulos blancos, PAI-1, PCR y gammaglobulinas, predicen DM.²⁷⁻³⁶ Esta relación se observa en personas jóvenes y de mayor edad, en sujetos no blancos, en americanos, europeos y mejicanos. Los hallazgos sugieren firmemente que la inflamación interviene en forma crucial en la patogénesis de la DM.

Resistencia a la insulina, diabetes mellitus, inflamación y enfermedad vascular

Una vez establecido que la RI/DM tiene un componente inflamatorio surgió el interrogante acerca del papel de la inflamación en las complicaciones de la DM y, en particular, acerca de su participación en la aparición de DE y la posibilidad de que la inflamación sea el factor de conexión entre estos estados. El primero en sugerir que esto realmente era así fue John Yudkin (Londres, Reino Unido), quien encontró niveles altos de PAI-1, un marcador de DE, en personas con DM respecto de aquellas sin DM.^{37,38} Un trabajo posterior reveló que otros marcadores de DE, como la fibronectina y el factor von Willebrand, se relacionan con mediciones de RI.³⁹ En otras palabras, la RI y los indicadores de DE aparecen agrupados.

Varios estudios posteriores evaluaron la relación entre la RI y la DE. En una investigación en adultos sanos sin DM o hipertensión, Gerald Reaven (de la Universidad de Stanford) demostró que el nivel de moléculas de adhesión solubles -un marcador de DE- está aumentado en relación directa con la RI.⁴⁰ Luego mostró que la concentración de dimetilarginina asimétrica (ADMA) -un inhibidor de la sintetasa de NO (NOS)- se correlaciona con la RI.⁴¹ La ADMA disminuye la actividad de la NOS endotelial y, en definitiva, es causa de alteración de la vasodilatación. En un trabajo con individuos de edad avanzada sin DM conocida, la mayor concentración de insulina (marcador de RI) se asoció con el nivel de la forma soluble de la molécula de adhesión intercelular.⁴²

Un mecanismo por el cual la RI puede iniciar o aumentar la DE es mediante la PCR. Cuando las partículas de colesterol asociado con lipoproteínas de baja densidad (LDLc) son opsonizadas por la PCR, son mejor captadas por los macrófagos, que se transforman en células espumosas en el espacio subendotelial.⁴³ Las partículas de LDLc aumentan las proteínas que inducen mayor producción de ADMA.⁴⁴ La PCR también estimula a los macrófagos para producir factor tisular y activar el complemento en las placas de ateroma.⁴⁵ Finalmente, la PCR aumenta la producción de moléculas de adhesión por parte de las células endoteliales, fenómeno que contribuye con la mayor adhesión de los leucocitos a las paredes de los vasos.⁴⁶

Un segundo mecanismo por el cual la RI puede ocasionar DE es a través de la liberación de ácidos grasos proinflamatorios a partir del tejido adiposo. Los individuos con RI tienen elevación sanguínea de ácidos grasos libres.⁴⁷ Estos activan la proteínquinasa C, que inhibe la producción de la fosfatidilinositol-3-quinasa.⁴⁸ La última está involucrada en la producción de NOS.

En un tercer mecanismo intervendría la mayor producción de radicales libres. Los radicales libres, moléculas con electrones no apareados, son útiles en muchos procesos celulares que generan energía y nos protegen al atacar virus y bacterias. Cuando se producen en exceso, estos radicales libres secuestran electrones (u oxidan) y dañan las proteínas, grasas y ADN, con lo cual ocasionan lesión celular. Los radicales libres oxidan las partículas de LDLc y las tornan tóxicas para el endotelio. El endotelio es especialmente vulnerable, ya que está en contacto con la sangre y los tejidos y porque tiene contacto directo con los radicales libres circulantes. Diversos estudios muestran que las

personas con RI y DM tienen radicales libres en exceso y deficiencia de antioxidantes. El grupo de Gerald Reaven estableció que los individuos no diabéticos con RI tienen mayor oxidación y que este fenómeno se relaciona con el riesgo de adquirir DM. 49

Hasta aquí he analizado la asociación de inflamación y enfermedad de grandes vasos en pacientes con RI/DM. ¿Qué pasa a nivel de la microvasculatura? Un análisis preliminar del Cardiovascular Health Study (aún no publicado) muestra que la microalbuminuria (MAL) -pasaje de pequeñas cantidades de proteínas en orina- se relaciona con marcadores de inflamación. En participantes con DM, un nivel alto de leucocitos se asocia con MAL. Por su parte, en pacientes sin diabetes y sin hipertensión, la MAL se asocia con la concentración de PCR. Estos hallazgos sugieren que la MAL (un estado que se asocia con mayor riesgo de enfermedad coronaria) es una situación inflamatoria, por un mecanismo incierto. Una posibilidad es que la inflamación induzca la producción de IL-6 por el endotelio que, en definitiva, conduce a cambios en la organización de la matriz extracelular del subendotelio e hiperpermeabilidad. 50

Estilo de vida: dieta y ejercicio

Hasta ahora se ha discutido la interacción entre inflamación, RI/DM y enfermedad vascular.

Sin embargo, no se analizó el origen de la inflamación. ¿Es la inflamación consecuencia de la obesidad que se asocia con RI/DM o se produce por la aterosclerosis que luego exacerba la RI? Una tercera posibilidad es que exista otro factor común a la RI/DM y la aterosclerosis.

No hay por el momento respuestas categóricas para estos interrogantes. En cualquier modelo existe una asociación bidireccional entre la RI/DM y la aterosclerosis. Sin embargo, cada vez hay más evidencia de que otro factor, común a ambos estados, también interviene de manera importante. Este factor es el estilo de vida occidental, caracterizado por escasa actividad física y una dieta con elevada cantidad de grasas y calorías.

Este estilo de vida es responsable del incremento de la circunferencia de la cintura en países en desarrollo y desarrollados y, en consecuencia, del aumento de la prevalencia de RI/DM.

Asimismo, explican el incremento en la frecuencia de enfermedad cardiovascular. Este es un tema amplio; comentaré aquellos aspectos más importantes que tienen participación decisiva en inflamación, RI y DM.

En relación con la alimentación, los individuos que consumen la dieta occidental, que incluye carnes rojas y procesadas, productos lácteos con gran cantidad de grasa, frituras y granos refinados, dulces, postres, bebidas con un elevado contenido en azúcar y otros carbohidratos que se absorben rápidamente y que tienen un elevado índice glucémico (rápidamente absorbidos y digeridos), tienen mucho más riesgo de presentar RI/DM en comparación con quienes ingieren vegetales, pescado y ave, más fibra, más proteína y carbohidratos de absorción más lenta, menos refinados y con bajo índice glucémico.

51 Una explicación para esta diferencia es que la dieta occidental se asocia con inflamación. Por ejemplo, Jarvi y colaboradores, en un estudio aleatorizado transversal en pacientes con diabetes tipo 2, compararon dietas con diferente índice glucémico (IG) durante dos períodos consecutivos de 24 días. 52 La composición de los macronutrientes y el tipo y cantidad de fibra de la dieta fueron idénticos. Durante el estudio los participantes llevaron libremente su estilo de vida. Las dietas sólo diferían en el IG, el cual era moderado. Luego de 24 días, la actividad del inhibidor 1 del activador del plasminógeno (PAI-1) se normalizó en los individuos que ingirieron una dieta con bajo IG pero se mantuvo sin cambios en los sujetos con un IG elevado. La concentración plasmática de glucosa e insulina descendió en 30% en los sujetos que ingirieron la dieta con un bajo IG. Otra investigación en adultos de mediana edad mostró que la alimentación con elevado IG se asocia con elevación del nivel sérico de PCR. 53

La prevalencia aumentada de RI/DM es paralela a los cambios en el tipo de ácidos grasos consumidos. 54,55 El mayor consumo de ácidos grasos n-6 (como grasa de pescado, carne de caza y hojas) fue reemplazado por el consumo de aceites de semillas ricas en ácido linoleico. Las modificaciones en la ganadería y en la crianza de aves también alteró el contenido de n-6 de las proteínas animales consumidas. 56 Este desequilibrio se asocia con elevado contenido de eicosanoides derivados del ácido araquidónico (AA), como tromboxano A₂ y leucotrienos, y con la producción de mediadores inflamatorios como citoquinas e interleuquinas. 57,58

La falta de ejercicio se asocia con mayor depósito de grasa visceral,⁵⁹ la cual se asocia con mayor producción de IL-6 y TNF- α , reguladores claves de la respuesta inflamatoria. Los luchadores japoneses son un buen ejemplo de cómo el ejercicio puede compensar los efectos dañinos de la obesidad. Los luchadores competitivos tienen la mayor parte de la grasa abdominal en forma

subcutánea con relativamente poca cantidad de grasa en vísceras. Son capaces de mantener la sensibilidad a la insulina hasta que se retiran del deporte, momento en el cual comienzan a tener grandes cantidades de grasa visceral con mayor riesgo de RI/DM y de enfermedad cardiovascular. 60

Inflamación y tratamiento de la DM

Hemos visto que la inflamación se asocia con RI/DM y que interviene de manera importante en las complicaciones vasculares de la DM. ¿Cuál es la aplicación práctica de estos hechos? Aunque aún en forma precoz, la evidencia preliminar sugiere que la inhibición de la inflamación puede ser eficaz en el tratamiento de la DM y de sus complicaciones.

En modelos murinos de obesidad y de DM, se vio que la aspirina interfiere con la enzima IKK-B que fosforila la IK-B, una proteína cuya intervención es esencial en la inducción de factores proinflamatorios. 61 En estos estudios se comprobó reducción en la concentración plasmática de glucosa y en la resistencia a la insulina inducida por las grasas.

En el hombre, dosis altas de aspirina (aproximadamente 7 g por día) mejoran la hiperglucemia en ayunas y posprandial en sujetos con DM. 62 La reducción de la glucosa se acompaña de descenso del nivel de PCR.

Las tiazolidinonas (TZD), usadas para aumentar la sensibilidad a la insulina, reducen los niveles de citoquinas y la concentración intracelular del factor nuclear KB. 63 Se ha postulado que parte de la acción de las TZD que aumenta la sensibilidad a la insulina es a través de su acción antiinflamatoria.

Las estatinas reducen la inflamación y mejoran la función del endotelio. 64 Además, evitan la activación de monocitos a macrófagos e inhiben la producción de citoquinas, PCR y moléculas de adhesión celular. En el West of Scotland Coronary Prevention Study el único factor asociado con disminución en el riesgo de DM fue la asignación a tratamiento con estatinas. 65

En caso de que la dieta occidental sea responsable de parte de la inflamación que se asocia con RI/DM, su modificación conduciría a menor incidencia de RI/DM. De hecho, los estudios con grasas poliinsaturadas (PUFA) mostraron que el PUFA omega 3, especialmente presente en aceites de pescado, aumenta la producción de NO por parte del endotelio, mejora la relajación endotelial, inhibe la producción de citoquinas proinflamatorias, desciende la concentración de colesterol, evita la aterosclerosis y contribuye a evitar el accidente cerebrovascular. 66 Los suplementos de omega 3 se acompañan de descenso de los marcadores de disfunción endotelial, por ejemplo vWF y antígeno tisular activador del plasminógeno. 67-69 Los omega 3 también tienen propiedades antiarrítmicas y la evidencia disponible les otorga cierto papel en la prevención secundaria de la enfermedad cardiovascular. Los aceites de pescado se asocian con mejoría significativa de la función del endotelio en pequeñas arterias periféricas en pacientes con hipercolesterolemia y DM. 70,71 Estudios recientes mostraron que la ingesta de aceite de pescado aumenta la estabilidad de las placas de ateroma⁷² y reduce el riesgo de accidente cerebrovascular. 73 En virtud de estas observaciones es que las guías dietéticas de la American Heart Association⁷⁴ y de otras instituciones⁷⁵ recomiendan el consumo de aceite de pescado.

De manera similar, si la falta de ejercicio se acompaña de mayor inflamación, la recuperación de la actividad física se asociaría con menor nivel de marcadores inflamatorios, tal como lo demuestra la evidencia global. Las investigaciones muestran que el ejercicio (entrenamiento aeróbico y de resistencia) mejora la función endotelial^{76,77} y la sensibilidad a la insulina, 78 aumenta la lipoproteína lipasa que degrada los triglicéridos, 79,80 reduce la tendencia a la coagulación⁸⁰ y la secreción de TNF- α y PCR, 81,82 y disminuye la actividad aterogénica de las células mononucleares de sangre. 83

Si bien la evidencia es por ahora preliminar, los estudios apuntan a que las modificaciones saludables en el estilo de vida y ciertas terapias que influyen en el proceso inflamatorio pueden atenuar la RI y evitar o retrasar la aparición de DM. Es probable que, en un futuro cercano, la determinación de marcadores de inflamación se utilice como guía para el tratamiento de enfermos con RI y DM.

BIBLIOGRAFIA

1. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 340: 115-26.
2. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation.* 2002; 105: 1135-43.
3. Verma S, Anderson T. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation* 2002; 105: 546 - 49.

4. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 1999; 282: 2131-35.
5. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Low-grade systemic inflammation in overweight children. *Pediatrics* 2001; 107: E13.
6. Ford ES. Body mass index, diabetes, and C-reactive protein among U.S. adults. *Diabetes Care* 1999; 22: 1971 - 77.
7. Sakkinen PA, Wahl P, Cushman M, Lewis MR, Tracy RP. Clustering of procoagulation, inflammation, and fibrinolysis variables with metabolic factors in insulin resistance syndrome. *Am J Epidemiol.* 2000; 152: 897 - 907.
8. van der Poll T, de Jonge E, Levi M. Regulatory role of cytokines in disseminated intravascular coagulation. *Semin Thromb Hemost* 2001; 27: 639- 51.
9. Hotamisligil GS, Spiegelman BM. Tumor necrosis factor alpha: a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes* 1994; 43: 1271 - 78.
10. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha and obesity induced insulin resistance. *Science* 1996; 271: 665 - 68.
11. Skolnik EY, Marcusohn J. Inhibition of insulin receptor signaling by TNF: potential role in obesity and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Cytokine Growth Factor Rev* 1996; 7: 162 - 73.
12. Hotamisligil GS. Mechanisms of TNF-alpha-induced insulin resistance. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1999; 107: 119 - 25.
13. Greenberg AS, McDaniel ML. Identifying the links between obesity, insulin resistance and beta-cell function: potential role of adipocyte-derived cytokines in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Eur J Clin Invest* 2002; 32, Suppl 3: 24-34.
14. Pickup JC, Mattock MB, Crook MA, Chusney GD, Burt D, Fitzgerald AP. Serum sialic acid concentration and coronary heart disease in NIDDM. *Diabetes Care* 1995; 18: 1100-3.
15. Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD, Burt D. NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. *Diabetologia.* 1997 ; 40:1286 - 92.
16. Festa A, D'Agostino R Jr, Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation.* 2000; 102: 42- 47.
17. Kelly CC, Lyall H, Petrie JR, Gould GW, Connell JM, Satter N. Low grade inflammation in women with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 2453 - 55.
18. Mansfield MW, Heywood DM, Grant PJ. Circulating levels of factor VII, fibrinogen, and von Willebrand factor and features of insulin resistance in first-degree relatives of patients with NIDDM. *Circulation.* 1996; 94: 2171-76.
19. Herlihy OM, Barrow BA, Grant PJ, Levy JC. Hyperglycaemic siblings of type II (non-insulin-dependent) diabetic patients have increased PAI-1, central obesity and insulin resistance compared with their paired normoglycaemic siblings. *Diabetologia* 2002 ; 45: 635 - 41.
20. Nakanishi N, Suzuki K, Tatara K. White blood cell count and clustered features of metabolic syndrome in Japanese male office workers. *Occup Med (Lond)* 2002; 52: 213 - 18.
21. Nakanishi N, Sato M, Shirai K, et al. Associations between white blood cell count and features of the metabolic syndrome in Japanese male office workers. *Ind Health* 2002; 40: 273 - 77.
22. Gonzalez F, Thusu K, Abdel-Rahman E, Prabhala A, Tomani M, Dandona P. Elevated serum levels of tumor necrosis factor alpha in normal-weight women with polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 1999; 48: 437 - 41.
23. Nilsson J, Jovinge S, Niemann A, Reneland R, Lithell H. Relation between plasma tumor necrosis factor -alpha and insulin sensitivity in elderly men with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998; 18: 1199 - 202.
24. Schmidt MI, Duncan BB, Sharrett AR, Lindberg G, Savage PJ, Offenbacher S, Azambuja MI, Tracy RP, Heiss G. Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis Risk in Communities study): a cohort study. *Lancet.* 1999; 353: 1649-52.
25. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA.* 2001; 286: 327-34.

26. Barzilay JI, Abraham L, Heckbert SR, Cushman M, Kuller LH, Resnick HE, Tracy RP. The relation of markers of inflammation to the development of glucose disorders in the elderly: The Cardiovascular Health Study. *Diabetes*. 2001; 50: 2384 - 89.
27. Vozarova B, Weyer C, Lindsay RS, Pratley RE, Bogardus C, Tataranni PA. High white blood cell count is associated with a worsening of insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002; 51: 455-61.
28. Lindsay RS, Krakoff J, Hanson RL, Bennett PH, Knowler WC. Gamma globulin levels predict type 2 diabetes in the Pima Indian population. *Diabetes* 2001; 50: 1598 - 1603.
29. Festa A, D'Agostino R Jr, Tracy RP, Haffner SM. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes*. 2002; 51: 1131 - 37.
30. Duncan BB, Schmidt MI, Offenbacher S, Wu KK, Savage PJ, Heiss G. Factor VIII and other hemostasis variables are related to incident diabetes in adults. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Diabetes Care*. 1999; 22: 767-72.
31. Ford ES. Leukocyte count, erythrocyte sedimentation rate, and diabetes incidence in a national sample of US adults. *Am J Epidemiol* 2002;155: 57-64.
32. Han TS, Sattar N, Williams K, Gonzalez-Villalpando C, Lean MEJ, Haffner SM. Prospective study of c-reactive protein in relation to the development of diabetes and metabolic syndrome in the Mexico City Diabetes Study. *Diabetes Care* 2002; 25: 2016 - 21.
33. Nakanishi N, Yoshida H, Matsuo Y, Suzuki K, Tataru K. White blood-cell count and the risk of impaired fasting glucose or type II diabetes in middle-aged Japanese men. *Diabetologia* 2002; 45: 42 - 48.
34. Freeman DJ, Norrie J, Caslake MJ, Gaw A, Ford I, Lowe GD, O'Reilly DS, Packard CJ, Sattar N. C-reactive protein is an independent predictor of risk for the development of diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Diabetes*. 2002; 51 : 1596 - 600.
35. Gray RP, Yudkin JS, Patterson DL. Plasminogen activator inhibitor: a risk factor for myocardial infarction in diabetic patients. *Br Heart J* 1993; 69: 228 - 32.
36. Nagi DK, Mohamed Ali V, Jain SK, Walji S, Yudkin JS. Plasminogen activator inhibitor (PAI-1) activity is elevated in Asian and Caucasian subjects with non-insulin-dependent (type 2) diabetes but not in those with impaired glucose tolerance (IGT) or non-diabetic Asians. *Diabet Med* 1996; 13: 59 - 64.
37. Yudkin JS, Stehouwer CDA, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction. A potential role for cytokines originating from adipose tissue. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 972 - 78.
38. Chen N-G, Holmes M, Reaven GM. Relationship between insulin resistance, soluble adhesion molecules, and mononuclear cell binding in healthy volunteers. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3485 - 89.
39. Stuhlinger MC, Abbasi F, Chu JW, et al. Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA* 2002; 287: 1420 - 26.
40. Hak AE, Pols HA, Stehouwer CD, et al. Markers of inflammation and cellular adhesion molecules in relation to insulin resistance in nondiabetic elderly: the Rotterdam study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4398 - 4405.
41. Zwaka TP, Hambach V, Torzewski J. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation* 2001; 103: 1194 - 97.
42. Ito A, Tsao PS, Adimoolan S, Kimoto M, Ogawa T, Cooke JP. Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 1999; 99: 3092 - 95.
43. Penn MS, Topol EJ. Tissue factor, the emerging link between inflammation, thrombosis, and vascular remodeling. *Circ Res* 2001; 89: 1-2.
44. Pasceri V, Chang J, Willerson JT, et al. Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation* 2001; 103: 2531 - 34.
45. Hennes MM, O'Shaughnessy IM, Kelly TM, et al. Insulin-resistant lipolysis in abdominally obese hypertensive individuals. *Hypertension*. 1996; 28: 120 - 26.
46. Inoguchi T, Li P, Umeda F, et al. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C-dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes*. 2000; 49: 1939 - 45.

47. Facchini FS, Humphreys MH, DoNascimento CA, Abbasi F, Reaven GM. Relation between insulin resistance and plasma concentrations of lipid hydroperoxides, carotenoids, and tocopherols. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 776 - 9.
48. Pillarisetti S. Lipoprotein modulation of subendothelial heparan sulfate proteoglycans (perlecan) and atherogenicity. *Trends Cardiovasc Med* 2000; 10: 60 - 65.
49. van Dam RM, Rimm EB, Willett WC, Stampfer MJ, Hu FB. Dietary patterns and risk for type 2 diabetes mellitus in U.S. men. *Ann Intern Med* 2002; 136: 201 - 9.
50. Jarvi A, Karlstrom B, Granfeldt Y, Bjorck I, Asp N-G, Vessby B. Improved glycemic control and lipid profile and normalized fibrinolytic activity on a low-glycemic index diet in Type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 1999; 22: 10-18.
51. Liu S, Manson JE, Buring JE, Stampfer MJ, Willett WC, Ridker PM. Relation between a diet with a high glycemic load and plasma concentrations of high-sensitivity C-reactive protein in middle-aged women. *Am J Clin Nutr* 2002; 75: 492-8.
52. Ascherio A, Willett W. Health effects of trans fatty acids. *Am J Clin Nutr* 1997; 66 (suppl): S1006 - 10.
53. Mensink RPK, Martijn. Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *N Engl J Med* 1990; 323: 439 - 45.
54. Crawford M. Fatty-acid ratios in free-living and domestic animals: possible implications for atheroma. *Lancet* 1968: 1329 - 33.
55. Calder PC. Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity. *Lipids* 2001; 36: 1007 - 24.
56. Das UN. Beneficial effect(s) of n-3 fatty acids in cardiovascular diseases: but, why and how? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2000; 63: 351 - 62.
57. Pouliot MC, Despres JP, Nadeau A, et al. Visceral obesity in men. Associations with glucose tolerance, plasma insulin, and lipoprotein levels. *Diabetes* 1992; 41: 826-34.
58. Ruderman N, Chisholm D, Pi-Sunyer X, Schneider S. The metabolically obese, normal-weight individual revisited. *Diabetes* 1998; 47: 699-713. Baeuerle PA, Baltimore D. NF-kappa B: ten years after. *Cell* 1996; 87: 13 - 20.
59. RS, Petersen KF, Mayerson AB, Randhawa PS, Inzucchi S, Shoelson SE, Shulman GI. Mechanism by which high-dose aspirin improves glucose metabolism in type 2 diabetes. *J Clin Invest*. 2002; 109: 1321 - 6.
60. H, Garg R, Aljada A, et al. Suppression of nuclear factor-kappaB and stimulation of inhibitor kappaB by troglitazone: evidence for an anti-inflammatory effect and a potential antiatherosclerotic effect in the obese. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1306 - 12.
61. SI, Muniyappa R, Francisco R, Sowers JR. Pleiotropic effects of statins: lipid reduction and beyond. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1451 - 58.
62. Freeman DJ, Norrie J, Sattar N, et al. Pravastatin and the development of diabetes mellitus: evidence for a protective treatment effect in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Circulation* 2001; 103: 357 - 62.
63. Harper CR, Jacobson TA. The fats of life: the role of omega-3 fatty acids in the prevention of coronary heart disease. *Arch Intern Med* 2001; 161: 2185-92. Johansen O, Seljeflot I, Hostmark AT, Arnesen H. The effect of supplementation with omega-3 fatty acids on soluble markers of endothelial function in patients with coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1681-6.
64. Seljeflot I, Arnesen H, Brude IR, Nenseter MS, Drevon CA, Hjermann I. Effects of omega-3 fatty acids and/or antioxidants on endothelial cell markers. *Eur J Clin Invest* 1998; 28: 629-35.
65. De Caterina R, Liao JK, Libby P. Fatty acid modulation of endothelial activation. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 213S-23S.
66. Goode GK, Garcia S, Heagerty AM. Dietary supplementation with marine fish oil improves in vitro small artery endothelial function in hypercholesterolemic patients: a double-blind placebo-controlled study. *Circulation* 1997; 96: 2802-7.
67. Abe Y, El-Masri B, Kimball KT, et al. Soluble cell adhesion molecules in hypertriglyceridemia and potential significance on monocyte adhesion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 723-31.
68. Thies F, Garry JM, Yaqoob P, et al. Association of n-3 polyunsaturated fatty acids with stability of atherosclerotic plaques: a randomised clinical trial. *Lancet* 2003; 361: 477 - 85.
69. He K, Merchant A, Rosner BA, Stampfer MJ, Willett WC, Ascherio A. Fish consumption and risk of stroke in men. *JAMA* 2002; 288: 3130 - 36.

70. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular diseases. *Circulation* 2002; 106: 2747-57.
71. Hu FB, Willett WC. Optimal diets for prevention of heart disease. *JAMA* 2002; 288: 2569-78.
72. Maiorana A, O'Driscoll G, Cheetham C, et al. The effect of combined aerobic and resistance exercise training on vascular function in type 2 diabetes. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38:860-6.
73. Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G, et al. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation* 2002; 105:804-9.
74. Perseghin G, Price TB, Petersen KF, et al. Increased glucose transport-phosphorylation and muscle glycogen synthesis after exercise training in insulin-resistant subjects. *N Engl J Med* 1996; 335:1357-62.
75. Stefanick ML, Mackey S, Sheehan M, Ellsworth N, Haskell WL, Wood PD. Effects of diet and exercise in men and postmenopausal women with low levels of HDL cholesterol and high levels of LDL cholesterol [see comments]. *N Engl J Med* 1998; 339:12-20.
76. Buemann B, Tremblay A. Effects of exercise training on abdominal obesity and related metabolic complications. *Sports Med* 1996; 21:191-212.
77. Watts NB. Therapies to improve bone mineral density and reduce the risk of fracture: clinical trial results. *J Reprod Med* 2002; 47:82-92.
78. Adamopoulos S, Parissis J, Karatzas D, et al. Physical training modulates proinflammatory cytokines and the soluble Fas/soluble Fas ligand system in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39:653-63.
79. Smith JK, Dykes R, Douglas JE, Krishnaswamy G, Berk S. Long-term exercise and atherogenic activity of blood mononuclear cells in persons at risk of developing ischemic heart disease. *JAMA* 1999; 281:1722-7