

Cardiopatía isquémica: marcadores de inflamación y riesgo cardiovascular

Xavier García-Moll y Juan Carlos Kaski

angina inestable / arteriosclerosis / cardiopatía isquémica / citocinas / diabetes mellitus / dislipemia / enfermedad coronaria / factor de necrosis tumoral / factores de riesgo cardiovascular / hipertensión arterial / inflamación / interferón tipo II

Durante los últimos años se ha observado que la inflamación es un mecanismo clave de la aterogénesis y de la progresión rápida de la enfermedad arterial coronaria. La inflamación es una respuesta del huésped a una gran variedad de lesiones tisulares. Cuando el estímulo inflamatorio es persistente o se repite continuamente se producirá una inflamación crónica, que puede llegar a destruir el tejido y/o producir la pérdida de la funcionalidad del órgano afectado. En la aterosclerosis, como en otras patologías que implican una respuesta inflamatoria, las citocinas aumentarán las concentraciones sanguíneas de reactantes de fase aguda (marcadores de inflamación activa) como el fibrinógeno o la proteína C reactiva. Recientemente se ha observado que estas proteínas están más elevadas en aquellos individuos con eventos cardiovasculares durante los siguientes años, ya sea personas sanas o pacientes con cardiopatía isquémica. Actualmente la proteína C reactiva es el marcador de inflamación que atrae más la atención de los investigadores alrededor del mundo. La presente revisión trata sobre la relación entre aterosclerosis e inflamación, haciendo especial hincapié en las citocinas y los reactantes de fase aguda, para discutir seguidamente el uso de estos reactantes como marcadores de inflamación y riesgo en la enfermedad aterosclerótica.

Palabras clave: *Inflamación. Cardiopatía isquémica. Citocinas. Proteínas de fase aguda. Proteína C reactiva.*

ISCHAEMIC HEART DISEASE: INFLAMMATION MARKERS AND CARDIOVASCULAR RISK

In recent years it has been established that inflammation is a key mechanism in the pathogenesis of atherosclerosis and in coronary artery disease progression. Inflammation is a host response to a wide variety of tissue injuries. A persistent or continually repeated insult will lead to chronic inflammation which may result in tissue destruction and/or loss of normal organ function. Atherosclerosis and other pathologies involving inflammation are associated with increased levels of cytokines, which in turn raise acute-phase proteins levels in blood (acute inflammation markers, i.e. fibrinogen and C-reactive protein). It has been shown recently that concentrations of these proteins are higher in individuals at increased risk of developing cardiac events in the years to come. This is true both in apparently healthy men and women and in ischaemic heart disease patients. CRP is currently the inflammatory marker which appears to have captured the investigators' attention around the globe. In this report we review the current data on the relationship between atherosclerosis and inflammation, with special attention to cytokines and acute phase reactants. The use of acute phase reactants as prognostic risk markers in ischaemic heart disease is also discussed.

Key words: *Inflammation. Ischaemic heart disease. Cytokines. Acute-phase proteins. C-reactive protein.*

(*Rev Esp Cardiol* 1999; 52: 990-1.003)

INTRODUCCIÓN

Se sabe que la aterosclerosis, la mayor causa de morbilidad y mortalidad del mundo occidental¹, está relacionada con enfermedades como la diabetes mellitus, la dislipemia, la hipertensión, y con hábitos tóxicos como el tabaquismo. Estas entidades representan

los denominados factores de riesgo clásicos. El tratamiento de dichos factores de riesgo ha contribuido al descenso registrado de la mortalidad relacionada con la aterosclerosis que se ha observado en los países occidentales². Sin embargo, una proporción no despreciable de pacientes con cardiopatía isquémica (CI) no presenta dichos factores. Recientemente se han descrito varios factores de riesgo cardiovascular «nuevos» que pueden ayudar a explicar esta discrepancia. Entre ellos se cuentan la hiperhomocisteinemia³, las concentraciones elevadas de lipoproteína a (Lp[a])⁴, la alteración del balance entre radicales oxidantes y antioxidantes⁵, la hipercoagulabilidad⁶, el polimorfismo del gen de la enzima convertidora de la angiotensina⁷, la expresión del antígeno leucocitario humano (HLA)-DR⁸,

El Dr. X. García-Moll recibe una beca del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona.

Correspondencia: Dr. J.C. Kaski.
Coronary Artery Disease Research Group,
Cardiological Sciences,
St. George's Hospital Medical School,
Cranmer Terrace, London SW17 0RE.
Correo electrónico: jkaski@sghms.ac.uk

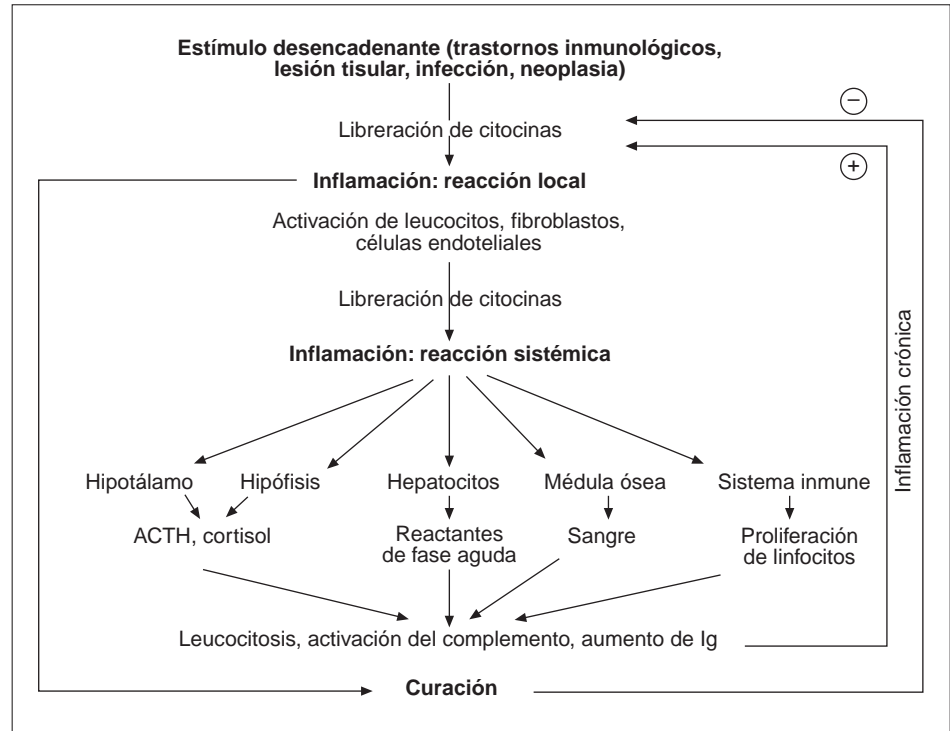


Fig. 1. Respuestas localizadas y sistémicas inducidas por las citocinas inflamatorias y sus interrelaciones. Modificada de Sheldon J, Riches P. *Inflammatory cytokines*. J Cardiovasc Risk Factors. En prensa.

las infecciones crónicas⁹ y las alteraciones del óxido nítrico¹⁰. Durante los últimos años también se ha observado que la inflamación es un mecanismo clave de la aterogénesis y de la progresión rápida de la enfermedad arterial coronaria^{11,12}.

La inflamación es una respuesta del huésped a una gran variedad de lesiones tisulares, caracterizada por el movimiento de células y fluidos desde la sangre hacia los tejidos extravasculares en el lugar en el que se ha iniciado el estímulo nocivo, bajo la influencia de factores quimiotácticos producidos localmente. Los tipos celulares implicados dependerán del tipo de lesión, lo que sugiere que existe una selectividad en la producción de varios factores quimiotácticos. La inflamación aguda se caracteriza por la acumulación de neutrófilos. Si la respuesta inflamatoria queda confinada localmente se producirá una lesión menor, pero si el estímulo inflamatorio es más importante generará una reacción sistémica generalizada denominada «respuesta de fase aguda», que posteriormente disminuye y retorna a la normalidad (fig. 1). Cuando el estímulo inflamatorio es persistente o se repite continuamente se producirá una inflamación crónica, que puede llegar a destruir el tejido y/o producir la pérdida de la funcionalidad del órgano afectado. El infiltrado de células inmunes típico de la inflamación crónica está compuesto por macrófagos, linfocitos y células plasmáticas. La liberación crónica de mediadores de la inflamación producirá lesión tisular, cicatrización y la posible pérdida de la función tisular.

Las primeras observaciones sobre la inflamación fueron realizadas por Hipócrates hace aproximadamente 2.500 años. Observó que la sangre de personas sanas formaba un coágulo homogéneo, mientras que la de personas enfermas se separaba rápidamente en cuatro capas, los «cuatro humores», antes de coagularse. Hipócrates sugirió que la causa de la enfermedad era la incapacidad de los cuatro humores para poder mezclarse. Han sido necesarios 2.000 años para apreciar que la sedimentación rápida de los eritrocitos es el resultado y no la consecuencia de la enfermedad, y sólo durante los últimos 20 años hemos sabido que la lesión de un tejido ocasiona la liberación de mediadores químicos, citocinas, que causarán la respuesta inflamatoria. Aunque existe una tendencia a considerar que estos procesos inflamatorios son perniciosos y hasta indeseables, dichos procesos constituyen un intento de mantener la homeostasis por parte del organismo afectado.

En la aterosclerosis, como en otras enfermedades que implican una respuesta inflamatoria, las citocinas aumentarán las concentraciones sanguíneas de reactantes de fase aguda (marcadores de inflamación activa) como el fibrinógeno, la proteína C reactiva (PCR), la proteína sérica A-amiloide, el ácido siálico y la ceruloplasmina, y disminuirán las de albúmina. Recientemente se ha observado que estas proteínas están más elevadas en los pacientes con CI y con mayor tendencia a presentar eventos cardiovasculares adversos¹³⁻¹⁸. Varios estudios han confirmado el valor predictivo de estos marcadores inflamatorios en individuos aparentemente sanos y en pacientes con CI. Actualmente la PCR es el marcador

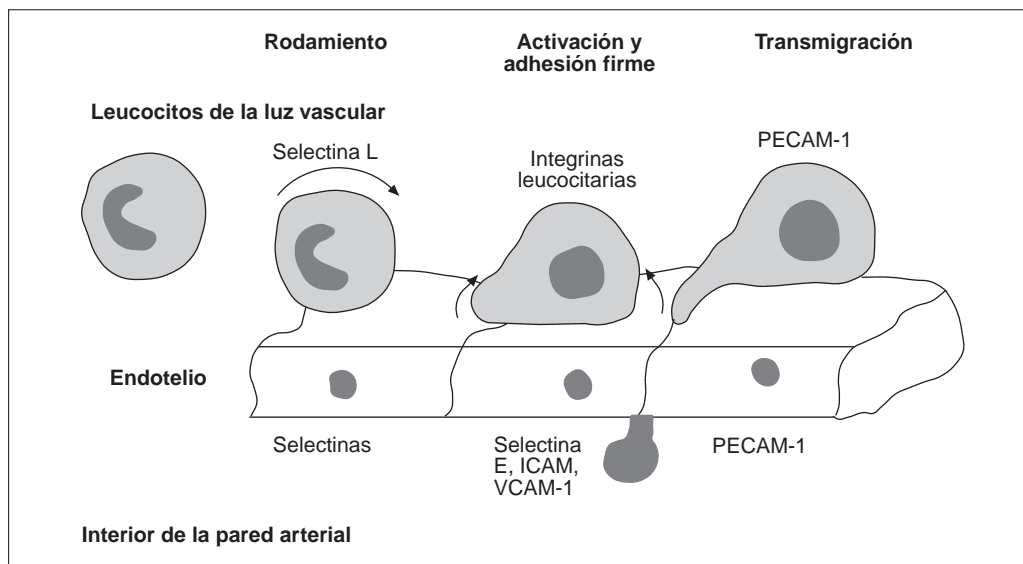


Fig. 2. Fase inicial del proceso aterosclerótico. Adhesión y transmisión de monocitos hacia el interior de la pared arterial.

de inflamación que atrae más la atención de los investigadores alrededor del mundo.

Este artículo tratará sobre la relación entre aterosclerosis e inflamación, haciendo especial hincapié en las citocinas y los reactantes de fase aguda, para discutir seguidamente el uso de estos reactantes como marcadores de inflamación y riesgo en la enfermedad aterosclerótica.

INFLAMACIÓN Y DESARROLLO DE LA PLACA ATEROSCLERÓTICA

La aterosclerosis es un proceso complejo que implica diferentes tipos de células (como las células endoteliales, células musculares lisas vasculares, macrófagos y linfocitos) y numerosas familias de citocinas y factores de crecimiento¹¹. Estas moléculas pueden inducir diferentes funciones según sea la célula diana, el receptor diana, o las características del medio tisular. Como se verá a continuación, la inflamación desempeña un papel importante en las tres fases de la patogenia de una lesión aterosclerótica: inicio, maduración y fisura.

Inflamación en el inicio de la placa aterosclerótica

El sistema cardiovascular es a la vez una diana para la acción de las citocinas y un importante productor de las mismas¹⁹. Gran parte de las comunicaciones entre las células implicadas en los procesos inmunológicos y los órganos se realiza a través del torrente sanguíneo. Durante las respuestas inflamatorias e inmunes las células y los mediadores solubles deben abandonar la sangre y acceder al lugar de la lesión. Por tanto, muchas citocinas, particularmente las que se producen durante los eventos iniciales tras la

lesión, tienen efectos sobre la vasculatura. Es decir, la inflamación sistémica puede inducir una respuesta inflamatoria por parte de las células endoteliales. Dicha respuesta puede ser causada por factores de riesgo como la hipercolesterolemia, la hipertensión arterial, el tabaco, la diabetes, etc. El endotelio estimulado por las citocinas expresa glicoproteínas de adhesión en su superficie¹¹, y aumenta la expresión de moléculas de adhesión, facilitando el reclutamiento de células inmunes de la sangre hacia los tejidos. Las células endoteliales activadas también pueden producir citocinas como las interleucinas (IL) IL-1 o IL-6, y poderosos mediadores vasoactivos como el factor activador plaquetario, que potencian las respuestas inmunes e inflamatorias. Las glicoproteínas adhesivas son miembros de la familia de las selectinas (selectina E y selectina P) y de la superfamilia de las inmunoglobulinas (molécula 1 de adhesión de plaquetas a células endoteliales o *platelet-endothelial cell adhesion molecule-1* [PECAM-1], moléculas de adhesión intercelular [ICAM] y molécula 1 de adhesión de células vasculares [VCAM-1]) (fig. 2)²⁰. Cuando dichas glicoproteínas se expresan en la superficie de las células endoteliales son reconocidas por integrinas presentes en la superficie de monocitos y linfocitos T. Una vez que estas células se han enganchado a la superficie endotelial, los monocitos y los linfocitos T migran hacia el interior de la pared vascular a través de las uniones entre células endoteliales. Este proceso se ve influido por moléculas reguladoras del crecimiento y sustancias quimioatrativas liberadas tanto por las células endoteliales como por los leucocitos adheridos (p. ej., interleucinas [IL-8]²¹, leucotrienos, factor del crecimiento derivado de las plaquetas [PDGF], proteína 1 quimiotáctica de monocitos [MCP-1] o PECAM-1). La MCP-1, ade-

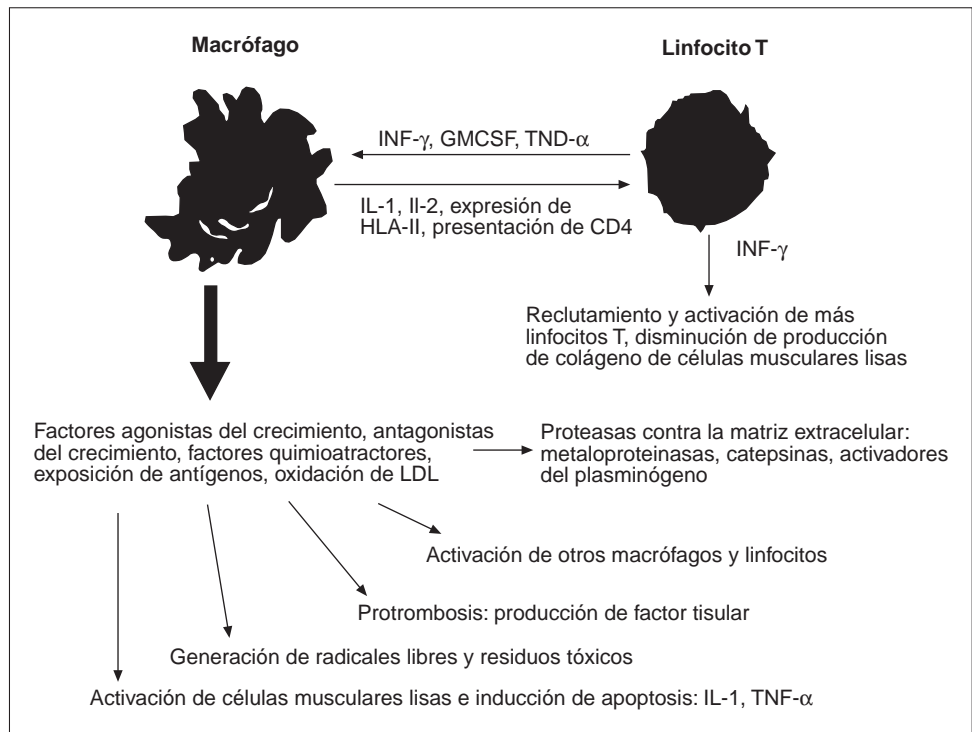


Fig. 3. Procesos inflamatorios en la placa aterosclerótica.

más de inducir la liberación de histamina y leucotrienos como la IL-8²², atrae a linfocitos CD4⁺ y CD8⁺ hacia el lugar de inflamación, y puede estimular la liberación de citocinas inflamatorias como IL-1 y IL-6 a partir de los monocitos.

Inflamación y desarrollo de la placa aterosclerótica

A medida que progresa el proceso inflamatorio, los monocitos llegan al espacio subintimal y a la capa media arterial, donde pasan a considerarse macrófagos. Éstos acumulan lípidos del interior de la pared arterial y liberan nuevos factores de crecimiento y citocinas, que atraerán a nuevos macrófagos y células musculares lisas al lugar de inflamación. Estas moléculas producidas por las células presentes en la placa aterosclerótica inducen y regulan una gran variedad de funciones celulares, como la proliferación, quimiotaxis, producción de moduladores inmunes y acumulación de diferentes componentes de la matriz colágena (fig. 3)¹¹. Las citocinas aumentan la producción de radicales libres y enzimas en células endoteliales y en macrófagos. Ambas contribuyen a la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Las LDL oxidadas son un ligando para un receptor macrófágico, que a su vez también se expresa en mayor cantidad en macrófagos activados por citocinas. Este receptor se une a las LDL oxidadas y las internaliza. La acumulación de LDL oxidadas en el interior de los macrófagos producirá la típica morfología

de célula espumosa, característica en las lesiones ateroscleróticas. Estas células podrán presentar antígenos a linfocitos, potenciando la respuesta inmune. Además, los macrófagos activados liberan citocinas proinflamatorias (IL-12 e IL-18), que inducen la producción de interferón γ [IFN- γ] en los linfocitos T, lo que a su vez estimulará a los macrófagos con una autorregulación positiva. Otros linfocitos T secretarán IL-10 para limitar los procesos proinflamatorios. El resultado final dependerá del balance de estas influencias contrapuestas.

Inflamación y fisura de la placa aterosclerótica

Finalmente, la inflamación también interviene en el proceso activo de la rotura de la placa aterosclerótica. Algunas citocinas y factores de crecimiento están implicados en la síntesis de colágeno en el casquete fibroso de las placas (como el factor- β transformador del crecimiento [TGF- β] y el PDGF), mientras que otros como el IFN- γ alteran la síntesis de colágeno de las células musculares lisas e inhiben su proliferación²³. Es significativo que sólo los linfocitos T activados pueden elaborar IFN- γ . Por tanto, cuando los linfocitos T están crónicamente activados, la producción de IFN- γ altera el mantenimiento y reparación de la matriz colágena¹². Es más, las placas activas expresan enzimas conocidas como metaloproteinasas de matriz extracelular que inducen la degradación de colágeno y otros componentes de matriz extracelular en las placas ateroscleróticas²⁴. El resultado de todo ello es la altera-

ción del balance entre síntesis y degradación de los componentes de la matriz en las zonas con inflamación activa en las placas ateroscleróticas («zonas vulnerables»), que debilitará el casquete fibroso. El casquete fibroso de las placas vulnerables se fisurará, rompiendo las placas y desencadenando eventos trombóticos que a su vez ampliarán la cascada inflamatoria en la placa. El resultado final de la fisura de la placa será un aumento súbito del volumen de la placa. Otro mecanismo por el que las placas pueden sufrir un aumento súbito del volumen es mediante una hemorragia intraplaca.

Inflamación y trombosis

Existe un vínculo claro entre inflamación y trombosis, influyéndose de forma recíproca²⁵. Las células endoteliales estimuladas por citocinas (como el TNF) producen sustancias procoagulantes como el factor Von Willebrand, factor tisular y los inhibidores 1 y 2 del activador del plasminógeno. Las células inflamatorias activadas sintetizan moléculas que modulan la cascada trombótica (p. ej., factor tisular en macrófagos activados, o trombina, un poderoso estimulante de la mitogénesis y activador plaquetario). El fibrinógeno, un reactante de fase aguda y molécula clave en el proceso trombogénico, desempeña un papel importante en la adhesión y agregación de las plaquetas. El papel del fibrinógeno en la aterosclerosis se sugirió al observarse en especímenes anatomopatológicos el depósito de péptidos relacionados con el fibrinógeno en ateroma en fase preclínica^{26,27}. El fibrinógeno puede contribuir a la aterogénesis induciendo la desorganización y migración de células endoteliales, alterando por tanto la permeabilidad vascular²⁸ y estimulando la proliferación de células musculares lisas²⁹. La trombina, otra proteína clave en la trombogénesis, puede inducir la producción de IL-1 en los macrófagos³⁰. La IL-1 tiene diferentes funciones, incluyendo la inducción de la proliferación de células musculares lisas y la expresión de moléculas de adhesión en la superficie de las células endoteliales³¹. La plasmina, una enzima responsable de la fibrinólisis, degrada componentes de la matriz extracelular y de la membrana basal³² y activa colagenasas latentes (como las metaloproteinasas de la matriz extracelular)³³. Estas propiedades de la plasmina son importantes para la migración celular. La trombosis y la inflamación también están relacionadas mediante el papel regulador que tienen citocinas y factores de crecimiento como la IL-1 y la IL-4 en el balance trombótico-trombolítico. La IL-1 puede estimular la producción de PAI-1 en células endoteliales³⁴ y la IL-4 induce la producción de t-PA en monocitos³⁵. La Lp(a) también es un importante modulador de la trombosis. Su estructura es muy similar a la del fibrinógeno. La Lp(a) se liga a la fibrina, compitiendo por el plasminógeno y por el t-PA y, por tanto, reduce la eficacia catalítica del t-PA que facilita su unión con

TABLA 1
Grupos principales de citocinas

Nombre del grupo	Principales componentes
Interleucinas	IL-1 a 18
Interferones	IFN- α , β , γ
Factores de necrosis tumoral	TNF- α , β
Quimiocinas	Linfotactina, MCP-1, IL8, RANTES, proteína inflamatoria macrofágica 1 α
Factores estimulantes de la formación de colonias (CSF)	CSF para granulocitos, macrófagos
Factores de crecimiento (GF)	Fibroblástico, derivado de plaquetas, epidérmico, similar a la insulina (<i>insulin-like</i>), transformador, eritropoyetina

la fibrina³⁶. La Lp(a) compite con el plasminógeno en su unión con los receptores de la superficie celular de las células mononucleares, células endoteliales y plaquetas. Finalmente, la Lp(a) induce selectivamente la expresión y secreción de PAI-1 por células endoteliales en cultivo³⁷.

Se sabe que la inflamación en las placas ateroscleróticas puede estar desencadenada, mantenida e incrementada por múltiples factores, como la presencia de LDL oxidadas, incremento de la concentración de radicales superóxido, macrófagos activados, linfocitos activados, incremento de IL-1, IL-6, IFN- γ y Lp(a)³⁸.

CITOCINAS. DESENCADENANTES DE LA PRODUCCIÓN DE REACTANTES DE FASE AGUDA

Las citocinas que, como hemos mencionado anteriormente, son péptidos señalizadores, mediadores químicos, se producen como respuesta a una agresión a un tejido, y causan la respuesta inflamatoria³⁹. En la **tabla 1** se enumeran los principales componentes de las familias de citocinas.

En general, las citocinas actúan a través de receptores de alta afinidad de la superficie celular. La mayoría de citocinas son moléculas multifuncionales que ejercen diferentes acciones en las diferentes células sobre las que actúan. La acción que inducirán variará a su vez según sean las condiciones microambientales. Las funciones de las citocinas se solapan, siendo pocas las que tienen una única función. Las citocinas suelen actuar de forma local, ya sea autocrina o paracrina, pero alguna, como la IL-6, tiene funciones endocrinas. La producción de citocinas, incluyendo las proinflamatorias, es una respuesta fisiológica a la lesión tisular. Su principal función es la coordinación de la eliminación

TABLA 2
Células productoras y principales funciones biológicas de las citocinas inflamatorias

Citocinas	Células productoras	Principales funciones biológicas
IL-1	Monocitos y macrófagos Neutrófilos Linfocitos T y B Fibroblastos Células musculares lisas Células endoteliales	Estimula la proliferación de linfocitos T y B Aumenta la expresión del receptor IL-2 Activa células NK Activa células endoteliales Induce respuestas de fase aguda Actúa como pirógeno endógeno Tiene una gran variedad de efectos sobre el sistema nervioso central y el sistema endocrino
IL-4	Linfocitos T (Th2) Eosinófilos Basófilos	Modulación de las funciones de los macrófagos Diferenciación de las células T Inducción de la producción de IgE Regulación de la adhesión endotelial Inhibición de la producción de TNF- γ , IL-1 β , IL-6, ICAM-1 y NO
IL6	Monocitos Neutrófilos Eosinófilos Linfocitos T y B Fibroblastos Hepatocitos Células endoteliales	Induce el ciclo de células progenitoras primitivas hematopoyéticas Estimula la maduración de megacariocitos y la producción de plaquetas Estimula el crecimiento y maduración de linfocitos Estimula la producción hepática de proteínas de fase aguda Actúa como pirógeno endógeno
TNF α	Macrófagos y monocitos Linfocitos T y B Neutrófilos Células endoteliales	Modula la expresión génica de varios factores de crecimiento, citocinas, factores de transcripción, receptores de superficie celular Modula las defensas del huésped Modula el crecimiento tumoral Estimula la producción hepática de proteínas de fase aguda Pirógeno endógeno
IFN- γ	Células T-CD8 ⁺ y CD4 ⁺ (subgrupos T _H 1 y T _H 0) Células NK	IFN- γ , como IFN- α y IFN- β , tiene propiedades antivirales Tiene propiedades antiproliferativas en muchas líneas celulares transformadas y neoplasias Estimulador potente de las células T NK y citotóxicas Activa y regula la actividad funcional de monocitos y macrófagos Regulación de la inmunidad humoral a través de las células CD4 ⁺ T, influyendo en la producción de inmunoglobulinas por las células B Regulación de la producción de varios componentes del complemento y de algunas proteínas de fase aguda, directa o indirectamente Regulación de la síntesis y actividad de otras citocinas, sobre todo IL1, IL2 y TNF Permite que el endotelio pueda presentar antígenos
IL-10	Macrófagos Linfocitos T y B	Suprime la actividad funcional de los macrófagos Inhibe la producción de citocinas proinflamatorias por parte de monocitos y macrófagos Aumenta la proliferación de linfocitos B y la secreción de inmunoglobulinas

de microorganismos invasores y la eliminación de tejidos lesionados. De esta forma se evita la estimulación excesiva del sistema inmune, que podría inducir reacciones de hipersensibilidad.

Las citocinas proinflamatorias que inician la respuesta inflamatoria son la IL-1, la IL-6 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α). Estas moléculas suelen actuar en compañía de otras citocinas como las IL-8, 10, 11, 12, 18 y el IFN- γ . Además, cuando las citocinas actúan se producen multitud de mediadores de inflamación, ya sean proteicos como el fragmento del complemento C5a, o lipídicos como el factor activador plaquetario. Estos mediadores tendrán acciones si-

nérgicas, induciéndose su producción entre ellos, e induciendo la producción de otras citocinas que frenarán o aumentarán las vías de autocontrol. Las citocinas también son responsables de la finalización correcta de la respuesta inflamatoria. A continuación repasaremos brevemente el papel de las moléculas relevantes de este grupo en la respuesta inflamatoria relacionada con la aterosclerosis (tabla 2).

Interleucina 1

La mayoría de células nucleadas producen IL-1. Sin embargo, los principales productores de IL-1 en la in-

flamación son los macrófagos⁴⁰. La IL-1 α y la IL-1 β se unen a dos tipos diferentes de receptores, el IL1RI (que se une mejor con IL-1 α que con IL-1 β) y el IL1RII (mejor con IL-1 β)⁴¹. El receptor I de IL-1 se encuentra en linfocitos T, fibroblastos, células endoteliales y hepatocitos. Por su parte, el receptor II se encuentra en linfocitos B, neutrófilos y células de la médula ósea. Sin embargo, es probable que algunas células expresen ambos tipos de receptores. El antagonista natural de la IL-1 es el antagonista del receptor de IL-1 (IL1Ra)⁴², que compite con la IL-1 en la unión con los receptores de la superficie celular sin que desencadene las respuestas celulares típicas de la IL-1. No induce ningún cambio bioquímico ni endocrinológico cuando se inyecta por vía intravenosa en sujetos sanos⁴²⁻⁴⁴. Los efectos de IL-1 son variados. Tiene un papel principal en la cascada inflamatoria y es uno de los mayores inductores de la síntesis hepática de marcadores de inflamación, los reactantes de fase aguda⁴⁵. La IL-1 también tiene un papel central en el inicio de las reacciones inflamatorias, ya que recluta respuestas inmunes específicas al regular al alza las células inmunitarias. Además, actúa directamente en el hipotálamo (es el principal inductor de fiebre y el vínculo más importante entre el sistema inmunitario y el sistema neuroendocrino).

Interleucina 4

La IL-4 es, junto a la IL-10, una de las principales interleucinas antiinflamatorias. Inicialmente se describió a la IL-4 como un factor estimulador de las células B⁴⁶. Posteriormente se han conocido multitud de acciones diferentes. Las funciones de mayor relevancia son la modulación de las funciones de los macrófagos, la diferenciación de las células T⁴⁷, la inducción de la producción de IgE en las células B, la inhibición de la producción de TNF- α , IL-1 β , IL-6, ICAM-1 y de óxido nítrico (NO) (mediante la inhibición de la transcripción del gen de iNOS)⁴⁸⁻⁵⁰. Por tanto, la IL-4 es una molécula que interviene en la regulación de la producción de anticuerpos, en la hematopoyesis, en la inflamación, en la respuesta de las células T frente a estímulos y, finalmente, en la regulación de las propiedades adhesivas del endotelio. No en vano, la IL-4 se ha definido como «el prototipo de citocina inmunorreguladora». Se trata de una molécula que se expresa en células T *helper* de tipo 2 (Th2), en CD4⁺ NK1.1⁺, en basófilos y en eosinófilos^{51,52}. El receptor funcional de la IL-4 es un dímero formado por la cadena IL-4R y la cadena compartida con otras interleucinas. La cadena IL-4R también forma parte del receptor de la IL-13, lo que puede explicar en parte la similitud de acciones entre las dos moléculas^{53,54}. Asimismo, se debe destacar que la IL-4 y el IFN- γ tienen un mutuo antagonismo en sus funciones⁵⁵.

Interleucina 6

La IL-6 se produce en multitud de tejidos diferentes. Los principales productores son los monocitos estimulados^{56,57}, fibroblastos⁵⁸ y células endoteliales⁵⁹. Los principales estímulos fisiológicos para la producción de la IL-6 en los monocitos son la IL-1 y las endotoxinas bacterianas⁵⁶. La IL-6 actúa enlazándose con un receptor específico de alta afinidad (IL6R), que está ampliamente distribuido en las células linfoides y no linfoides⁶⁰. El IL6R está formado por dos glicoproteínas de membrana: gp80, que se liga a IL-6 con baja afinidad⁶¹, y gp130, que se liga al complejo IL-6-gp80 y transduce la señal a través de la membrana plasmática⁶². Los monocitos, hepatocitos, linfocitos B activados y linfocitos T CD4 y CD8 expresan gp80 de IL6R^{63,64}. La IL-6 induce la diferenciación terminal de los linfocitos B⁶⁵, el crecimiento y la diferenciación citotóxica de linfocitos T⁶⁶, y estimula la producción normal de células sanguíneas⁶⁷. La IL-6 es otro regulador importante de la síntesis hepática de proteínas de fase aguda⁶⁸. Otra interleucina que también induce la producción de proteínas de fase aguda en hepatocitos es la IL-11. Sin embargo, a diferencia de IL-6, no tiene casi efecto sobre los linfocitos T o B.

Factor de necrosis tumoral α

El TNF se sintetiza en células de la estirpe monocito/macrofágica y en los linfocitos. Su producción se induce mediante endotoxinas bacterianas, antígenos de hongos o virus y C5a⁶⁹, y también por otras citocinas como IL-1. Se han identificado dos tipos de receptores para TNF: p55 (55-60 kDa), de menor afinidad y p75 (75-80 kDa), el de mayor afinidad. La mayoría de las células (excepto los eritrocitos) expresan ambos receptores. Es posible que éstos desencadenen acciones diferentes: p55 estaría implicado en la citotoxicidad, actividad antiviral y proliferación de fibroblastos, mientras que p75 actuaría en la proliferación de timocitos primarios y de linfocitos T⁷⁰. Las acciones del TNF están favorecidas por IFN- γ a través del aumento de la expresión del receptor de 75 kDa⁷¹. La rotura proteolítica de los receptores de TNF produce formas solubles que se liberan de las superficies celulares, regulando a la baja los receptores de TNF. El TNF se descubrió a raíz de sus acciones en la necrosis hemorrágica y la regresión de algunos tumores⁷². Además, el TNF es un potente inductor de los efectos sistémicos de la inflamación como fiebre, hipotensión, taquicardia y respuesta de hormonas relacionadas con el estrés⁷³.

Interferón- γ

El IFN- γ es un potente activador de macrófagos, estimula neutrófilos y linfocitos B⁷⁴ e induce la síntesis

de IL-1 y TNF⁷⁵. El receptor de IFN- γ está formado por dos polipéptidos de membrana. Ambas cadenas, α y β , son necesarias para unirse con el ligando y para la transducción de señales. La expresión del receptor de IFN- γ es constitutiva en todos los tipos celulares excepto los eritrocitos. El IFN- γ , como los demás miembros de la familia de interferones, tiene potentes funciones antivirales y antiproliferativas. Sin embargo, la relevancia fisiológica de IFN- γ proviene de sus propiedades inmunomoduladoras. El IFN- γ induce la expresión de muchas moléculas clave, entre las que se incluyen los antígenos de clase I y II, óxido nítrico sintetasa (NOS) y citocinas (como la IL-1)⁷⁶⁻⁷⁸. El IFN- γ es una de las principales citocinas responsables de la activación y regulación de la actividad funcional de monocitos y macrófagos, regula la inmunidad humoral a través de las células T CD4⁺ e influye en la producción de inmunoglobulinas en las células B. El IFN- γ también regula la producción de varios componentes del complemento y algunas proteínas de fase aguda, ya sea mediante efectos directos sobre los hepatocitos y macrófagos o mediante la inducción de otras moléculas, y regula la síntesis y actividad de otras citocinas, sobre todo IL-1, IL-2 y TNF.

Interleucina 10

La IL-10 es uno de los principales inhibidores de la síntesis de citocinas, disminuye la función de los macrófagos e inhibe la producción de citocinas proinflamatorias⁷⁹. La IL-10 (18 kDa) está producida por los linfocitos T, linfocitos B y macrófagos activados por antígenos o productos bacterianos. La producción de IL-10 se inhibe mediante IFN- γ e IL-4. La IL-10 actúa a través de su receptor de la superficie celular, que está relacionado estructuralmente con la familia de IFN, lo que es interesante dada la relación antagónica entre IL-10 e IFN- γ ⁷⁹⁻⁸¹. La IL-10 disminuye la expresión de antígenos de clase II en macrófagos e inhibe la producción de citocinas. El resultado es la inhibición de la síntesis de citocinas por los linfocitos T *helper* activados y por los linfocitos *natural killer*⁸². Otros efectos antiinflamatorios importantes de la IL-10 son la inhibición de la producción de NO e intermediarios de oxígeno en macrófagos, así como la inhibición de la adherencia de macrófagos⁷⁹.

REACTANTES DE FASE AGUDA COMO MARCADORES DE INFLAMACIÓN EN LA ENFERMEDAD ARTERIAL CORONARIA

En 1974 se observó por primera vez que los hepatocitos están implicados en la respuesta de fase aguda a través de sustancias producidas por los macrófagos activados⁸³. En 1987, el grupo de Gaudie observó que los hepatocitos producen proteínas de fase aguda *in vitro* tras estimulación con citocinas^{84,85}, principalmente

IL-1 e IL-6, mientras que TNF tuvo efectos estimuladores e inhibidores cuando actuaba modulado por IL-1 e IL-6^{86,87}. Debido al papel central de las citocinas en la inducción de la producción de proteínas de fase aguda, es probable que la producción de citocinas preceda a la producción de proteínas de fase aguda. Los reactantes de fase aguda son marcadores de inflamación activa sensibles, pero muy inespecíficos. Son proteínas que se sintetizan en hepatocitos estimulados por citocinas. Como se ha mencionado previamente, las citocinas que se han implicado en este proceso son la IL-6 y el TNF α ⁶⁸. Ambas moléculas se sintetizan en macrófagos activados, y su producción y aumento de sus concentraciones sanguíneas se incrementan como respuesta al estrés metabólico, infecciones o inflamación. El primer reactante de fase aguda que se valoró sistemáticamente como marcador de riesgo cardiovascular fue el fibrinógeno^{13,88,89}. Se han publicado importantes estudios epidemiológicos en los que se relaciona la aparición de eventos cardiovasculares con valores elevados de fibrinógeno^{13,90,91}. En la actualidad se dispone de bastante información sobre el fibrinógeno y las variables que pueden influir en sus valores. Se sabe que las mujeres tienen una mayor concentración de fibrinógeno que los varones, incluso después de ajustar por otras variables con diferencias significativas entre sexos^{90,92-95}. También se sabe que el consumo de tabaco incrementa los valores de fibrinógeno^{90,96}, así como la edad^{90,93,97,98}, el índice de masa corporal^{90,93} y los fármacos anticonceptivos⁹⁹. También se ha descrito la existencia de una importante correlación entre fibrinógeno y otros reactantes de fase aguda, por ejemplo PCR⁹².

Proteína C reactiva

Sin embargo, recientemente, el interés de los investigadores se ha centrado en la PCR. El término PCR hace referencia a que en 1930 Tillet y Francis observaron que esta proteína reaccionaba con el polisacárido somático C de *Streptococcus pneumoniae*¹⁰⁰. Aunque no se conoce con detalle el papel de la PCR en el proceso inflamatorio, se ha sugerido que esta molécula tiene un papel importante, ya que reacciona con receptores de la superficie celular, facilitando la opsonización y fagocitosis. Asimismo, activa la vía clásica del complemento, se liga a fragmentos de cromatina, inhibe el crecimiento de células tumorales y su diseminación metastásica y, finalmente, modula las funciones celulares de los polimorfonucleados¹⁰¹.

La concentración elevada de PCR es un factor pronóstico independiente en pacientes con CI (síndromes coronarios agudos y angina estable), así como en pacientes con enfermedad vascular periférica^{14,15,102-107}. Dos estudios recientes^{14,17} han demostrado la existencia de una asociación significativa entre la PCR y el riesgo cardiovascular y han tenido, por tanto, un gran

impacto en la comprensión de los síndromes coronarios agudos.

Proteína C reactiva y riesgo cardiovascular en varones sanos

El estudio Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT)¹⁷ es un gran estudio con diseño anidado en el que se seleccionaron 12.866 varones aparentemente sanos, con un seguimiento de 17 años. En este estudio se consideraron controles los primeros 50 varones no fumadores que fallecieron por causa cardíaca, los primeros 100 fumadores que fallecieron, los primeros 35 infartos de miocardio en varones no fumadores y los primeros 65 infartos de miocardio en varones fumadores. Cada caso fue apareado con dos controles, ajustados por edad y tabaquismo. La concentración de PCR no fue diferente en los varones sin eventos (2,0 mg/l), con infarto de miocardio durante el seguimiento (2,7 mg/l) o que fallecieron por causa cardíaca (3,4 mg/l). Sin embargo, se observó una asociación significativa entre PCR y la mortalidad por cardiopatía isquémica: la razón de riesgo (*odds ratio*) de los varones en el cuartil más elevado de PCR comparado con los del cuartil más bajo fue de 2,8 (1,4-5,4). Fue el primer estudio que refirió una relación entre PCR y mortalidad por CI en individuos sanos.

Un segundo estudio sobre el valor pronóstico de la PCR en varones aparentemente sanos fue el Physicians Health Study (PHS)¹⁰². Se trata de un estudio con diseño anidado, con una población original de 22.071 varones, de los que 543 tuvieron eventos cardiovasculares (accidente cerebrovascular isquémico o hemorrágico, trombosis venosa profunda, infarto agudo de miocardio o muerte de origen cardíaco), y 543 controles ajustados por edad y tabaquismo. Ambos grupos habían sido aleatorizados previamente a recibir aspirina o placebo. Los varones aparentemente sanos que no tuvieron eventos (controles) tenían una PCR basal de 1,13 mg/l, comparado con 1,40 mg/l en los varones aparentemente sanos que tuvieron eventos cardiovasculares ($p < 0,001$). Considerando por separado el grupo de varones con infarto de miocardio, accidente cerebrovascular hemorrágico o isquémico, tenían valores basales de PCR significativamente más elevados que los varones sin eventos. Las concentraciones de PCR eran 1,51 mg/l, 1,36 mg/l y 1,38 mg/l, respectivamente. Los varones con trombosis venosa tuvieron una PCR basal de 1,26 mg/l, similar a los controles (1,13 mg/l), pero también similar a los varones con accidente cerebrovascular isquémico (1,36 mg/l). El riesgo relativo de presentar un infarto de miocardio en los varones con una concentración de PCR en el cuartil más elevado respecto el cuartil más bajo fue de 2,9. El uso de aspirina se asoció con una reducción significativa del número de eventos en los varones en el cuartil de PCR más elevado (reducción

de un 55,7%; $p = 0,02$), pero no en aquellos varones en el cuartil de PCR más bajo (13,9%; $p = 0,77$). Los autores concluyeron que la concentración basal de PCR predice el riesgo de futuros infartos de miocardio y accidente cerebrovascular, y que la asociación entre la aspirina y el riesgo de un primer infarto de miocardio está directamente relacionada con las concentraciones de PCR.

Proteína C reactiva y riesgo cardiovascular en pacientes con angina inestable

También se ha estudiado el papel pronóstico de la PCR en pacientes con síndromes coronarios agudos. Liuzzo et al¹⁴ estudiaron 32 pacientes con angina estable, 31 pacientes con angina inestable y 29 pacientes con infarto de miocardio. En este estudio se utilizó un valor de corte para establecer la categoría PCR alta/normal en 3 mg/l a partir del percentil 90 de una población control. Los pacientes con angina inestable tuvieron concentraciones de PCR mayores que los pacientes con angina estable. Los pacientes con angina inestable y PCR elevada tuvieron más episodios isquémicos ($4,8 \pm 2,5$ frente a $1,8 \pm 2,4$; $p = 0,004$), y tuvieron más posibilidades de fallecer durante el ingreso en la unidad coronaria que aquellos pacientes con PCR baja, por lo que concluyeron que ésta y la proteína A amiloide sérica tenían valor pronóstico. Posteriormente, estos hallazgos fueron confirmados en un estudio más amplio en el que se valoró el valor pronóstico de la PCR en la angina inestable¹⁰⁶. Este estudio incluyó a 965 pacientes con angina inestable o infarto de miocardio sin onda Q. Los pacientes que fallecieron durante el seguimiento tenían mayores concentraciones de PCR que los pacientes sin eventos. Sin embargo, sólo se observó una tendencia no significativa en los pacientes con PCR elevada en cuanto a la incidencia de nuevos infartos de miocardio en el grupo que falleció y/o tuvo un nuevo infarto de miocardio comparado con aquellos sin eventos durante el seguimiento ($7,5 [1-17]$ frente a $5 [0-14]$, respectivamente; $p = 0,067$). Al realizar un análisis de regresión logística con otros factores de riesgo, la PCR no fue un factor de riesgo independiente de muerte y/o infarto de miocardio.

Proteína C reactiva y riesgo cardiovascular en pacientes con angina estable

El primer gran estudio que valoró la relación entre la PCR y la angina estable fue el estudio ECAT (European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group)^{103,108}. En la primera publicación basada en dicho estudio¹⁰³ se incluyó una población de 3.043 pacientes, de los que el diagnóstico de entrada era angina inestable en 1.346 pacientes, angina estable en 1.026 y dolor atípico en 411. Sorprendentemente, no se menciona la existencia de

ninguna diferencia de las concentraciones de PCR entre los pacientes de los tres grupos. Los autores observaron que los pacientes con eventos tenían una PCR más elevada que los pacientes sin eventos (2,15 frente a 1,61; $p = 0,05$). Sin embargo, la PCR no fue un predictor independiente de eventos coronarios agudos cuando se ajustaba por el fibrinógeno. Los predictores independientes de eventos en este estudio fueron el fibrinógeno, el antígeno del factor von Willebrand, y el antígeno t-PA, pero no la PCR. En la segunda publicación¹⁰⁸, en la que se incluyeron 1.030 pacientes con angina inestable, 743 pacientes con angina estable y 326 pacientes con dolor torácico atípico no coronario, tampoco se observaron diferencias significativas en la concentración de PCR entre los tres grupos, de forma que se analizaron conjuntamente para valorar el valor de la PCR como marcador de eventos cardíacos. En este estudio se observó que los pacientes con antecedentes de infarto de miocardio tenían valores de PCR significativamente más altos que los pacientes sin infarto previo (1,82 mg/l frente a 1,65 mg/l, respectivamente). Asimismo, observaron que los pacientes sin afectación de vasos coronarios tenían una PCR de 1,43 mg/l, mientras que los pacientes con enfermedad de un vaso, dos vasos, o tres o más vasos tenían, respectivamente, PCR de 1,73, 1,90 y 1,86 mg/l ($p = 0,01$). En este estudio los pacientes con valores más elevados de PCR (quintil más alto de la población estudiada) tuvieron un riesgo más de dos veces superior de presentar un evento cardiovascular durante el seguimiento que el resto de la población. Por desgracia, en este trabajo sólo se ofrecieron los datos como riesgo relativo, sin que se ofrecieran las concentraciones absolutas de PCR en pacientes con y sin eventos. Aunque los estudios como el ECAT incluyeron a un gran número de pacientes con angina estable, ningún estudio ha investigado el valor predictivo de la PCR en una población constituida únicamente por pacientes con angina estable.

Proteína C reactiva y riesgo cardiovascular en combinación con otros parámetros

Recientemente se han publicado trabajos en los que se combina el papel de la PCR y de otras variables como la troponina T y el colesterol como marcadores de riesgo cardiovascular^{109,110}. En un trabajo en el que se combinaba la PCR y el colesterol total y el ligado a lipoproteínas de alta densidad (HDL) en varones aparentemente sanos, los valores de PCR añadían significación estadística al valor predictivo de los parámetros lipídicos en la determinación del riesgo de primer infarto de miocardio (el riesgo relativo de las variables lipídicas aumentaba de 2,1 [1,3-3,4] a 5,2 [2,5-10,5])¹¹⁰. En otro estudio en el que se valoraba el valor predictivo de la PCR combinada con la troponina T¹⁰⁹, los autores utilizaron un valor de corte para definir PCR patológicamente elevada. Dicho valor se obtuvo a partir del percentil 99 de la distribu-

ción de PCR en 104 controles normales en el laboratorio central de los autores. Este estudio demostró que la elevación de la PCR a su ingreso ($\geq 15,5$ mg/l) se asociaba significativamente con un incremento de la mortalidad a los 14 días en pacientes con angina inestable o infarto de miocardio sin onda Q (el 5,1 frente al 0%, respectivamente). Combinando PCR y troponina T positiva precoz se obtuvieron resultados similares. Según este estudio, la PCR es un potente predictor de mortalidad precoz, por sí sola o combinada con la troponina T, en pacientes con síndromes coronarios agudos.

Proteína C reactiva y riesgo cardiovascular en mujeres sanas

Los estudios mencionados hasta el momento se llevaron a cabo en gran parte o únicamente en varones. Recientemente se ha publicado el primer trabajo en el que se valoró el valor predictivo de la PCR en mujeres¹¹¹. En este trabajo se partió de una población de 28.263 mujeres aparentemente sanas que aportaron muestras basales de sangre. De ellas, en el análisis estadístico entraron 122 mujeres que sufrieron un primer evento cardiovascular (infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, ACTP, cirugía de revascularización coronaria o muerte coronaria) y 244 controles ajustados por edad y tabaquismo. Los autores observaron que tras ajustar por otros factores de riesgo, las mujeres con eventos cardiovasculares tienen valores de PCR significativamente mayores que las mujeres sin eventos durante el seguimiento, un resultado similar al obtenido en varones aparentemente sanos¹⁰².

¿LA PROTEÍNA C REACTIVA TIENE UTILIDAD EN LA TOMA DE DECISIONES CLÍNICAS EN EL PACIENTE INDIVIDUAL?

Los hallazgos sobre el valor de la PCR como marcador pronóstico de eventos coronarios son excitantes, y han aportado nuevos conocimientos sobre la patogenia de la aterosclerosis. Sin embargo, la utilización de la PCR como marcador de rutina en el paciente individual no es tan directa como sería deseable. Todavía hay varios problemas por resolver antes de su aplicación en la clínica.

Aunque los reactantes de fase aguda son marcadores sensibles de inflamación, tienen una especificidad muy baja. Es más, aunque se conocen diferentes funciones de la PCR, todavía no se ha determinado la relevancia de dichas funciones en la aterosclerosis. Por otro lado, los datos sobre el valor pronóstico de la PCR en los diferentes estudios se han obtenido utilizando diferentes ensayos bioquímicos. Estos ensayos supersensibles no suelen estar disponibles en un hospital no universitario, lo que constituye una limitación importante. Además, desde un punto de vista analítico se sabe que la variabi-

lidad intraindividual de los valores de PCR es muy elevada (entre el 42 y el 63%)^{112,113}.

La presentación de los resultados en los diferentes trabajos publicados hasta el momento no es homogénea. Podemos encontrar los resultados expresados como riesgo relativo (sin cifras absolutas de los valores de PCR en casos y controles), como PCR en pacientes con eventos comparados con los pacientes sin eventos, o como la significación estadística al comparar otros factores de riesgo en función de tener o no la PCR elevada. Otro problema es la falta de puntos de corte aceptados para definir los valores «normales» o «patológicos». Hasta la fecha se han publicado varios puntos de corte^{14,106,109}, generalmente basados en los datos de controles en los respectivos laboratorios. Sin embargo, los puntos de corte propuestos son entre 2 y 10 veces superiores a los de los varones aparentemente normales que desarrollaron un infarto de miocardio durante el seguimiento¹⁰².

La mayoría de estudios en los que se demuestra la existencia de diferencias estadísticamente significativas incluyeron un número considerable de pacientes, lo que subraya el hecho que las diferencias de la concentración de PCR entre pacientes con alto y bajo riesgo son realmente pequeñas. Si se aplicara la variabilidad intraindividual en los resultados publicados hasta el momento, muchos valores significativos entre casos y controles se solaparían entre sí. Por tanto, se hace difícil la extrapolación de estos resultados en grandes estudios a cada paciente. Es más, en el estudio FRISC (Fragmin during Instability in Coronary Artery Disease) no se observó que la elevación de la PCR fuera un factor de riesgo independiente de muerte y/o infarto de miocardio durante el seguimiento cuando se ajustó la PCR por otros factores de riesgo en un modelo de regresión logística. En un reciente metaanálisis¹¹⁴ se ha demostrado que el fibrinógeno, la PCR, la albúmina (con una relación inversa) y el recuento leucocitario están relacionados con el riesgo cardiovascular. Sin embargo, los autores se muestran escépticos en cuanto a la PCR, sugiriendo incluso la existencia de un sesgo de publicación¹¹⁵. Los autores concluyen que si los diferentes marcadores tienen una importante interrelación entre sí se podría sugerir que todos son simplemente indicadores generales de otros procesos subyacentes.

Como se ha demostrado en el caso del fibrinógeno, diversas variables como edad, tabaquismo, sexo, menopausia y enfermedades agudas pueden modificar algunos reactantes de fase aguda. En el caso de la PCR todavía no se sabe con certeza si todas estas variables modifican sus valores. Por tanto, todas ellas deben tenerse en consideración ante un valor de PCR en cada paciente.

Por todo ello, no sorprende que todavía no se haya hecho una utilización clínica de estos marcadores. Se necesita más investigación para poder establecer el papel real de la PCR en la aterosclerosis, y se deben se-

guir buscando marcadores de inflamación más específicos que puedan aportar información pronóstica más precisa en pacientes con CI.

BIBLIOGRAFÍA

1. American Heart Association. Heart and Stroke facts: 1996 Statistical Supplement. Dallas, American Heart Association, 1996; 1-23.
2. McGovern PG, Pankow JS, Shahar E, Doliszny KM, Folsom AR, Blackburn H et al, for the Minnesota Heart Survey Investigators. Recent trends in acute coronary heart disease mortality, morbidity, medical care, and risk factors. *N Engl J Med* 1996; 334: 884-890.
3. D'Angelo A, Selhub J. Homocysteine and thrombotic disease. *Blood* 1997; 90: 1-11.
4. Schwartzman RA, Cox ID, Poloniecki J, Crook R, Seymour CA, Kaski JC. Elevated plasma lipoprotein(a) is associated with coronary artery disease in patients with chronic stable angina pectoris. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 1.260-1.266.
5. Vita JA, Keaney JF Jr, Raby KE, Morrow JD, Freedman JE, Lynch S et al. Low plasma ascorbic acid independently predicts the presence of an unstable coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 980-986.
6. Hamsten A, De Faire U, Walldius G, Dahlen G, Szamosi A, Landou C et al. Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction. *Lancet* 1987; 2: 3-9.
7. Cambien F, Polrier O, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359: 641-644.
8. Neri Serneri GG, Prisco D, Martini F, Gori AM, Brunelli T, Poggesi L et al. Acute T-cell activation is detectable in unstable angina. *Circulation* 1997; 95: 1.806-1.812.
9. Danesh J, Collins R, Peto R. Chronic infections and coronary heart disease: is there a link? *Lancet* 1997; 350: 430-436.
10. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-142.
11. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective from the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801-809.
12. Van der Wal AC, Becker AE, Van der Loos CM, Das PK. Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation* 1994; 89: 36-44.
13. Kannel WB, Wolf PA, Castelli WP, D'Agostino RB. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. *J Am Med Assoc* 1987; 258: 1.183-1.186.
14. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Grillo RL, Rebuffi AG, Pepys MB et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1994; 331: 417-424.
15. Pepys MB, Baltz ML. Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. *Adv Immunol* 1983; 34: 141-212.
16. Lindberg G, Eklund GA, Gullberg B, Grandits GA, McCallum L, Tracy RP. Serum sialic acid concentration and cardiovascular mortality. *Br Med J* 1991; 302: 143-146.
17. Kuller LH, Eichner JE, Orchard TJ, Grandits GA, McCallum L, Tracy RP. The relation between serum albumin levels and risk of coronary heart disease in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Am J Epidemiol* 1991; 134: 1.266-1.277.
18. Reunanen A, Knekt P, Aaran R-K. Serum ceruloplasmin and the risk of myocardial infarction and stroke. *Am J Epidemiol* 1992; 136: 1.082-1.090.

19. Hansson G, Stemme V, Yokota T. Cytokines and the cardiovascular system. En: Remick DG, Friedland JS, editores. Cytokines. Nueva York: Marcel Decker Inc., 1997; 507-518.
20. Albelda SM, Smith CW, Ward PA. Adhesion molecules and inflammatory injury. *FASEB J* 1994; 8: 504-512.
21. Matsushima K, Oppenheim JJ. Interleukin 8 and MCAF: novel inflammatory cytokines inducible by IL1 and TNF. *Cytokine* 1989; 1: 2-13.
22. Taub DD, Oppenheim JJ. Review of the chemokine meeting. The Third International Symposium of Chemotactic Cytokines. *Cytokine* 1993; 5: 175.
23. Hansson GK, Jonasson L, Holm J, Clowes MK, Clowes A. Gamma interferon regulates vascular smooth muscle proliferation and Ia expression in vivo and in vitro. *Circ Res* 1988; 63: 712-719.
24. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995; 91: 2.844-2.850.
25. Loscalzo J. The relation between atherosclerosis and thrombosis. *Circulation* 1992; 86 (Supl 3): 95-99.
26. Rokitansky CV. A manual of Pathologic Anatomy. Londres: The Sydenham Society, 1852; 265-275.
27. Haust MD, Wyllie JC, More RH. Atherogenesis and plasma constituents: I. Demonstration of fibrin in the white plaque by fluorescent antibody technique. *Am J Pathol* 1964; 44: 255-267.
28. Kadish JL, Butterfield CE, Folkman J. The effects of fibrin on cultured vascular endothelial cells. *Tissue Cell* 1979; 33: 130-135.
29. Ishida T, Tanaka K. Effects of fibrin and fibrinogen degradation products on the growth of rabbit aortic smooth muscle cells in culture. *Atherosclerosis* 1982; 44: 161-174.
30. Jones A, Geczy CL. Thrombin and factor Xa enhance the production of interleukin-1. *Immunology* 1990; 71: 236-241.
31. Libby P, Warner SJC, Friedman GB. Interleukin-1: a mitogen for human vascular smooth muscle cells that induces the release of growth factor inhibitory prostanoids. *J Clin Invest* 1988; 888: 487-498.
32. Liotta LA, Goldfarb RH, Brundage R, Siegal GP, Terranova V, Garbisa S. Effect of plasminogen activator (urokinase), plasmin, and thrombin on glycoprotein and collagenous components of basement membrane. *Cancer Res* 1981; 41: 4.629-4.636.
33. Gross JL, Moscatelli D, Jaffer EA, Rifkin DB. Plasminogen activation and collagenase production by cultured capillary endothelial cells. *J Cell Biol* 1982; 95: 974-981.
34. Emeis J, Kooistra T. Interleukin-1 and lypopolysaccharide induce an inhibitor of t-PA in vivo and in cultured endothelial cells. *J Exp Med* 1986; 163: 1.860-1.866.
35. Hait PH, Burgess DR, Vitti GF, Hamilton JA. Interleukin-4 stimulates human monocytes to produce tissue-type plasminogen activator. *Blood* 1989; 74: 1.282-1.285.
36. Loscalzo J, Weinfeld M, Fless GM, Scanu A. Lipoprotein(a), fibrin binding, and plasminogen activation. *Arteriosclerosis* 1990; 10: 240-245.
37. Etingen OR, Hajjar DP, Hajjar KA, Harpel PC, Nachman RL. Lipoprotein(a) regulates plasminogen activator inhibitor-1 expression in endothelial cells: A potential mechanism for thrombogenesis. *J Biol Chem* 1991; 226: 2.459-2.465.
38. Mehta JL, Saldeen TGP, Rand K. Interactive role of infection, inflammation and traditional risk factors in atherosclerosis and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 1.217-1.225.
39. Miller MD, Krangel MS. Biology and biochemistry of the chemokines; a family of chemotactic and inflammatory cytokines. *Crit Rev Immunol* 1992; 12: 17-46.
40. Giri JG, Lomedico PT, Mizel SB. Studies on the synthesis and secretion of interleukin-1. I. A 33,000 molecular weight precursor for interleukin-1. *J Immunol* 1985; 134: 343-349.
41. Dinarello CA, Wolff SM. The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med* 1993; 328: 106-113.
42. Dinarello CA, Thompson RC. Blocking IL-1: interleukin 1 receptor antagonist in vivo and in vitro. *Immunol Today* 1991; 12: 404-410.
43. McMahan CJ, Slack JL, Mosley B, Cosman D, Lupton SD, Brunton LL et al. A novel IL-1 receptor, cloned from B cells by mammalian expression, is expressed in many cell types. *EMBO J* 1991; 10: 2.821-2.832.
44. Savage N, Puren AJ, Orencole SF, Ikejima T, Clark BD, Dinarello CA. Studies on IL-1 receptors on D10S T-helper cells: demonstration of two molecularly and antigenically distinct IL-1 binding proteins. *Cytokine* 1989; 1: 23-35.
45. Gauldie J, Richards C, Harnish D. Interferon beta/B cell stimulating factor type 2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells. *Proc Natl Acad Sci* 1987; 84: 7.251-7.261.
46. Howard M, Farrar J, Hilfiker M, Johnson B, Takatsu K, Hamaoka T et al. Identification of a T cell-derived B cell growth factor distinct from interleukin-2. *J Exp Med* 1982; 155: 914-923.
47. Paul WE. Interleukin-4: a prototypic immunoregulatory lymphokine. *Blood* 1991; 77: 1.859-1.870.
48. Te Velde AA, Huijbens RJ, Heije K, De Vries JE, Figdor CG. Interleukin-4 (IL-4) inhibits secretion of IL-1 β , tumor necrosis factor α , and IL-6 by human monocytes. *Blood* 1990; 76: 1.392-1.397.
49. Renkonen R, Mattila P, Majuri ML, Paavonen T, Silvennoinen O. IL-4 decreases IFN- γ -induced endothelial ICAM-1 expression by a transcriptional mechanism. *Scand J Immunol* 1992; 35: 525-530.
50. Kamijo R, Harada H, Matsuyama T, Bosland M, Gerecitano J, Shapiro D et al. Requirement for transcription factor IRF-1 in NO synthase induction in macrophages. *Science* 1994; 263: 1.612-1.615.
51. Kurt-Jones EA, Hamberg S, Ohara J, Paul WE, Abbas AK. Heterogeneity of helper/inducer T lymphocytes. I. Lymphokine production and lymphokine responsiveness. *J Exp Med* 1987; 166: 1.774-1.787.
52. Lamkhioued B, Gounni AS, Aldebert D, Delaporte E, Prin L, Capron A et al. Synthesis of type 1 (IFN gamma) and type 2 (IL-4, IL-5, and IL-10) cytokines by human eosinophils. *Ann NY Acad Sci* 1996; 796: 203-208.
53. De Waal Malefyt R, Figdor CG, Huijbens R, Mohan-Peterson S, Bennett B, Culppepper J et al. Effects of IL-13 on phenotype, cytokine production, and cytotoxic function of human monocytes. Comparison with IL-4 and modulation by IFN- γ or IL-10. *J Immunol* 1993; 151: 6.370-6.381.
54. Paludan SR, Lovmand J, Ellermann-Eriksen S, Mogensen SC. Effect of IL-4 and IL-13 on IFN- γ induced production of nitric oxide in mouse macrophages infected with herpes simplex virus type 2. *FEBS Lett* 1997; 414: 61-64.
55. Paludan SR. Interleukin-4 and interferon-gamma: the quintessence of a mutual antagonistic relationship. *Scand J Immunol* 1998; 48: 459-468.
56. Bauer J, Ganter U, Geiger T, Jacobshagen U, Hirano T, Matsuda T et al. Regulation of interleukin-6 expression in cultured human blood monocytes and monocyte derived macrophages. *Blood* 1988; 72: 1.134-1.140.
57. Turner M, Feldman M. Comparison of patterns of expression of tumour necrosis factor, lymphotoxin and interleukin-6 mRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 153: 1.144-1.151.
58. Zilberstein A, Ruggieri R, Korn GH, Revel M. Structure and expression of cDNA and genes for human interferon β 2, a distinct species inducible by growth-stimulatory cytokines. *EBMO* 1986; 5: 2.529-2.537.
59. Sironi M, Breviario F, Prozerpio P. IL-1 stimulates IL-6 production in endothelial cells. *J Immunol* 1989; 142: 549-555.
60. Coulie PG, Vanhecke A, Van Damme J, Cayphas S, Poupart P, De Wit L et al. High-affinity sites for human 26kDa protein (interleukin 6, B cell stimulatory factor-2, interferon β 2) different from those of type I interferon (alpha, beta) on lymphoblastoid cells. *Eur J Immunol* 1987; 17: 1.435-1.440.
61. Hirano T, Taga T, Yamasaki K. A multifunctional cytokine, IL-6/BSF-2 and its receptor In: Proceedings of the 17th

- Symposium of the Collegium Internationale «Allergy and Inflammation» 1988: From Gene Cloning to Clinical Practice.
62. Hibi M, Murakami M, Saito M, Hirano T, Taga T, Kishimoto T. Molecular cloning and expression of an IL-6 signal transducer, gp130. *Cell* 1990; 63: 1.149-1.157.
 63. Wognum AW, Van Gils FCJM, Wagemaker G. Flow cytometric detection of receptors for interleukin-6 on bone marrow and peripheral blood cells of humans and Rhesus monkeys. *Blood* 1993; 81: 2.036-2.043.
 64. Lopez M, Maroc N, Kerangueven F, Bardin F, Courcoul M, Lavezzi C et al. Coexpression of the genes for interleukin 6 and its receptor without apparent involvement in the proliferation of acute myeloid leukaemia cells. *Exp Haematol* 1991; 19: 797-803.
 65. Muraguchi A, Hirano T, Tang B, Matsuda T, Horii Y, Nakajima K et al. The essential role of B-cell stimulatory factor 2 (BSF-2/IL-6) for the terminal differentiation of B-cells. *J Exp Med* 1988; 167: 332-344.
 66. Takai Y, Wong GG, Clark SC, Burakoff SJ, Hermann SH. B cell stimulatory factor-2 is involved in the differentiation of cytotoxic T lymphocytes. *J Immunol* 1988; 140: 508-511.
 67. Leary AG, Ikebuchi K, Hirai Y, Wong GG, Yang Y-C, Clark SC et al. Synergism between interleukin-6 and interleukin-3 in supporting proliferation of human hematopoietic stem cells: comparison with interleukin-1 α . *Blood* 1988; 71: 1.759-1.763.
 68. Gauldie J, Richards C, Northemann W, Fey G, Baumann H. IFN β /BSF2/IL-6 is the monocyte-derived HSF that regulates receptor-specific acute phase gene regulation in hepatocytes. *Ann NY Acad Sci* 1989; 557: 46-57.
 69. Tracey KJ, Vlassara H, Cerami A. Cachectin/tumour necrosis factor. *Lancet* 1989; 1: 1.122-1.126.
 70. Tartaglia LA, Goeddel DV. Two TNF receptors. *Immunol Today* 1992; 13: 151-153.
 71. Aggarwal BB, Eessalu TE, Hass PE. Characterisation of receptors for human tumour necrosis factor and their regulation by gamma interferon. *Nature* 1985; 318: 665-669.
 72. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumours. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 3.666-3.670.
 73. Tracey KJ, Lowry SF, Fahey TJ III, Albert JD, Fong Y, Hesse D et al. Cachectin/tumour necrosis factor induces lethal shock and stress hormone response in the dog. *Surg Gynecol Obstet* 1987; 164: 415-422.
 74. Trichieri G, Perussia B. Immune interferon: a pleotropic lymphokine with multiple effects. *Immunol Today* 1985; 6: 131-136.
 75. Balkwill FR. Interferons. *Lancet* 1989; 1: 1.060-1.063.
 76. Farrar MA, Schreiber RD. The molecular cell biology of interferon-gamma and its receptor. *Ann Rev Immunol* 1993; 11: 571-611.
 77. Vilcek J, Gray PW, Rinderknecht E, Sevastopoulos CG. Interferon γ : a lymphokine for all seasons. *Lymphokines* 1985; 11: 1-32.
 78. Basham TY, Merrigan TC. Recombinant interferon-gamma increases HLA-DR synthesis and expression. *J Immunol* 1983; 130: 1.492-1.494.
 79. Moore KW, O'Garra A, De Waal Malefyt R, Vieira P, Mosmann TR. Interleukin-10. *Annu Rev Immunol* 1993; 11: 165-190.
 80. Chomarat P, Rissoan M-C, Banchereau J, Miossec P. Interferon gamma inhibits interleukin 10 production by monocytes. *J Exp Med* 1993; 177: 523-527.
 81. Zdanov A, Schalk-Hihi C, Gustchina A, Tsang M, Weatherbee J, Wlodawer A. Crystal structure of interleukin-10 reveals the functional dimer with an unexpected topological similarity to interferon γ . *Structure* 1995; 3: 591-601.
 82. De Waal Malefyt R, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, De Vries JE. Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med* 1991; 146: 3.444-3.451.
 83. Koj A. Acute-phase reactants. En: Allison AC, editor. *Structure and function of plasma proteins*. Londres: Plenum Press, 1974; 1: 73-125.
 84. Gauldie J, Saunder DN, McAdam KPWJ, Dinarello CA. Purified interleukin-1 (IL-1) from human monocytes stimulated acute-phase protein synthesis by rodent hepatocytes in vitro. *Immunology* 1987; 60: 203-207.
 85. Baumann H, Onorato V, Gauldie J, Jahreis GP. Distinct sets of acute phase plasma proteins are stimulated by separate human hepatocyte-stimulating factors and monokines in rat hepatoma cells. *J Biol Chem* 1987; 262: 9.756-9.768.
 86. Castell JV, Gómez Lechón MJ, David M, Fabra R, Trullenque R, Heinrich PC. Acute-phase response of human hepatocytes: regulation of acute-phase protein synthesis by interleukin-6. *Hepatology* 1990; 12: 1.179-1.186.
 87. Mackiewicz A, Speroff T, Ganapathi MK, Kushner I. Effects of cytokine combinations on acute phase protein production in two hepatoma cell lines. *J Immunol* 1991; 146: 3.032-3.037.
 88. Wilhelmssen L, Svärdsudd K, Korsan-Bengsten K, Larsson B, Welin L, Tibblin G. Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. *N Engl J Med* 1984; 311: 501-505.
 89. Neumann FJ, Katus HA, Hoberg E, Roebuck P, Braun M, Haupt HM et al. Increased plasma viscosity and erythrocyte aggregation: indicators of an unfavourable clinical outcome in patients with unstable angina. *Br Heart J* 1991; 66: 425-430.
 90. Krobot K, Hense HW, Cremer P, Eberle E, Keil U. Determinants of plasma fibrinogen: relation to body weight, waist-to-hip ratio, smoking, alcohol, age, and sex. Results from the second MONICA Augsburg Survey, 1989-1990. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 1992; 12: 780-788.
 91. Meade TW, Mellows S, Brozovic M, Miller GJ, Chakrabarti RR, Worth WR et al. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal result of the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1986; 2: 533-537.
 92. Haverkate F, Thompson SG, Duckert F. Haemostasis factors in angina pectoris: relation to gender, age and acute-phase reaction. Results of the ECAT Angina Pectoris Study Group. *Thromb Haemost* 1995; 73: 561-567.
 93. Balleisen L, Bailey J, Epping PH, Schulte H, Van de Loo J. Epidemiological study on factor VII, factor VIII and fibrinogen in an industrial population: I. Baseline data on the relation to age, gender, body-weight, smoking, alcohol, pill-using, and menopause. *Thromb Haemost* 1985; 54: 475-479.
 94. Conaln MG, Folsom AR, Finch A, Davis CE, Sorlie P, Marcucci G et al. Associations of factor VII and von Willebrand factor with age, race, sex, and risk factors for atherosclerosis. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Thromb Haemost* 1993; 70: 380-385.
 95. Siegert G, Bergmann S, Jaross W. Influence of age, gender and lipoprotein metabolite parameters on the activity of plasminogen activator inhibitor and the fibrinogen concentration. *Fibrinolysis* 1992; 6 (Supl 3): 47-51.
 96. Kannel WB, D'Agostino RB, Belanger AJ. Fibrinogen, cigarette smoking, and risk of cardiovascular disease: insights from the Framingham Study. *Am Heart J* 1987; 113: 1.006-1.010.
 97. Moser KM, Hajjar CC. Age and disease-related alterations in fibrinogen-euglobulin (fibrinolytic behavior). *Am J Med Sci* 1966; 251: 536-544.
 98. Meade TW, Chakrabarti R, Haines AP, North WR, Stirling V. Characteristics affecting fibrinolytic activity and plasma fibrinogen concentrations. *Br Med J* 1979; 1: 153-156.
 99. Lowe GDO, Drummond MM, Forbes CD, Barbenel JC. Increased blood viscosity in young women using oral contraceptives. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 137: 840-842.
 100. Gotschich EC. C-reactive protein. A historical overview. *Ann NY Acad Sci* 1989; 557: 9-18.
 101. Schultz DR, Arnold PI. Properties of four acute phase proteins: C-reactive protein, serum amyloid A protein, alpha 1-acid glycoprotein, and fibrinogen. *Semin Arthritis Rheum* 1990; 20: 129-147.

102. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Russell PT, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997; 336: 973-979.
103. Haverkate F, Thompson SG, Pyke SDM, Gallimore JR, Pepys MB, for the European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable patients. *Lancet* 1997; 349: 462-466.
104. De Beer FC, Hind CR, Fox KM, Allan RM, Maseri A, Pepys MB. Measurement of serum C-reactive protein concentration in myocardial ischemia and infarction. *Br Heart J* 1982; 47: 239-243.
105. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of developing peripheral vascular disease. *Circulation* 1998; 97: 425-428.
106. Toss H, Lindahl B, Siegbahn A, Wallentin L, for the FRISC Study Group. Prognostic influence of increased fibrinogen and C-reactive protein levels in unstable coronary artery disease. *Circulation* 1997; 96: 4.204-4.210.
107. Tracy RP, Lemaitre RN, Psaty BM, Ives DG, Evans RW, Cushman M et al. Relationship of C-reactive protein to risk of cardiovascular disease in the elderly. Results from the cardiovascular Health Study and the Rural Health Promotion Project. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1.121-1.127.
108. Thompson SG, Kienast J, Pyke SDM, Haverkate F, Van de Loo JCW. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. *N Engl J Med* 1995; 332: 635-641.
109. Morrow DA, Rifai N, Antman EM, Weiner DL, McCabe CH, Cannon CP et al. C-reactive protein is a potent predictor of mortality independently of and in combination with troponin T in acute coronary syndromes: A TIMI 11A substudy. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 1.460-1.465.
110. Ridker PM, Glynn RJ, Hennekens CH. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. *Circulation* 1998; 97: 2.007-2.011.
111. Ridker PM, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. *Circulation* 1998; 98: 731-733.
112. Macy EM, Hayes TE, Tracy RP. Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy subjects: implications for reference intervals and epidemiological applications. *Clin Chem* 1997; 43: 52-58.
113. Clark GH, Fraser CG. Biological variation of acute phase proteins. *Ann Clin Biochem* 1993; 30: 373-376.
114. Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease. *JAMA* 1998; 279: 1.477-1.482.
115. Easterbrook PJ, Berlin JA, Gopalan R, Matthews DR. Publication bias in clinical research. *Lancet* 1991; 337: 867-872.