

## El ensayo FLUVACS en perspectiva

Enrique P. Gurfinkel

Unidades Coronaria y de Dolor Torácico. Instituto de Cardiología y Cirugía Cardiovascular de la Fundación Favaloro. Buenos Aires. Argentina.

El primer ensayo prospectivo sobre vacunación antigripal en pacientes con síndromes coronarios agudos (estudio FLUVACS) demostró que su aplicación durante la época invernal, sumada a la medicación estándar, fue efectiva para reducir el riesgo de muerte y eventos cardiovasculares mayores en pacientes con infarto agudo de miocardio.

En el presente análisis se resumen la racionalidad y los resultados del estudio FLUVACS para evaluar la eficacia de la vacunación antigripal en pacientes tanto durante la fase aguda como quiescente. Se parte del concepto de que el factor inmunológico desempeña un particular papel en el curso de la enfermedad coronaria.

La vacunación antigripal fue efectiva para reducir la incidencia del acontecimiento final combinado (muerte, reinfarto no fatal o angina recurrente que requiriera revascularización urgente) en la población originariamente tratada, así como en la mayoría de los subgrupos, a los 6 meses de seguimiento. El modelo estadístico de regresión reveló un mayor beneficio con la vacunación antigripal en pacientes sin elevación del segmento ST, en los enfermos mayores de 65 años de edad, en los no fumadores y en pacientes con calificación de riesgo TIMI > 6. Al año de seguimiento se apreció una tendencia similar, que fue reproducida en la misma población 12 meses más tarde en un diseño peculiar. Con el fin de no interferir con individuos de origen étnico diferente que pudieran presentar una respuesta inmunológica e inflamatoria divergente, se invitó a los individuos que originalmente habían sido vacunados a que no lo hicieran en el invierno de 2002, y a vacunarse a los individuos que sirvieron de control durante la fase aguda.

Los resultados favorables que se describen en el presente artículo indicarían que el uso de la vacunación antigripal como prevención secundaria en pacientes con infarto agudo de miocardio, así como en pacientes que superaron la fase aguda, podría beneficiar a un amplio grupo de enfermos con este diagnóstico, con independencia de su riesgo clínico basal.

**Palabras clave:** *Vacunación antigripal. Enfermedad coronaria. Aterosclerosis.*

### The FLUVACS Trial in Perspective

The first clinical prospective trial giving a single dose of anti-flu vaccination during the winter season in acute coronary syndrome patients (The FLUVACS Trial) determined a significant benefit in terms of reduction of death and subsequent cardiovascular adverse events. The purpose of this analysis is to explain the rationale of the study, the role of the immune system and the observed benefits of vaccination over a 2-year follow-up. The incidence of the primary end point, cardiovascular death at 1 year, was significantly lower in patients receiving vaccination than in controls by intention-to-treat analysis. Using a regression logistic statistical model, the major beneficial effect was mainly detected among patients older than 65 year-old, with ST segment elevation, and those having a high risk score for subsequent adverse events. In the winter of 2002, applying a particular methodological design of the study, the original population who participated in the trial, and survived, was re vaccinated as follows: those who were originally allocated as controls became the active group, and those who participated in the active arm remained unvaccinated. The combined end points of total death plus myocardial infarction 1 year later were reduced among those in the vaccinated group as compared with those who remain unvaccinated.

This strategy was clearly effective for reducing major ischemic events. In such sense, influenza vaccination may reduce the risk of death in patients admitted with acute coronary syndromes. This cost-effective medical strategy could be applied as a tool for secondary prevention in patients with coronary artery disease.

**Key words:** *Anti-flu vaccination. Coronary artery disease. Atherosclerosis.*

En el apéndice A se relaciona los autores y principales investigadores participantes del Estudio FLUVACS.

Correspondencia: Dr. E.P. Gurfinkel.  
Fundación Favaloro.  
Avda. Belgrano, 1746. 1093 Capital Federal. Argentina.  
Correo electrónico: epgurfinkel@ffavaloro.org

### INTRODUCCIÓN

La presencia de una reacción inmunológica o, tal vez, de una actividad celular hipersensible de caracte-

rísticas inmunológicas ante ciertos estímulos que ocurren en cualquier estadio evolutivo de las placas ateroscleróticas, parece sustentarse en un robusto cuerpo de evidencias.

Desde el punto de vista del desarrollo filogenético del hombre, la evolución inmunológica ha acompañado a la supervivencia del ser humano con un sentido de reparación constante de las estructuras biológicas que son afectadas durante la vida.

Los mecanismos inespecíficos de defensa son preexistentes o innatos antes de que cualquier agente penetre en el organismo, y pertenecen al universo inmunológico de los seres invertebrados. Se trata de una serie de estructuras primitivas de reconocimiento y destrucción de diversos orígenes. La capacidad de respuesta de las células que intervienen en esta categoría no resulta afectada por el contacto sucesivo con un determinado antígeno. En este sentido, podemos decir que no desarrollan «memoria» al no estar constituidas por células linfocitarias. Contrariamente a éstos, los mecanismos específicos son adquiridos y propios de las especies vertebradas. Se desarrollan tras la exposición a agentes extraños y poseen la exquisita capacidad de «individualizar» y «memorizar» cada uno de ellos al enriquecerse de células inmunológicas.

El hecho de que haya un amplio polimorfismo genético que controla el sistema inmunológico indica una suficiente diversidad inmunológica que tiene como objetivo garantizar una adecuada supervivencia. Más aún, de una única célula linfocitaria T puede encontrarse más de 1 millón de epítopes peptídicos diferentes<sup>1</sup>.

La extensa y excesiva concentración de linfocitos T, que se presentan distribuidos en las lesiones ateroscleróticas, hace presumir que acompañan a la evolución del fenómeno, más que a su génesis. Sin embargo, la simple presencia de esta estirpe celular en acumulaciones, dentro de las primeras «lesiones» detectables en las paredes vasculares de fetos en la vida intrauterina, puede convertirse en ese curioso círculo vicioso donde el origen del proceso se confunde con su conclusión<sup>2</sup>.

Dado que la inmunidad innata cuenta como célula efectora clásica al macrófago, y la inmunidad adquirida a los linfocitos T y B, es comprensible que este «círculo» se cierre junto al de la inflamación. De esta manera, y curiosamente, este mismo universo celular participa en ambos escenarios, el inmunológico y el inflamatorio. La sola presencia de este grupo peculiar de células implica una cierta predisposición a reconocer estructuras ajenas a él y reaccionar en consecuencia. Si así fuere, podríamos definir como antígeno a cualquier molécula que pueda ser reconocida por receptores de los linfocitos y, por tanto, ser capaz de activarlos. La delicadeza del sistema permite incluso señalar la región del antígeno que es reconocida por el receptor linfocitario, el cual recibe el nombre de determinante antigénico o epítipo.

Al analizar modelos experimentales podemos observar que se requieren pocas semanas para desarrollar en un animal de experimentación una placa aterosclerótica. Basta con el simple hecho de alimentarlo con las concentraciones apropiadas de colesterol, contrariamente a las placas del ser humano que precisan al menos 40 años para su evolución, y pueden generarse con independencia de los factores de riesgo tradicionales. Durante el transcurso de ese tiempo, una innumerable cantidad de estímulos aceleran o retardan esta progresión.

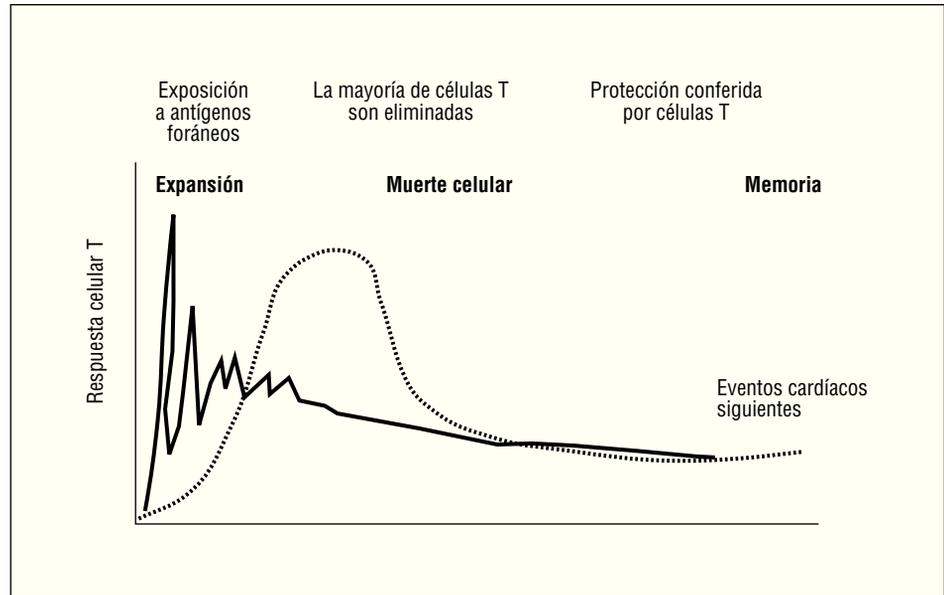
Entendamos por un momento que algunos de estos estímulos sean considerados, dentro de la presente hipótesis, como potenciales antígenos, capaces de agredir la estructura y arquitectura de la pared vascular. Por ejemplo, entendemos como antígeno la carga infecciosa que portamos, sea por la intervención y deposición de complejos inmunológicos, sea por la sola presencia de estructuras proteínicas bacterianas y/o virales.

De ser así, varios estímulos antigénicos se complementan con una respuesta celular mediada por receptores presentes en sus membranas. Para ello es necesaria la presencia de ciertos tipos celulares que, de manera simultánea, recrean una respuesta inmunitaria perfectamente regulada. Así, diferentes estirpes celulares comienzan a diferenciarse e identificarse durante las sucesivas etapas evolutivas de las placas. Como ejemplo, las células CD4+, que se encuentran normalmente junto a un importante número de macrófagos y, en circunstancias poco establecidas, expresan en su superficie moléculas del sistema mayor de histocompatibilidad humana (HLA Clase II [DR]) que sugieren una significativa activación celular.

Este diálogo celular debe explicarse en un contexto más extenso. Dado que la aterosclerosis es un fenómeno universal que afecta a toda la humanidad y las complicaciones sintomáticas derivadas de ella son una rareza en la población (una tasa de 200 casos mortales por cada 100.000 habitantes), podemos inferir que ambos brazos del sistema inmunitario, tanto el innato dominado por células macrofágicas con una potencial capacidad inflamatoria, como el adquirido constituido por linajes linfocitarios preparados para la reparación, encuentran un equilibrio biológico con más frecuencia de lo que presumimos en la amplia mayoría de los seres humanos.

Observemos este fenómeno desde otra posición, como sucede cuando se produce un accidente aterosclerótico sintomático. Con independencia de los hallazgos y las relaciones anatomopatológicas con el evento acontecido, la recurrencia de eventos isquémicos sucesivos es habitual y extremadamente frecuente. Cerca de un 20% de los casos presenta isquemia postinfarto de miocardio en un lapso relativamente cercano. La pregunta es por qué.

Una especulación aceptable consiste en el hecho de que más de una placa rota o con adelgazamiento



**Fig. 1.** Respuesta primaria inmunológica.

de la capa fibrosa que recubre su nódulo calcificado, o aun con una capa erosionada, coexista con la que motiva el ingreso del enfermo, y sea esta otra lesión la causante de los nuevos síntomas. Otra idea aceptable es presumir que la «curación» o reparación de la placa enferma se prolongue más allá de lo supuesto a pesar de una estrategia farmacológica acertada.

Este marco facilita el entendimiento de la relocalización y el reclutamiento de células «inmunoinflamatorias». Es bien conocido que un gran porcentaje de linfocitos T dentro de las placas ateroscleróticas se encuentran «preactivados» en relación con otras células T circulantes. Además, una pequeña proporción de ellas expresa ciertos antígenos de proliferación celular o coestimulación de receptores, indicando que se encuentran respondiendo a la presencia de otros estímulos antigénicos. Si desplazáramos estos linfocitos sobre curvas de concentración y tiempo, veríamos muy claramente que esta estirpe se agrupa con mucha rapidez después de algún estímulo poderoso, agrupamiento que tras un tiempo se sigue de una pendiente descendente y señala un decremento del número de linfocitos debido al ingreso a una fase apoptótica, hasta alcanzar una concentración representada por una meseta prolongada durante varias semanas, lo que confiere una respuesta inmunitaria constante y estable (fig. 1).

Ahora bien, si esta curva de linfocitos y su presencia acumulativa en la sangre circulante, analizada en función del tiempo, se asociara junto con otra curva que representara la tasa de eventos cardiovasculares que se suceden temporalmente tras un accidente coronario agudo, veríamos una superposición interesante: la acumulación de eventos isquémicos posteriores se diluye en la medida en que la inmunidad celular alcanza su meseta estable (fig. 1).

Una eventual especulación sobre estos desplazamientos celulares durante la crisis isquémica podría atribuirse a una concentración mayoritaria, previamente establecida, de estructuras macrofágicas en la región subendotelial, que conservan una importante y masiva actividad inflamatoria mientras se inicia el reagrupamiento linfocitario<sup>3</sup>.

Adicionalmente a esta información patológica, está claro que hay muy pocos linfocitos de la estirpe B en las mismas placas ateroscleróticas, aunque su número es muy considerable en segmentos vasculares, como la adventicia. Esta advertencia histológica ha puesto de manifiesto que la placa aterosclerótica podría iniciarse, o al menos progresar, desde este segmento vascular y no necesariamente desde la luz arterial, como se ha entendido históricamente<sup>4</sup>.

En 1998 propusimos<sup>5</sup> un modelo de señales de intercambio entre células linfocitarias como las macrofágicas (o presentadoras de antígenos), entendiendo que la carga infecciosa a la que se encuentra expuesto el ser humano de manera cotidiana actuará como instigador proinflamatorio, y lo documentamos mediante la asociación de anticuerpos frente a estructuras bacterianas y la concentración plasmática de proteína C reactiva<sup>6</sup>. Esta tangible reacción sistémica fue originariamente documentada por nuestro grupo en 1994<sup>7</sup>.

Por tanto, con el fin de conocer el papel inmunológico en el universo clínico, nos propusimos realizar el primer ensayo aplicado en una población altamente susceptible de accidentes cardiovasculares durante condiciones temporales diferentes: a) de inestabilidad clínica en primer lugar, y b) de estabilidad sintomática posteriormente. Para ello, aplicamos una única vacunación antigripal intramuscular en el curso del invierno de 2001 y entre los supervivientes de un síndrome coronario agudo en el invierno de 2002, y seguimos su

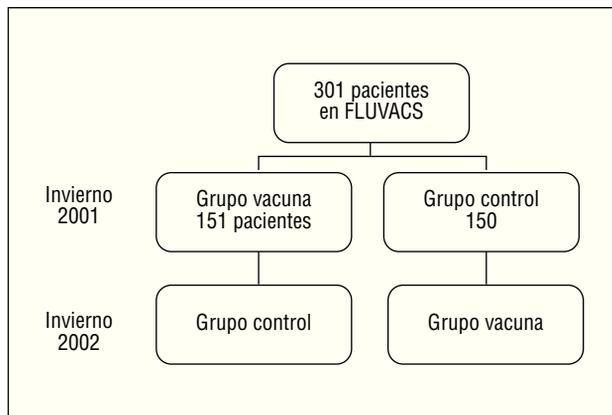


Fig. 2. Diseño del proyecto FLUVACS.

evolución clínica hasta el año 2003, con un consecuente análisis del coste y la eficacia en este esquema de prevención secundaria de la enfermedad aterosclerótica.

## DISEÑO GLOBAL DEL PROYECTO FLUVACS

Esta hipótesis fue planteada en 2 escenarios recreados en una misma población. El primero, publicado previamente en el estudio «FLU Vaccination Acute Coronary Síndromes» (FLUVACS)<sup>8</sup>, tuvo un diseño prospectivo, multicéntrico con un grupo control, en el que se incluyó a los pacientes aleatoriamente durante el período invernal del año 2001. Se formaron 2 grupos. El grupo 1, clínico, estaba constituido por 200 pacientes con infarto agudo de miocardio (IAM), con elevación del segmento ST en el trazado electrocardiográfico o sin elevación del segmento ST, admitidos en las primeras 72 h de ocurrido el evento<sup>8</sup>.

Con el fin de obtener datos de poblaciones heterogéneas, dentro del marco del mismo período de vacunación sugerido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) participaron hospitales de la Capital Federal, de la provincia de Buenos Aires, así como de Córdoba y Entre Ríos.

En el grupo 2, también denominado grupo angioplastia, se incluyó a un total de 101 pacientes cuyo criterio de inclusión fue un procedimiento de angioplastia coronaria transluminal percutánea (ACTP) programada.

Los criterios de exclusión para el grupo 2 fueron: ausencia de antecedentes previos de inestabilidad anginosa, cirugía de revascularización miocárdica, y angioplastia o evidencias de necrosis tisular previas.

Además, se excluyó a los pacientes con evidencias de insuficiencia hepática o renal, insuficiencia cardíaca congestiva (clase IV de Killip), enfermedad terminal o que tuvieran cualquier impedimento para realizar el seguimiento, y también los que tenían contraindicaciones para la vacunación antigripal.

Cada uno de estos grupos (1 y 2) fue dividido de forma aleatoria en 2 subgrupos de igual número de pacientes, uno de los cuales recibió una única inyección intramuscular de vacuna antigripal (grupo A), formándose de esta manera los grupos 1A y 2A; el otro subgrupo sirvió de control (grupo B) y se constituyó en los grupos 1B y 2B.

Las cepas recomendadas para el invierno de 2001 fueron: 0,5 ml del virus A/Moscow/10/99-like, A/New Caledonia/20/99 (H1N1)-like virus, y el virus AB/Sichuan/379/99-like.

Todos los pacientes con IAM recibieron la estrategia médica recomendada habitualmente. La inclusión se inició en mayo de 2001 y finalizó en los primeros días de septiembre de 2001.

El objetivo final primario para este ensayo fue la muerte de causa cardíaca<sup>8</sup>. El objetivo final secundario combinado, y especificado al inicio del trabajo analizado a los 6 meses de seguimiento, fue la suma de muerte cardiovascular, infarto recurrente no fatal y angina de pecho que requiriese una pronta revascularización miocárdica<sup>8</sup>. El mismo objetivo final combinado se analizó al año de seguimiento.

El segundo escenario se desarrolló entre los pacientes supervivientes al primer año de seguimiento que se encontraban en un estado anginoso estable, contrario al ocurrido previamente. Se les invitó a participar durante el invierno de 2002 de forma tal que los que recibieron la vacuna antigripal en el estudio previo no fueron vacunados en el curso del nuevo período invernal, mientras que los supervivientes que no fueron vacunados originariamente recibieron la vacuna durante la campaña antigripal 2002. Así, fueron seguidos desde el 2002 hasta el 2003 (fig. 2), con independencia de su agrupación original (grupo clínico de infarto [1], o grupo intervenido por angioplastia [2]).

En ese período invernal, la OMS sugirió la indicación de una composición idéntica a la previa, por lo que se inocularon las mismas cepas (0,5 ml del virus A/Moscow/10/99-like, A/New Caledonia/20/99 (H1N1)-like virus, y el AB/Sichuan/379/99-like).

Los objetivos finales en este lapso fueron, a diferencia del anterior, la combinación de mortalidad total, definida como la de origen isquémico señalada con anterioridad, u otra causa de la enfermedad coronaria, e infarto no fatal, definido como en el escenario de 2001-2002.

## RESULTADOS DEL PROYECTO FLUVACS

En los 2 grupos se incluyó a un total de 301 pacientes. El grupo 1 comprendió a 200 enfermos con IAM con y sin elevación del segmento ST (100 de estos pacientes recibieron la vacuna antigripal por vía intramuscular [grupo 1A] y 100 pacientes sirvieron de control [grupo 1B]). En el grupo 2 se incluyó a 101 pacientes para recibir una ACTP programada, de los cuales 51

fueron vacunados (grupo 2A) y 50 no (grupo 2B), en el período comprendido entre mayo de 2001 y septiembre de 2001 (período invernal con mayor incidencia de infecciones por el virus de la influenza)<sup>9</sup>.

La vacunación antigripal se llevó a cabo en la población de la siguiente manera: en mayo de dicho año se inoculó a 80 pacientes, que correspondían al 53% del total; en junio y a 35 enfermos (23%); en julio y a 21 (14%); en agosto y a 12 (8%) y a principios de septiembre y a 3 (2%).

En el escenario agudo ocurrido en 2001, los resultados a los 6 meses de seguimiento fueron los siguientes:

– Grupo 1 clínico: el objetivo final primario (muerte cardiovascular) y el objetivo final combinado (suma de muerte cardiovascular, infarto recurrente no fatal y angina recurrente grave) ocurrieron en el 2 y 11% de los pacientes del grupo A (vacunados [1A]) frente al 8 y 23% del grupo B (grupo control [1B]), respectivamente. El riesgo relativo (RR) del grupo 1A frente al del grupo 1B para muerte cardiovascular fue de 0,25, con un intervalo de confianza (IC) del 95% de 0,07-0,086 y un valor estadístico de  $p = 0,001$ . Para el objetivo final combinado entre el grupo vacunado comparado el control los resultados fueron: RR = 0,51; IC del 95%, 0,30-0,86;  $p = 0,009$  (tabla 1).

La reducción del RR por la vacunación antigripal fue significativamente mayor en los varones, los mayores de 65 años de edad, los que presentaron un IAM sin supradesnivel del segmento ST, con enzimas elevadas en el momento del ingreso, entre los no diabéticos, no fumadores, sin historia de revascularización previa y con una puntuación de riesgo aplicado, habitualmente denominado TIMI<sup>10</sup>, > 6 puntos (población clínicamente definida como de elevado riesgo).

Los pacientes con diagnóstico de IAM sin supradesnivel del segmento ST presentaron una reducción del RR de 0,13 con un IC del 95% de 0,03-0,52 y un valor de  $p = 0,003$ .

En comparación con los 84 enfermos clasificados como con IAM con supradesnivel del segmento ST, la reducción del RR fue de 1,0, con un IC del 95% de 0,42-2,38.

– Grupo 2 con angioplastia transluminal coronaria programada: cabe comentar que en este grupo no se evidenció un beneficio claro (objetivo final combinado del 28% en el grupo vacuna [2A] frente al 26% en el grupo control [2B];  $p = 0,26$ ).

Los resultados a los 12 meses de seguimiento fueron los siguientes: de los 301 pacientes ingresados originalmente, 15 (5%) murieron en los primeros 6 meses posteriores a su inclusión en el estudio; 9 (3%) pacientes no continuaron el seguimiento por diferentes razones, ajenas al estudio. Completaron el año de seguimiento 292 pacientes, de los cuales el 96% pertenecía al grupo de vacunación activa y el 98% al grupo control.

TABLA 1. Resultados

Objetivos finales primarios a 6 meses				
	Grupo vacuna (n = 151)	Grupo control (n = 150)	RR	p
Muerte	3 (2)	12 (8)	0,25 (0,07-0,86)	0,01
Muerte, infarto no fatal e isquemia recurrente	17 (11)	34 (23)	0,50 (0,29-0,85)	0,009

En este punto debemos aclarar que no hubo diferencias en el tratamiento médico asignado a los grupos. Todos recibieron aspirina, el 64% fue tratado con bloqueadores beta y el 34% con estatinas.

Dos pacientes asignados al grupo control recibieron la vacuna por indicación de su médico de cabecera. Dos enfermos murieron por otras razones no atribuibles a causas cardiovasculares.

La incidencia de muerte de origen cardíaco en el grupo asignado a la vacunación durante el año de seguimiento fue significativamente menor que la del grupo control (el 6 frente al 17%, respectivamente;  $p = 0,002$ ; RR = 0,34; IC del 95%, 0,17-0,71). No se documentaron muertes de origen no cardiovascular.

A los 12 meses de la aleatorización se necesitaron menos procedimientos de revascularización en el grupo asignado a recibir la vacuna (5%) con respecto a los que no la recibieron (9%).

El triple objetivo final combinado ocurrió en el 22% de los pacientes vacunados, a diferencia del 37% del grupo control (tasa de riesgo de 0,59; IC del 95%, 0,4-0,86;  $p = 0,004$ ).

En el grupo de ACTP programada no se apreció una tendencia favorable o desfavorable hacia ningún subgrupo, ya que el objetivo final combinado fue del 28% para los vacunados frente al 26% del grupo control ( $p = 0,26$ ).

### El «registro» FLUVACS a los 2 años de seguimiento

De los 301 pacientes incluidos en el período 2001, 257 sobrevivieron al año y 256 aceptaron ingresar en el registro. Las conclusiones de esta fase se realizaron en 230 pacientes, en los que fue posible realizar el seguimiento hasta los 2 años. Estos pacientes fueron invitados a cruzarse de grupo, lo que dio origen a un nuevo escenario durante el invierno de 2002 de la siguiente manera: los pacientes fueron divididos en 2 nuevos grupos:

– El denominado ahora grupo A comprendió un total de 64 pacientes que originalmente pertenecieron al grupo control (1B y 2B) del período 2001 y que aceptaron ser vacunados en el período invernal de 2002,

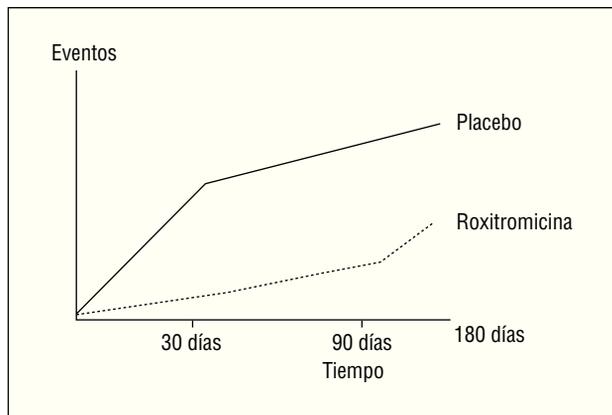


Fig. 3. Impacto inicial y los 6 meses de seguimiento en el ensayo ROXIS<sup>20,21</sup>.

junto a 52 pacientes que fueron revacunados por indicación de sus médicos de cabecera, en una situación de estabilidad clínica con respecto a la enfermedad coronaria aguda que presentaron en el año previo (fig. 2).

– Paralelamente se compuso un nuevo, grupo denominado ahora como B, de 43 pacientes que pertenecieron originariamente al grupo activo de 2001 (1A y 2A), a los que se sumó un total de 72 pacientes que se negaron voluntariamente, o por sugerencia de sus médicos de cabecera, a ser revacunados durante ese período mencionado de 2002.

El objetivo final combinado (muerte total e infarto de miocardio no fatal) en este registro a 1 año de seguimiento mostró una disminución a favor del grupo de vacunados frente al virus de la influenza en comparación con el grupo control, también denominado B (3,5 frente a 9,7%;  $p = 0,05$ ; RR = 0,36; IC del 95%, 0,12-1,09).

A los 2 años, la incidencia de muerte como punto final analizado separadamente mostró una tendencia a la disminución en el grupo A en comparación con el grupo control (1,7 frente a 5,3%;  $p = 0,14$ ; RR = 0,33; IC del 95%, 0,07-1,59).

A los 2 años de seguimiento se consideró la tasa de mortalidad, entendida como la población expuesta y superviviente a los 2 años, y se dividió a la población del estudio según la variable edad, con puntos de corte en pacientes de 65 o más años y menos de 65 años, y según la vacunación, en vacunados y no vacunados. En este análisis demográfico se observa una tasa de muerte por cada 100 individuos de 3,7% en el grupo no vacunado de menos de 65 años, frente al 1,37% en los vacunados del mismo rango etario, mientras que en la población de 65 años o más, la tasa de mortalidad se eleva al 5,8% en los no vacunados y al 1,52% en los vacunados. Esto denota el mayor beneficio de la vacunación, principalmente en el grupo mayor de 65 años.

## INMUNIDAD, VACUNACIÓN Y CARDIOPATÍA ISQUÉMICA. APORTACIONES DEL PROYECTO FLUVACS

En el presente estudio probamos, por primera vez, que la aplicación de la vacunación antigripal durante la fase aguda del IAM se asoció de forma significativa a la reducción de la combinación de eventos cardiovascular subsecuentes, particularmente la mortalidad.

La misma población, como testigo de sí misma 1 año después, redujo su tasa de complicaciones sólo cuando fue vacunada en condiciones distintas de las previas, lo que sugiere una relación inesperada entre la estimulación inmunológica y la secuencia de accidentes cardíacos, teniendo en cuenta que no se constataron muertes por influenza.

Desde un punto de vista fisiopatológico, en el escenario inmunológico es indudable que los linfocitos B se activan de manera habitual ante antígenos específicos, pero raramente de forma espontánea. Esta activación hace evidente una rápida respuesta humoral que sigue, por ejemplo, a una vacunación, sea ésta específica o no, y refleja una migración inmediata de subpoblaciones de esta estirpe capaces de responder al estímulo inducido<sup>11</sup>.

Como ejemplo, una situación mejor conocida se produce cuando el sistema inmunológico es activado en el marco de una «mimetización» molecular. Este fenómeno requiere una secuencia peptídica presente en una estructura infecciosa homóloga a otra secuencia peptídica que resida en el propio ser humano.

Esta circunstancia facilita una respuesta inmunológica inmediata con el fin de neutralizar el antígeno patógeno que ha ingresado en el organismo. Sin embargo, las células inmunológicas no lo diferenciarán de las estructuras tisulares que contienen moléculas similares y, por ende, son afectadas de forma similar, con lo que se establece una «enfermedad autoinmune»<sup>12</sup>.

Si esta situación mimética entre estructuras propias y ajenas al ser humano implica la participación de linfocitos T, el antígeno debería «copiar» la forma del epítipo de la estructura humana a fin que el linfocito reaccione con una doble agresión, tanto hacia el antígeno foráneo como al propio<sup>13</sup>.

Una importante evidencia a favor de la interpretación del círculo inmunológico en la aterosclerosis es la presencia de anticuerpos contra la forma oxidada de las lipoproteínas de baja densidad (LDL)<sup>14</sup>.

La oxidación es un prerrequisito para la rápida acumulación de estas lipoproteínas en las células espumosas. Una vez modificadas, las LDL pueden ser entendidas como antígenos capaces de presentar epítopos reactivos inmunológicamente<sup>15</sup>.

Si los instigadores de la pared arterial son múltiples, es razonable entender que también pueden ser múltiples las zonas donde la progresión aterosclerótica sea

intensa. La presunción de que puede haber un mayor número de lesiones vasculares o incluso complicadas con rotura, data de la década de los ochenta<sup>16</sup> y supone una reacción generalizada, tal como sucede frente a un proceso inmunológico.

En 1999 analizamos cuidadosamente un marcador indirecto de inflamación e inmunidad en el contexto de pacientes sometidos a un estudio angiográfico por un síndrome coronario agudo: la neopterina<sup>17</sup>. Los valores de esta molécula, liberada por monocitos y macrófagos después de la estimulación por medio del interferón gamma, se encontraron incrementados de manera significativa en los individuos con una extensa agresividad aterosclerótica en el árbol vascular, como un mayor número de lesiones severamente esteatóticas.

Recientemente, mediante ultrasonidos intravasculares se pudo entender el comportamiento de estas múltiples placas, varias de ellas simultáneamente rotas y con formación trombótica asociada<sup>18</sup>. La coexistencia de esta anatomía es habitual y no circunstancial y, en ella, la determinación plasmática de marcadores bioquímicos, tanto de trombosis como inflamación o aun inmunidad, es generada de manera simultánea. Estos hallazgos anatomopatológicos nos permiten entender que el proceso aterosclerótico afecta a todo el sistema vascular a pesar de que el origen embriológico de los segmentos habitualmente involucrados, como las arterias coronarias, la aorta y las carótidas, o los vasos arteriales más periféricos, son por completo distintos.

El modelo inmunológico que sugerimos en 1998<sup>17</sup>, en el cual propusimos una serie de estímulos como potenciales instigadores de la activación de células macrofágicas, y que reproducimos en el 2001<sup>18</sup> al determinar un exacerbado consumo de ciertos anticuerpos antiglicoproteínicos por los propios antígenos presentes en la pared arterial, corroborando así un juego inmunológico vascular, fue mejor representado por Hannson et al<sup>19</sup> en 2002.

A partir del trabajo de estos autores se puede entender la interacción de linfocitos y macrófagos como un vínculo mediado por «estímulos antigénicos»: la oxidación de moléculas de LDL, proteínas de reacción ante el incremento de la temperatura (HSP) y, nuevamente, la carga infecciosa.

Este comportamiento cíclico lo observamos en la aterosclerosis. En 1997 reproducimos estos fenómenos mediante la utilización de antibióticos macrólidos en enfermos coronarios<sup>20</sup>. En este primer ensayo internacional en enfermos con un síndrome coronario agudo se concluyó que la prescripción de un tratamiento no convencional durante la fase activa durante un lapso de tiempo suficiente, como cubrir la tasa de recurrencia isquémica en los primeros 30 días que siguen a la isquemia, era eficaz para atenuar los potenciales eventos subsecuentes. Sin embargo, una vez producida la supresión farmacológica con el antibiótico roxitromici-

na, el beneficio se extendió durante 60 días hasta que, bruscamente, las curvas de supervivencia dejaron de mostrar diferencias significativas<sup>21</sup> (fig. 3).

Al analizar este ensayo desde la perspectiva de un componente inmunológico en el desarrollo del fenómeno aterosclerótico pudimos notar que el antibiótico es capaz de ejercer una acción moduladora en el sistema celular implicado.

El reciente ensayo de Cercec et al<sup>22</sup> reprodujo nuestros hallazgos. Si bien la población fue similar, el tiempo de tratamiento con azitromicina fue excesivamente breve, menos de 1 semana. A pesar de que las curvas no divergieron al analizar los datos de los 6 meses, el antibiótico macrólido prescrito separó de forma significativa al grupo activo del grupo placebo durante los 60 días iniciales, de la misma manera que en el ensayo nacional<sup>20</sup>.

Estas evidencias vuelven a apoyar la hipótesis de que el sistema inmunológico puede ser controlado al interferir con estos antígenos a los que hacemos referencia. De hecho, tanto en nuestro estudio como en el ensayo con azitromicina, los marcadores plasmáticos de inflamación se diluyeron de manera muy parcial, lo que indica que no necesariamente estamos ante un efecto antiinflamatorio inmediato. Si se aceptan estos estímulos como efectivamente antigénicos, podríamos suponer que es posible bloquearlos con la utilización de vacunas.

En el caso de las LDL oxidadas, el grupo de Shah<sup>23</sup> consiguió reproducir en un modelo animal la secuencia peptídica de la apolipoproteína B 100, transportadora de las moléculas de LDL, hasta obtener de 101 péptidos 2 grupos aminoacídicos con un 75 y 85% de homología con la apo B 100. El modelo utilizado permitió reinyectar a estos animales con este tipo de vehículo inmunogénico. Los animales habían sido alimentados fuertemente con grasas saturadas con el fin de analizar antes del sacrificio la concentración plasmática de colesterol. Ésta no varió con ninguna de las 2 «vacunas» en relación con el placebo. Sin embargo, al sacrificar a los animales, el porcentaje de placas ateroscleróticas fue francamente menor en el grupo que recibió una vacunación un 85% homóloga con la apo B 100.

El mecanismo puede también ser entendido con la indicación de una vacuna antiviral. En 2002, Caliguri et al<sup>24</sup> consiguieron, en un modelo de experimentación animal de ratones apo E deficientes, agravar la aterosclerosis mediante esplenectomía. Una vez recuperados los órganos, fueron extraídas colonias de linfocitos de la estirpe B y reaplicadas a ratones jóvenes apo E deficientes también, lo que les confirió una inmunidad protectora. En estos ratones se redujo significativamente la velocidad de agravamiento aterosclerótico en relación con los controles. Este moderno aviso y señal del papel inmunológico refuerza los primeros estudios del papel de estas células y la enfermedad.

En otro diseño atractivo, Dimaguya et al<sup>25</sup> también obtuvieron una respuesta celular B atenuada y modulada después de dañar con un balón las arterias de ratones inmunodeficientes.

Como hemos mencionado con anterioridad, los linfocitos B se activan de manera habitual ante antígenos específicos. Esta activación hace evidente una rápida respuesta humoral que sigue a una vacunación y refleja una migración celular inmediata. En el caso de los anticuerpos contra el virus de la influenza, éstos pueden ser hallados en la sangre periférica 1 semana después de la vacunación antigripal<sup>26</sup>.

En el caso particular de la aterosclerosis, el primer esbozo de este fenómeno fue indirectamente analizado en un modelo animal. En 1978, Fabricant et al<sup>27</sup> infectaron a gallinas con el virus herpes. Las gallinas desarrollaron rápidamente lesiones ateroscleróticas similares a las humanas. De manera inmediata, Minick et al<sup>28</sup> comprobaron que si las inmunizaban con una carga viral atenuada se prevenía el desarrollo de la aterosclerosis.

Más allá de este marco de investigación sistemática, y desde una visión histórica, la asociación entre aterosclerosis e infección se remonta a principios del siglo pasado. La teoría de Osler<sup>29</sup>, con excepción de algunos informes aislados, fue ignorada durante mucho tiempo. Sin embargo, en la actualidad se dispone de numerosa información que sugiere una clara asociación entre los procesos infecciosos agudos o crónicos y la enfermedad aterosclerótica. Diferentes estudios epidemiológicos han señalado un incremento en el número de sujetos que desarrollan IAM y muerte por causa cardiovascular durante los inviernos y las epidemias de gripe por virus influenza<sup>30,31</sup>.

Más recientemente, Naghavi et al<sup>32</sup> encontraron esta asociación en un estudio observacional en pacientes coronarios seguidos en la Universidad de Texas durante el período invernal de octubre de 1997 a marzo de 1998. Estos investigadores encontraron que en los enfermos que fueron vacunados contra la gripe se redujo significativamente el riesgo de padecer un nuevo evento adverso en relación con los que no lo hicieron. De forma similar, Lavalley et al<sup>33</sup> hallaron que los pacientes vacunados durante la campaña epidemiológica con este fin presentaron menores tasas de accidentes cerebrovasculares en el invierno de 1999 y 2000 en París, Francia.

Incluso hay evidencias adicionales entre la infección viral y la reestenosis tras una ACTP. Recientemente, Epstein demostró que los pacientes en los que se realiza este procedimiento y presentan títulos plasmáticos elevados de IgG para citomegalovirus, tienen una tasa de reestenosis a los 6 meses de seguimiento superior a la de los que presentan títulos bajos. Su teoría, junto con la de Speir<sup>34,35</sup>, que tiene como objetivo explicar el papel del citomegalovirus en la reestenosis, propone que tras producirse una «infección viral latente», un

detonante —la angioplastia, en este caso— desencadenaría la reactivación de la replicación viral y facilitaría así la proliferación celular.

Los resultados iniciales del estudio FLUVACS<sup>8</sup>, obtenidos a los 6 meses de seguimiento de la aplicación única de 1 dosis de vacuna antigripal con la cepa recomendada por la Organización Mundial de la Salud<sup>36</sup> para el invierno transcurrido en el hemisferio sur de 2001, demostraron una reducción significativa de la incidencia del triple objetivo final (muerte, reinfarto no fatal y angina recurrente que requiere rehospitalización) en los pacientes que recibieron la vacunación antigripal comparados con los del grupo control.

Sin embargo, está claro que los pacientes hospitalizados por síndromes coronarios agudos forman un grupo heterogéneo con diferentes características basales.

Distintas variables clínicas, bioquímicas y modificaciones electrocardiográficas se asocian con peor pronóstico en pacientes con síndrome coronario agudo. La estratificación de riesgo de acuerdo con las características basales podría optimizar la conducta en estos pacientes y serviría para definir estrategias terapéuticas en los pacientes que presentan IAM, incluso en los que potencialmente podrían beneficiarse con la aplicación preventiva de una vacuna contra la gripe. Con los datos del estudio FLUVACS<sup>8</sup> se realizó un análisis de subgrupos para evaluar el pronóstico y el tratamiento con la vacuna antigripal en diferentes pacientes con IAM. Los subgrupos fueron definidos por la presencia o ausencia de varias características clínicas y electrocardiográficas en el momento del ingreso, algunas de las cuales se asocian con un riesgo clínico mayor. Estos datos fueron consistentes y mostraron un beneficio particular en la mayoría de los pacientes que recibieron el tratamiento activo<sup>37</sup>. Al año de seguimiento volvieron a superponerse las curvas a favor de los pacientes vacunados<sup>38</sup>.

La repetición de la experiencia ocurrida en el invierno de 2001 fue realizada en el transcurso del invierno de 2002 dentro del «registro» FLUVACS<sup>39</sup>. En ésta, los enfermos que sobrevivieron al accidente vascular original y permanecieron en seguimiento durante el primer año fueron invitados a mantenerse como controles los que originalmente fueron vacunados, y vacunados los que no lo fueron al inicio. La tasa de eventos subsiguientes (infarto no fatal más muerte cardiovascular) fue significativamente menor entre los protegidos (3,5 frente a 9,7%;  $p = 0,05$ ; IC del 95%, 0,12-1,09). Ante esta circunstancia, asumimos hipotéticamente que la carga infecciosa que aportamos puede inducir una respuesta autoinmunológica.

## CONCLUSIÓN

La aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria. Esta sentencia histopatológica ha sido reforzada por la factibilidad de obtener moléculas solubles en el plas-

ma sanguíneo de estos enfermos. La reproducción de este fenómeno en modelos animales hace de esta propuesta casi una sentencia.

Sin embargo, nadie puede desdeñar el hecho de que células similares a las implicadas en el fenómeno inflamatorio constituyan el cuerpo del sistema inmunológico. Ni nadie puede excluir, por el momento, señales tan llamativas como la abundante población de linfocitos B en la adventicia. Ni aun ignorar la progresión de las placas hacia, y no solamente desde, la luz vascular.

El hecho de que la OMS sugiera la vacunación antigripal en adultos mayores de 50 años y que los enfermos coronarios agudos sean consecuencia de una evolución progresiva de una enfermedad crónica, hacen que la tasa de complicaciones mortales sea significativamente mayor a la supuesta<sup>40</sup>. Por tanto, no debería ignorarse que la inocuidad de esta actitud terapéutica a la luz de su impacto económico haya sido resaltada por el Honorable Senado de la Nación Argentina<sup>41,42</sup>, con el fin de notificar a las autoridades sanitarias su beneficio social y su implicación científica en el campo de la aterosclerosis.

## BIBLIOGRAFÍA

- Mason D. A very high level of crossreactivity is an essential feature of the T-cell receptor. *Immunol Today*. 1998;19:395-404.
- Napoli C, Darmiento FP, Mancini FP, Postiglione A, Witztum JL, Palumbo G, et al. Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced in maternal hypercholesterolemia. *J Clin Invest*. 1997;100:2680-90.
- Hothkamp MA, Van Der Wal AC, De Boer OJ, Van Der Loos CM, De Boer PA, Moorman AF, et al. Interleukin 15 expression in atherosclerotic plaques: an alternative pathway for T-cell activation in atherosclerosis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001; 21:1208-13.
- Rey FG, Pagano PJ. The reactive adventitia: fibroblast oxidase in vascular function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:1962-71.
- Gurfinkel E, Bozovich G. *Chlamydia pneumoniae*: inflammation and instability of the atherosclerotic plaque. *Atherosclerosis*. 1998;140: S31-4.
- Gurfinkel E, Rozlosnik J, Bozovich G. IgG antibodies to chlamydial and mycoplasma infection plus C-reactive protein related to poor clinical outcome in unstable angina. *Arch Inst Mex Cardiol*. 1997;67:462-8.
- Gurfinkel E, Daroca A, Duronto E, Manos E, Mautner B. Respuesta leucocitaria en la angina inestable. Relación entre los factores tiempo, angiografía y aspirina. *Inter Cardiology*. 1994;3:79-82.
- Gurfinkel E, León de la Fuente R, Mendiz O, Mautner B. Influenza vaccine pilot study in acute myocardial infarction and planned percutaneous coronary intervention. The Flu Vaccination Acute Coronary Syndromes (FLUVACS) Study Group. *Circulation*. 2002;105:2143-8.
- Bridges CB, Fukuda K, Uyeki TM, Cox NJ, Singleton JA; Centers of Disease Control and Prevention; Advisory Committee on Immunization Practices. Prevention and control of influenza. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2002;51(RR-3):1-31.
- Branwald E, Atman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheithi M, Hodman JS, et al. ACC/AHA Guidelines for the management of patients with unstable angina and no-ST segment elevation myocardial infarction. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients with Unstable Angina). *J Am Coll Cardiol*. 2000;36:970-1062. Fe de erratas en: *J Am Coll Cardiol*. 2000;38:294-5.
- Cox RJ, Brokstad KA, Zuckerman MA, Wood JM, Haaheim LR, Oxford JS. An early humoral response in peripheral blood following parenteral inactivated influenza vaccination. *Vaccine*. 1994; 12:993-9.
- Fujinami RS. Virus-induced autoimmunity through molecular mimicry. *Ann N Y Acad Sci*. 1988;540:210-7.
- Wraith DC, Goldman M, Lambert PH. Vaccination and autoimmune disease: what is the evidence? *Lancet*. 2003;362:1659-66.
- Inoue T, Uchida T, Kamishirado H, Takayanagi K, Hayashi T, Morooka S. Clinical significance of antibody against oxidized low density lipoprotein in patients with atherosclerotic coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37:775-9.
- Erkkila AT, Narvanene O, Lehto S, Uusitupa MI, Yla-Herttuala S. Autoantibodies against oxidized low-density lipoprotein and cardiolipin in patients with coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:204-9.
- Thomas AC, Knapman PA, Krikler DM, Davies MJ. Community study of the causes of natural sudden death. *BMJ*. 1988;297: 1453-6.
- Gurfinkel E, Scirica BM, Bozovich G, Macchia A, Mautner B. Neopterin levels and the aggressiveness of atherosclerosis in coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 1999;83:515-8.
- Lagens R, Viggiano V, Gurfinkel E. Anti-human skeletal muscle glycolipid antibodies in unstable angina. *Am Heart J* 2001;141: 780-3.
- Hansson GK, Libby P, Schonbeck U, Yan ZQ. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ Res*. 2002;91:281-91.
- Gurfinkel E, Bozovich G, Daroca M, Beck E, Mautner B. Randomised trial of roxithromycin in non-Q-wave coronary syndromes: ROXIS Pilot Study. ROXIS Study Group. *Lancet*. 1997;350:404-7.
- Gurfinkel E, Bozovich G, Livellara S, Testa E, Beck E, Mautner B. Antibiotic effects on unstable angina. The Final Report of the ROXIS Trial. *Eur Heart J*. 1999;20:121-7.
- Cerzec B, Shah PK, Noc M, Zahger D, Zeymer U, Matetzky S, et al. Effect of short-term treatment with azithromycin on recurrent ischaemic events in patients with acute coronary syndrome in the Azithromycin in Acute Coronary Syndrome (AZACS) trial: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2003;361:809-13.
- Shah PK. Presented at the First Symposium on Influenza and Cardiovascular Disease, Science, Practice, and Policy held at Texas Heart Institute, Houston, 26 de abril 26 de 2003; p. 35-7.
- Caliguri G, Nicoletti A, Poirier B, Hansson GK. Protective immunity against atherosclerosis carried by B cells of hypercholesterolemic mice. *J Clin Invest*. 2002;109:721-4.
- Dimaguya P, Cercek B, Oguchi S, Fredrikson GN, Yano J, Shah PK, et al. Inhibitory effect on arterial injury-induced neointimal formation by adoptive B-cell transfer in rag-1 knockout mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:644-9.
- Brokstad KA, Cox RJ, Olofsson J, Jonsson R, Haaheim LR. Parenteral influenza vaccination induces a rapid systemic and local immune response. *J Infect Dis*. 1995;171:198-203.
- Fabricant CG, Fabricant J, Litrenta MM, Minick CR. Virus-induced atherosclerosis. *J Exp Med*. 1978;148:335-40.
- Minick CR, Fabricant CG, Fabricant J, Litrenta MM. Atherosclerosis induced by infection with a herpesvirus. *Am J Pathol*. 1979; 96:673-706.
- Osler W. Diseases of the arteries. En: Osler W, editor. *Modern medicine: its practice and theory*. Philadelphia: Lea and Febiger; 1908; p. 429-47.

30. Woodhouse PR, Khaw KT, Plummer M, Foley A, Meade TW. Seasonal variations of plasma fibrinogen and factor VII activity in the elderly: winter infections and death from cardiovascular disease. *Lancet*. 1994;343:435-9.
31. Tillett HE, Smith JWG, Gooch CD. Excess deaths attributable to influenza in England and Wales: age at death and certified cause. *Int J Epidemiol*. 1983;12:344-52.
32. Naghavi M, Barlas Z, Siadaty S, Naguib S, Madjid M, Casscells W. Association of influenza vaccination and reduced risk of recurrent myocardial infarction. *Circulation*. 2000;102:3039-45.
33. Lavalley P, Perchaud V, Gauier-Bertrand M, Grabli D, Amarengo P. Association between influenza vaccination and reduced risk of brain infarction. *Stroke*. 2002;33:513-8.
34. Epstein SE, Speir E, Zhou YF, Guetta E, Leon M, Finkel T. The role of infection in restenosis and atherosclerosis: focus on cytomegalovirus. *Lancet*. 1996;348:S13-6.
35. Speir E, Modali R, Huang ES, Leon MB, Shawl F, Finkel T, et al. Potential role of human cytomegalovirus and p53 interaction in coronary restenosis. *Science*. 1994;265:391-4.
36. World Health Organization. Communication Disease Surveillance and Response (CRL). *Weekly Epidemiological Record*. 2000;75:41 [consultado 18/3/02]. Disponible en: <http://www.who.int/disease/flu/index.html> www.who.int/disease/flu/index.html.
37. León de la Fuente R, Gurfinkel EP, Toledo D, Mautner B, por el Grupo de Estudio FLUVACS. Vacunación antigripal en pacientes con síndromes coronarios agudos: beneficio del tratamiento en diferentes subgrupos. *Rev Esp Cardiol*. 2003;56:949-54.
38. Gurfinkel E, De la Fuente R, Mendiz O, Toledo D, Mautner B. Flu vaccination in acute coronary syndromes and planned percutaneous coronary interventions (FLUVACS Study). One-year follow-up. *Eur Heart J*. 2004;25:25-31.
39. Gurfinkel E, De la Fuente R. Two-year follow-up of the FLU Vaccination Acute Coronary Syndromes (FLUVACS) Registry. *Tex Heart Inst J*. 2004;31:28-32.
40. Nichol KL, Nordin J, Mulloly J, Lask R, Fillbrandt K, Iwane M. Influenza vaccination and reduction in hospitalizations for cardiac disease and stroke among the elderly. *N Engl J Med*. 2003;348:1322-32.
41. Resolución Senado de la Nación Argentina 18/03/2004: Salud y Deporte. Disponible en: [http://proyectos.senado.gov.ar/web/owa/web\\_proce.verexpediente](http://proyectos.senado.gov.ar/web/owa/web_proce.verexpediente)
42. Sec 5 N 280/04, 9/03/2004, Senado de la Nación.

## APÉNDICE A

### Centros participantes del estudio FLUVACS y principales investigadores:

Bahía Blanca, Hospital Leónidas Lucero: José Santo Pinto, MD; Gustavo Piñero. Capital Federal, Hospital Durán: Edgardo Beck, MD; Instituto Argentino de Diagnóstico y Tratamiento: Luis de la Fuente, MD; Julio Argentieri, MD; ICYCC Fundación Favaloro: Enrique P. Gurfinkel, MD; Branco Mautner, MD. Córdoba, Sanatorio Allende: Julio Bono, MD. Rosario, Sanatorio Parque: Rubén Piraino, MD.