

La Revista Latinoamericana de Hipertensión publica su segundo número del año 2010. En este número se publica varios trabajos, el primero del grupo de Valmore Bermudez sobre habito tabáquico y enfermedad cardiovascular, el segundo del grupo de Valmore Bermúdez sobre infección, inflamación y enfermedad aterosclerotica y el tercero un artículo original del grupo del Dr. Bonfante sobre los hallazgos de deaminasa de adenosina aumentada en pacientes con infarto agudo de miocardio.

Dr. Manuel Velasco

Dr. Rafael Hernández-Hernández

Editores en Jefe

Dra. María José Armas de Hernández

Editora Ejecutiva

R

Revista Latinoamericana de Hipertensión

Editores

Editores en Jefe

Manuel Velasco (Venezuela)
Rafael Hernández Hernández (Venezuela)

Editor Ejecutivo

María José Armas (Venezuela)

Editores Asociados

Alcocer Luis (México)
Brandao Ayrton (Brasil)
Feldstein Carlos (Argentina)
Israel Anita (Venezuela)
Israilli Zafar (Estados Unidos)
Levenson Jaime (Francia)
Parra José (México)
Ram Venkata (Estados Unidos)

Comité Editorial

Arciniegas Enrique (Venezuela)
Amodeo Celso (Brasil)
Baglivo Hugo (Argentina)
Bermúdez Valmore (Venezuela)
Briceño Soledad (Venezuela)
Contreras Freddy (Venezuela)
Contreras Jesús (Venezuela)
Crippa Giuseppe (Italia)
Armas María Cristina (Venezuela)
Juan De Sanctis (Venezuela)
Escobar Edgardo (Chile)
Gamboa Raúl (Perú)
Kaplan Norman (Estados Unidos)
Lares Mary (Venezuela)
Lenfant Claude (Estados Unidos)
López Jaramillo Patricio (Colombia)
López Nora (Venezuela)
López Rivera Jesús (Venezuela)
Manfredi Roberto (Italia)
Marahnao Mario (Brasil)
Monsalve Pedro (Venezuela)
Morr Igor (Venezuela)
Ponte Carlos (Venezuela)
Rodríguez de Roa Elsy (Venezuela)
Sánchez Ramiro (Argentina)
Soltero Iván (Venezuela)
Tellez Ramón (Venezuela)
Valdez Gloria (Chile)
Vidt Donald (Estados Unidos)
Zanchetti Alberto (Italia)

Sumario - Volumen 5, N° 2, 2010

Hábito tabáquico y enfermedad cardiovascular

Valmore Bermúdez, Luis Acosta, Daniel Aparicio, Freddy Finol,
Roger Canelón, Ali Urdaneta, Magaly Bustamante,
Miguel Aguirre, Manuel Velasco

19

Infección, inflamación y enfermedad vascular aterosclerótica

Bermúdez Valmore, Martínez Yubraska, Finol Freddy, Aparicio Daniel,
Acosta Luis, Rojas Edward, Canelón Roger, Manuel Velasco

28

Increased adenosine deaminase serum activity in patients with acute myocardial infarction

Yulan Torrellas, Mary Carmen Pérez-Aguilar, Belkis Ramos,
Antonio Franco Useche, Alba Ibarra, Claudina Rodríguez-Bonfante,
Rafael Bonfante-Cabarcas

38

COPYRIGHT

Derechos reservados. Queda prohibida la reproducción total o parcial de todo el material contenido en la revista sin el consentimiento por escrito de los editores.

Volumen 4, N° 4, 2009
Depósito Legal: pp200602DC2167
ISSN: 1856-4550

Sociedad Latinoamericana de Hipertensión
Dirección: Escuela de Medicina José María Vargas,
Cátedra de Farmacología, piso 3. Esq. Pirineos.
San José. Caracas-Venezuela. Telfs. 0212-5619871
E-mail: latinoamericanadehipertension@gmail.com
www.lash-hipertension.org

Comercialización y Producción:
Felipe Alberto Espino
Teléfono: 0212-881.1907/ 0416-811.6195 / 0412-363.4540
E-mail: felipeespino7@gmail.com

Diseño de portada y diagramación:
Mayra Gabriela Espino
Teléfono: 0412-922.25.68
E-mail: mayraespino@gmail.com

Alcance y Política Editorial

La Revista Latinoamericana de Hipertensión es una publicación biomédica periódica, arbitrada, de aparición trimestral, destinada a promover la productividad científica de la comunidad nacional e internacional en toda el área del Sistema Cardiovascular; la divulgación de artículos científicos y tecnológicos originales y artículos de revisión por invitación del Comité Editorial.

Está basada en la existencia de un Comité de Redacción, consistente en Editores en Jefe, Editores asociados y Comité Editorial. Los manuscritos que publica pueden ser de autores nacionales o extranjeros, residentes o no en Venezuela, en castellano o en inglés (los resúmenes deben ser en inglés y castellano). Los manuscritos deben ser trabajos inéditos.

La Junta Directiva de la Revista no se hace responsable por los conceptos emitidos en los manuscritos. Los autores deben aceptar que sus manuscritos no se hayan sometidos o hayan publicados en otra revista. El manuscrito debe ir acompañado de una carta solicitud firmada por el autor principal y el resto de los autores responsables del mismo.

Forma de Preparación de los Manuscritos

Para la publicación de trabajos científicos en la Revista Latinoamericana de Hipertensión, los mismos estarán de acuerdo con los requisitos originales para su publicación en Revistas Biomédicas, según el Comité Internacional de Editores de Revistas Biomédicas (Arch. Intern. Med. 2006;126(36):1-47), www.icmje.com. Además, los editores asumen que los autores de los artículos conocen y han aplicado en sus estudios la ética de experimentación (Declaración de Helsinki). A tales efectos, los manuscritos deben seguir las instrucciones siguientes:

1. Mecanografiar original a doble espacio en idioma español, papel bond blanco, 216 x 279 mm (tamaño carta) con márgenes por lo menos de 25 mm, en una sola cara del papel. Usar doble espacio en todo el original. Su longitud no debe exceder las 10 páginas, excluyendo el espacio destinado a figuras y leyendas (4-5) y tablas (4-5).

2. Cada uno de los componentes del original deberán comenzar en página aparte, en la secuencia siguiente:

- Página del título.
- Resumen y palabras claves.
- Texto.
- Agradecimientos.
- Referencias.
- Tablas: cada una de las tablas en páginas apartes, completas, con título y llamadas al pie de la tabla.
- Para la leyenda de las ilustraciones: use una hoja de papel distinta para comenzar cada sección. Enumere las páginas correlativamente empezando por el título. El número de la página deberá colocarse en el ángulo superior izquierdo de la misma.

3. La página del título deberá contener:

- Título del artículo, conciso pero informativo.
- Corto encabezamiento de página, no mayor de cuarenta caracteres (contando letras y espacios) como pie de página, en la página del título con su respectiva identificación.
- Primer nombre de pila, segundo nombre de pila y apellido (con una llamada para identificar al pie de página el más alto grado académico que ostenta y lugar actual donde desempeña sus tareas el(los) autores).
- El nombre del departamento (s) o instituciones a quienes se les atribuye el trabajo.
- Nombre y dirección electrónica del autor a quien se le puede solicitar separatas o aclaratorias en relación con el manuscrito.
- La fuente que ha permitido auspiciar con ayuda económica: equipos, medicamentos o todo el conjunto.
- Debe colocarse la fecha en la cual fue consignado el manuscrito para la publicación.

4. La segunda página contiene un resumen en español y su versión en inglés, cada uno de los cuales tendrá un máximo de 150 palabras. En ambos textos se condensan: propósitos de la investigación, estudio, método empleado, resultados (datos específicos, significados estadísticos si fuese posible) y conclusiones. Favor hacer énfasis en los aspectos nuevos e importantes del estudio o de las observaciones. Inmediatamente después del resumen, proporcionar o identificar como tales: 3-10 palabras claves o frases cortas que ayuden a los indexadores en la construcción de índices cruzados de su artículo y que puedan publicarse con el resumen, utilice los términos del encabezamiento temático (Medical Subject Heading) del Index Medicus, cuando sea posible.

5. En cuanto al texto, generalmente debe dividirse en: introducción, materiales y métodos, resultados y discusión.

6. Agradecimientos, sólo a las personas que han hecho contribuciones reales al estudio.

7. Las referencias bibliográficas serán individualizadas por números arábigos, ordenados según su aparición en el texto. La lista de referencias bibliográficas llevarán por título "Referencias Bibliográficas" y su ordenamiento será según su orden de aparición en el texto.

Las citas de los trabajos consultados seguirán los requisitos de uniformidad para manuscritos presentados a revistas Biomédicas, versión publicada en: Ann Intern Med. 2006; 126(36): 1-47, www.icmje.com. No se aceptarán trabajos que no se ajusten a las normas.

8. Tablas: En hoja aparte cada tabla, mecanografiada a doble espacio; no presentar tablas fotográficas; enumere las tablas correlativamente y proporcione un título breve para cada una; dé a cada columna un encabezamiento corto o abreviado; coloque material explicativo en notas al pie de la tabla y no en el encabezamiento; explique en notas al pie de la tabla las abreviaturas no estandarizadas usadas en cada tabla; identifique claramente las medidas estadísticas de las variables tales como desviación estándar y error estándar de la medida; no use líneas horizontales ni verticales: citar cada tabla en orden correlativo dentro del texto; citar la fuente de información al pie de la tabla si ésta no es original.

9. Ilustraciones: Deben ser de buena calidad; entregarlas separadas; las fotos, en papel brillante con fondo blanco, generalmente 9 x 12 cm. Las fotografías de especímenes anatómicos, o las de lesiones o de personas, deberán tener suficiente nitidez como para identificar claramente todos los detalles importantes. En caso de tratarse de fotos en colores, los gastos de su impresión correrán a cargo del autor(s) del trabajo. Lo mismo sucederá con las figuras que superen el número de cuatro.

Todas las figuras deberán llevar un rótulo engomado en el reverso y en la parte superior de la ilustración indicando número de la figura, apellidos y nombres de los autores. No escribir en la parte posterior de la figura. Si una fotografía de personas, trate de que ésta no sea identificable o acompañarla de autorización escrita de la misma. Las leyendas de las ilustraciones deben ser mecanografiadas a doble espacio en página aparte y usar el número que corresponde a cada ilustración. Cuando se usen símbolos y fechas, números o letras para identificar partes en las ilustraciones, identifíquelas y explíquelas claramente cada una en la leyenda. Si se trata de microfotografía, explique la escala e identifique el método de coloración.

10. Envíe un original y dos copias impresas en un sobre de papel grueso, incluyendo copias fotográficas y figuras entre cartones para evitar que se doblen, simultáneamente envíe una versión electrónica en CD o a través del e-mail: latinoamericanadehipertension@gmail.com, indicando el programa de archivo. Las fotografías deben venir en sobre aparte. Los originales deben acompañarse de una carta de presentación del autor en la que se responsabiliza de la correspondencia en relación a los originales. En ella debe declarar que conoce los originales y han sido aprobados por todos los autores; el tipo de artículo presentado, información sobre la no publicación anterior en otra revista, congresos donde ha sido presentado y si se ha usado como trabajo de ascenso.

Acuerdo de asumir los costos de su impresión en caso de fotos a color, autorización para reproducir el material ya publicado o ilustraciones que identifiquen a personas.

11. Los artículos a publicarse, pueden ser: originales, revisiones, casos clínicos, y cartas al editor.

12. Cuando se refiere a originales, queda entendido que no se enviará artículo sobre un trabajo que haya sido publicado o que haya sido aceptado para su publicación en alguna parte.

13. Todos los trabajos serán consultados por lo menos por dos árbitros en la especialidad respectiva.

14. La Revista Latinoamericana de Hipertensión, no se hace solidaria con las opiniones personales expresadas por los autores en sus trabajos, ni se responsabiliza por el estado en el que está redactado cada texto.

15. Todos los aspectos no previstos por el presente reglamento serán resueltos por el Comité Editorial de la Revista.

16. La revista apoya las políticas para registro de ensayos clínicos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y del International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), reconociendo la importancia de esas iniciativas para el registro y divulgación internacional de información sobre estudios clínicos, en acceso abierto. En consecuencia, solamente se aceptarán para publicación, a partir de 2007, los artículos de investigaciones clínicas que hayan recibido un número de identificación en uno de los Registros de Ensayo Clínicos validados por los criterios establecidos por OMS e ICMJE, cuyas direcciones están disponibles en el sitio del ICMJE. El número de identificación se deberá registrar al final del resumen.

Hábito tabáquico y enfermedad cardiovascular

Valmore Bermúdez, Luis Acosta, Daniel Aparicio, Freddy Finol, Roger Canelón, Alí Urdaneta, Magaly Bustamante, Miguel Aguirre, Manuel Velasco¹

Centro de Investigaciones Endocrino-Metabólicas "Dr. Félix Gómez". Universidad del Zulia, Venezuela.
Correspondencia: Valmore Bermúdez, MD; PhD. La Universidad del Zulia. Facultad de Medicina, Escuela de Medicina,
Centro de Investigaciones Endocrino-Metabólicas "Dr. Félix Gómez".

¹Unidad de Farmacología Clínica, Escuela de Medicina José María Vargas. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela
E-mail: vbermudez@hotmail.com; drdanielaparicio@hotmail.com; ffinol166@hotmail.com

Recibido: 18 /10/2009

Aceptado:28 /11/2009

19

Resumen

El hábito tabáquico es considerado un factor de riesgo para varias enfermedades especialmente la enfermedad cardiovascular. El hábito tabáquico ha sido relacionado con la aterosclerosis desde la disfunción endotelial temprana hasta la aparición del evento coronario agudo.

Tanto el fumador activo como el pasivo están expuestos a riesgo cardiovascular, y se piensa que hay una relación directa y dosis-dependiente con la exposición al humo del cigarrillo. Este hecho, sin embargo es debatible ya que estudios clínicos experimentales recientes han demostrado que existe una relación no lineal entre la exposición al humo del cigarrillo y la enfermedad cardiovascular. Los componentes tóxicos del humo del cigarrillo y los mecanismos que lo relacionan con la enfermedad cardiovascular son poco conocidos, pero se sabe que el humo del cigarrillo incrementa el proceso inflamatorio, trombótico y la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad. Recientes estudios apoyan la hipótesis de que la exposición al humo del cigarrillo incrementa el estrés oxidativo como un mecanismo potencial para la iniciación de la disfunción cardiovascular.

Estudios epidemiológicos han establecido que el consumo de cigarrillo se ha relacionado a un incremento de hasta 2.5 veces mayor riesgo para enfermedad arterial coronaria por encima de los no fumadores, del mismo modo se demostró en cuanto a pronóstico a largo plazo que se incrementa de manera significativa el riesgo de re-infarto en aquellos pacientes que continúan con el hábito luego de dicho evento, comparado con sujetos fumadores que después del primer infarto dejaron de fumar. De esta forma, la evidencia que relaciona la exposición al humo del cigarrillo con la enfermedad cardiovascular está claramente presentada, todavía los componentes específicos del humo del cigarrillo y los mecanismos responsables para su asociación no han sido dilucidados.

Palabras clave: Enfermedad cardiovascular, Factor de riesgo, hábito tabáquico.

Abstract

Cigarette smoking is considered a risk factor for many diseases especially for cardiovascular disease. Cigarette smoking it has been related with atherosclerosis from the endothelial dysfunction until the appearance of an acute coronary event.

Both the active smoker as the passive are exposed to cardiovascular risk, and it is thought there are a direct relationship and dependent dose with the exhibition to the smoke of the cigarette. This fact however is since debatable because recent experimental clinical studies they have demonstrated that a non lineal relationship exists among the exhibition to the smoke of the cigarette and the cardiovascular illness. The toxic components of cigarette smoke and the mechanisms that relate it with the cardiovascular disease are largely unknown, but it is known that the smoke of the cigarette increases the inflammatory process, the thrombosis and the oxidation of low density lipoprotein cholesterol. Recent studies support the hypothesis that the exhibition to the smoke of the cigarette increases the oxidative stress as a potential mechanism for the initiating cardiovascular dysfunction.

Epidemiological studies have been established that the cigarette consumption has been related to an increment of up to 2,5 times more risk for cardiovascular disease than the non smokers. Furthermore, was demonstrated as for long term this risk factor predicts that is increased in a significant way the risk of heart attack in those patients that continue with this habit after this event, compared with smokers that stopped to smoke after the first acute coronary event. This way, the evidence that relates the exhibition to the smoke of the cigarette with the cardiovascular illness this clearly supported, but still the specific components of the smoke of the cigarette and the responsible mechanisms for their association have not been elucidated.

Key words: Cardiovascular disease, risk factor, smoking.

El cigarrillo, sustancia de consumo masivo que posee alrededor de 4.700 componentes nocivos para la salud, representa actualmente un problema de salud pública, debido a sus efectos perjudiciales combinados con su fácil acceso, lo cual lo convierten en un arma potente que atenta contra la salud humana, tanto para los fumadores activos como para los pasivos, quienes no escapan de las complicaciones¹. El cigarrillo es capaz de incrementar considerablemente el riesgo de enfermedades cardiovasculares, predominantemente los eventos isquémicos cardíacos, y sus efectos se ven potenciados más aún si goza de la interacción con otros factores predisponentes para enfermedad cardiovascular, tales como hipertensión arterial, dislipidemias, sedentarismo, uso de anticonceptivos orales, etc., ya que es capaz de producir alteraciones a través del monóxido de carbono relacionado con la carboxihemoglobina, la nicotina y su efecto sobre el sistema nervioso autónomo, así como por liberación de radicales libres y especies reactivas de oxígeno claves en la fisiopatología de enfermedades cardíacas y pulmonares, tener un efecto proaterogénico mediado por la homocisteína, producir alteraciones del metabolismo lipídico, modificar la respuesta vasomotora, entre otros. Pero dichas alteraciones no son exclusivas de fumadores sino de aquellos que no poseen el hábito, ya que las concentraciones del humo tabáquico en la atmósfera alcanzan niveles elevados, capaces de generar daños significativos. Por tales consecuencias es pertinente entonces dicho estudio, analizando los efectos del cigarrillo como predictor de enfermedades cardiovasculares y otras patologías^{2,3}.

Epidemiología

En el presente, cerca de 1 de cada 3 adultos fuman cigarrillo; se estima que al menos 1.2 billones de personas de la población mundial fuman de manera ocasional o regular. Se estima que el número de fumadores se incrementará hasta 1.6 billones para el año 2025. Las consecuencias del hábito tabáquico son extremas, teniendo que en los países desarrollados el 15% del presupuesto de salud corresponde a cuidados de salud relacionados con el cigarrillo¹. Para la última década del siglo pasado 3 millones de personas a nivel mundial murieron debido al referido hábito, y esta cifra se incrementó hasta 4 millones para el año 1998; proyectándose que para el año 2020 se produzcan 8.4 millones de muertes². En países como Nueva Zelanda (Woodward et al.) se estima que hasta el hábito pasivo es capaz de producir hasta 490 muertes prevenibles al año, apenas por debajo de las muertes por accidentes viales (500 muertes/año) siendo la enfermedad arterial coronaria la segunda causa en frecuencia.

Se ha establecido que el consumo de cigarrillo se ha relacionado a un incremento de hasta 2.5 veces mayor riesgo para enfermedad arterial coronaria por encima de los no fumadores³. Según Leone et al.⁴, en un estudio de pronóstico a largo plazo demostró que se incrementa de manera

significativa el riesgo de re-infarto en aquellos pacientes que continúan con el hábito luego de dicho evento, comparado con sujetos fumadores que después del primer infarto dejaron de fumar. Para los fumadores que sobrevivieron al primer infarto agudo de miocardio (Pohjola et al.), el riesgo de muerte en 4 años fue 2.3 veces mayor para los que continuaron fumando que para los que abandonaron el hábito, siendo el riesgo de mortalidad de estos últimos parecido al de aquellos no fumadores⁵.

El más importante estudio sobre enfermedades cardiovasculares, el estudio Framingham⁶ demostró que aquellos sujetos que dejaron de fumar luego del primer episodio de infarto de miocardio, la tasa de mortalidad a los 6 años fue 62% menos que en aquellos que mantuvieron el hábito.

El tabaquismo es uno de los riesgos cardiovasculares capaces de causar efectos dañinos sobre el miocardio y vasos sanguíneos así como causar disfunción endotelial. Según el "teorema de Leone"^{4,7}, el tabaquismo activo lesiona el sistema cardiovascular crónicamente, causando lesiones estructurales, que a largo plazo llegan a ser alteraciones irreversibles, principalmente relacionadas a aterosclerosis coronaria. En contraste, el tabaquismo pasivo o exposición ambiental al humo del cigarrillo causa de manera transitoria alteración del desempeño cardiovascular, que puede ser considerablemente dañino para aquellos sujetos con enfermedad coronaria establecida.

Los mecanismos por los cuales se pueden explicar las lesiones en los vasos sanguíneos y miocardio son directa e indirectamente mediados por el monóxido de carbono, a través de la interferencia con la oxihemoglobina y los desórdenes funcionales mediados por la nicotina, por sus efectos sobre el sistema nervioso autónomo, específicamente sobre el simpático (Tabla 1).

Tabla 1. Efectos de la nicotina sobre el sistema vascular

- 1.- Incremento de la presión sanguínea
- 2.- Efecto cronotrópico positivo
- 3.- Aumento de los niveles plasmáticos de Catecolaminas
- 4.- Incremento en los niveles de LDL
- 5.- Disminución de los niveles de HDL
- 6.- Disminución del umbral para fibrilación ventricular
- 7.- Incremento de la adhesividad plaquetaria
- 8.- Incremento de radicales libres

Leone A, et al *Curretn Pharmaceutical Design* 2003, vol 9 No 29 2417 - 2423

Hábito tabáquico y otros factores de riesgo cardiovascular

Hallazgos de estudios controlados han identificado al cigarrillo como un factor independiente de riesgo cardiovascular, sin embargo, el mismo interactúa con otros factores. El incremento de la presión arterial y los niveles séricos de colesterol incrementan el riesgo cardiovascular en fumadores, y a cada nivel de incremento de estos factores de riesgo, el riesgo en fumadores hipertensos y dislipidémicos es estadísticamente mayor que en aquellos que no fuman. El "Pooling Project Research Group"⁸ ha demostrado el efecto sinérgico del hábito tabáquico con la hipertensión y dislipidemias. Otros estudios como el Ni-Hon-San⁹, confirman este sinergismo, demostrando que el hábito tabáquico y la incidencia de cardiopatía is-

quémica, en presencia de hipercolesterolemia fue mucho más que aditivo en Japoneses Americanos que viven en Hawaii; el mismo efecto no fue observado en hombres Japoneses que viven en la misma región ni en el mismo Japón, quienes presentan usualmente menos niveles séricos de colesterol. Evidencia de este efecto sinérgico también fue demostrado en el "Stockholm Prospective Study"¹⁰. Este sinergismo explica una diferente tasa de enfermedad cardiovascular en aquellos sujetos que tienen protección genética contra uno o más factores de riesgo cuando son comparados con aquellos que no tienen tales condiciones.

En el caso de las mujeres, se posee clara evidencia que la combinación del consumo de cigarrillos con la utilización de anticonceptivos orales potencia la ocurrencia de eventos isquémicos cardíacos¹¹. Los anticonceptivos orales, utilizados por un gran número de mujeres en países desarrollados, pueden causar también trombosis venosa profunda y tromboembolismo pulmonar. La terapia estrogénica postmenopausia se ha asociado a un efecto protector de muerte por enfermedad coronaria, aunque su utilidad práctica ha sido debatida ampliamente por muchos.

Cigarrillo y daño por radicales libres

Parte de la fisiopatología de las enfermedades pulmonares y cardiovasculares está dada por el alto grado de estrés oxidativo al cual se someten los fumadores, ocasionado por los radicales libres (RL) y otras especies reactivas de oxígeno (ERO) que se desprenden o son originadas por el humo del cigarro¹²⁻¹⁴.

La exposición excesiva a ERO, como sucede en los fumadores, puede provocar estrés patológico a células y tejidos, estado conocido como estrés oxidativo el cual producir daño a proteínas esenciales, peroxidación lipídica, ruptura de cadenas en el ADN, modificación de sus bases, aumento intracelular anormal de Ca²⁺ libre y, en ciertos casos, apoptosis o necrosis^{15,16}.

Se estima que en cada bocanada de humo ingresa al organismo la impresionante cifra de 1.015 RL, carga tan elevada que explica el estrés oxidativo al cual se someten los fumadores y que se muestra en indicadores como el aumento de malondialdehído en plasma, de los dienos conjugados del ácido linoleico y de los niveles circulantes de F2-isoprostanos de fumadores, indicadores todos del incremento en la peroxidación lipídica y, por tanto, afectación profunda de la estructura y función celular en los adictos al hábito de fumar^{17,18}.

El humo del tabaco contiene en sus fases gaseosa, de partículas y oleosa (alquitrán), una importante cantidad de compuestos químicos con repercusiones negativas para la esfera cardiovascular (TABLA 2), de los cuales en su fase gaseosa se encuentran el monóxido de carbono, el cianuro de hidrógeno; en la fase de partículas nicotina e hidrocarburos aromáticos policíclicos. El humo del tabaco también contiene dos tipos de radicales libres los cuales han aumentado la preocupación por su papel en el desarrollo de muchas enfermedades (incluyendo las cardiovasculares). El principal grupo de radicales libres, presente en la fracción oleosa del tabaco es el complejo quinona/hidroquinona (Q/QH2) que juega un papel importante en

la reducción del oxígeno a superóxidos. El componente dominante en la fracción gaseosa son radicales libres de oxígeno y carbono que forman, los cuales son altamente reactivos con los ácidos grasos insaturados presentes en membranas celulares y lipoproteínas¹⁹. En condiciones in vitro, una solución acuosa "bufferada" saturada en oxígeno (condiciones similares a las encontradas en el pulmón), la autooxidación de las sustancias oleosas toma lugar y se forman radicales superóxido y semihidroquinona²⁰. Los efectos adversos de estos radicales libres son: a) Peroxidación de ácidos grasos y formación de LDL oxidada; b) Producción de daño endotelial (acumulación de células espumosas); c) Disfunción endotelial (supresión de la bioactividad del vasodilatador derivado de endotelio, Oxido Nítrico, o ambas); d) Stress hemodinámico, dado a la dificultad de respuesta que van a presentar los vasos sanguíneos a estímulos vasodilatadores; e) Stress oxidativo dado al consumo de sustancias antioxidantes circulantes y a la dificultad de estos para ser reducidos y reactivados³¹⁻³⁴.

Tabla 2. Enfermedades Cardiovasculares relacionadas con el hábito Tabaquico

- 1.- Hipertensión Arterial.
- 2.- Enfermedad Coronaria.
- 3.- Enfermedad cerebrovascular
- 4.- Arritmias
- 5.- Aterosclerosis Aórtica
- 6.- Enfermedad vascular periférica aterosclerótica
- 7.- Tromboangeitis obliterans (Enfermedad de Buerger)
- 8.- Cardiomiopatía

Leone A, et al *Curretn Pharmaceutical Design* 2003, vol 9 No 29 2417 - 2423

Según Pryor y col. también se han identificado en el humo de cigarrillo dos diferentes grupos de radicales libres, agrupados según sus períodos de vida en radicales de larga vida en la fase corpusculada (fase tar), y radicales de breve vida, en la fase aeriforme (fase gas). Siendo el principal radical en la fase tar, el conjunto quinona-hidroquinona señalado anteriormente, el cual es un sistema redox muy activo que puede reducir el oxígeno molecular en radical superóxido y enseguida en peróxido de hidrógeno y radical hidroxílico^{35,36}.

Por su parte la fase gas del humo de cigarrillo contiene pequeños radicales alquílicos y alcoílicos dotados de reactividad muy superior a los radicales de la fase corpusculada. Los radicales de la fase gas, a diferencia de los anteriores, no pueden ser observados directamente con la espectroscopía EPR porque tienen un tiempo de vida de fracciones de segundo. El análisis es posible utilizando técnicas de spin trapping y medición de la quimioluminiscencia³⁷.

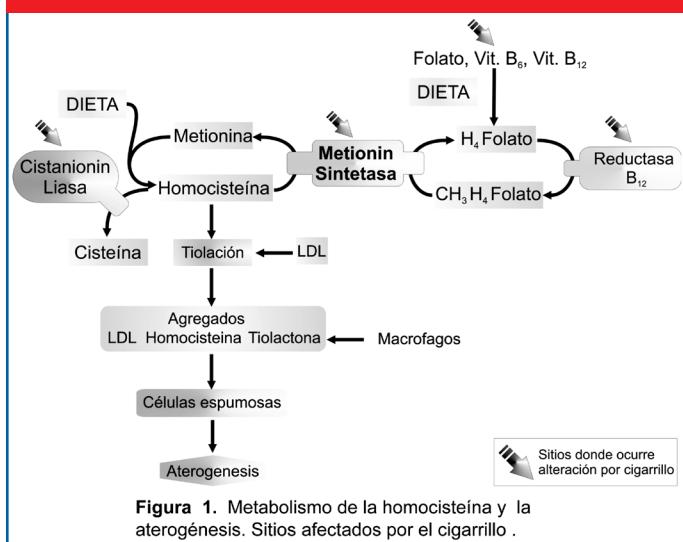
Efecto aterogénico del cigarrillo y su relacion con la homocisteína

Las propiedades pro-aterogénicas del tabaco también son reflejadas por su influencia con la homocisteína, un factor de riesgo independiente para aterosclerosis. La homocisteína es un aminoácido azufrado no formador de proteínas, encontrándose en el plasma en dos formas: oxidada y reducida. La forma oxidada representa hasta el 99% de la homocisteína circulante, encontrándose que el 70% de esta se fija a la albúmina y el 30% restante se encuentra como residuos de disulfuro libres. La tiolación de la homocisteína modifica la lipoproteínas LDL a través de los resi-

duos de lisina libres de LDL, lo cual resulta en agregación de la misma y posterior formación de células espumosas en la íntima de los vasos (Lesión grado I según la "American Heart Association"). También se ha demostrado que la actividad de la enzima superóxido dismutasa disminuye conforme se incrementan los niveles circulantes de homocisteína, por lo que se considera que la homocisteína depriva a los vasos sanguíneos de su protección fisiológica antioxidante, por lo que incrementa la oxidación de LDL y favorece la progresión de la lesión aterogénica²¹.

En el estudio ASAP ("Antioxidant Supplementation in Atherosclerotic Prevention") se determinó que un incremento en las concentraciones de homocisteína (por encima de 15mmol/L) fue asociado a un incremento en la peroxidación lipídica²². Según la evidencia presentada por Sobzak, la manera con la que el hábito tabáquico influye sobre las concentraciones de homocisteína y sobre la formación de ateromas son mediante: 1) Las diferencias de estilos de vida entre fumadores y no fumadores, ya que los fumadores tienen tendencia a comer menos frutas y vegetales, los cuales son la principal fuente de folatos y vitamina B12, vitaminas involucradas en la disminución de los niveles séricos de homocisteína (Figura 1); y 2) El dióxido de azufre y los cianuros presentes en el humo del cigarrillo se combinan con la hidroxicoalamina produciendo cianocobalamina y sulfocobalamina, compuestos que no poseen actividad de coenzima, además, el óxido nítrico del tabaco inactiva la metilcobalamina, pieza clave en la transferencia de radicales metilo a los folatos, por lo que inactiva la metionin sintetasa reduciendo la capacidad de reconvertir la homocisteína en metionina, concluyendo que una de las vías de la actividad aterogénica del tabaco es mediante el incremento de los niveles de homocisteína

Figura 1



Tabaco y lesiones preaterogénicas y aterosclerosis

Matturi et al.²³ basados en los estudios que describen el desarrollo de lesiones coronarias preateroscleróticas y sobre el origen fetal de las mismas²⁴, condujo un estudio anatomopatológico en arterias coronarias de neonatos entre 32 y 40 semanas fallecidos por muerte súbita, evidenciando que el 50% de los mismos (casi todos prove-

nientes de madres fumadoras) presentaban alteraciones estructurales multifocales en las paredes coronarias, las células musculares lisas perdieron polaridad formando columnas perpendiculares al eje de la media y se infiltraron hacia el tejido conectivo subendotelial (Figura 2) probablemente como consecuencia de la acción de la nicotina y productos de combustión del cigarrillo.

Figura 2

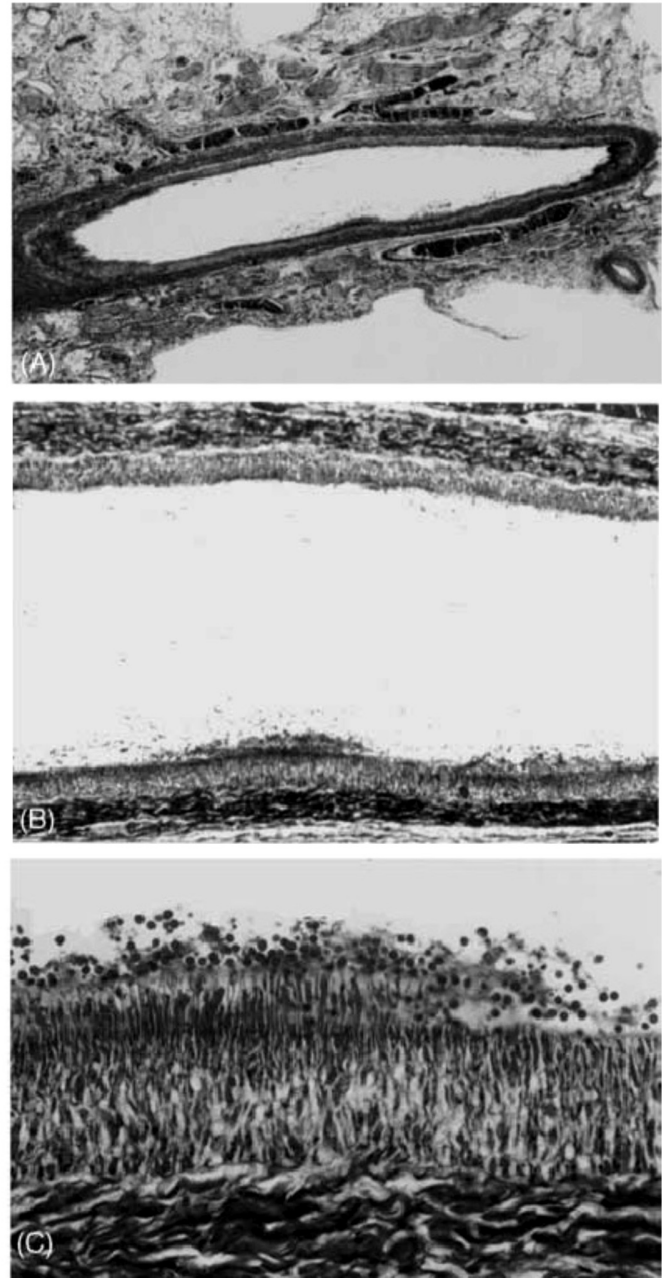


Figura 2. Arteria coronaria (Rama descendente anterior izquierda) de un Feto de 38 semanas de gestación. El engrosamiento focal consiste en células musculares lisas de la media orientadas perpendicularmente

a) X 20 b) X 100 c) X 400

Matturi L. et al *Journal of Trombosis and Haemostasis* 2003; 1:2234-2238.

La disfunción vasomotora, la inflamación y la modificación de los lípidos son componentes integrales del comienzo y la progresión de la aterosclerosis. Las secciones siguientes analizan los conocimientos actuales acerca de los efectos del humo de cigarrillo sobre estos componentes de la aterogénesis²⁵.

Disfunción vasomotora: en los seres humanos, la exposición al humo del cigarrillo deteriora la vasodilatación dependiente del endotelio (VDE) en los lechos macrovasculares, como las arterias coronarias y humeral y en los lechos microvasculares. Una sólida experiencia demuestra que la disminución de la VDE asociada al tabaquismo es atribuible a una menor disponibilidad de óxido nítrico²⁶⁻²⁸.

Respecto a la inflamación, el óxido nítrico también inhibe muchas moléculas inflamatorias que son componentes esenciales del comienzo y la evolución de la aterosclerosis. Varios estudios indicaron que el humo de cigarrillo aumenta las cifras de leucocitos en alrededor del 20-25% in vivo, el tabaquismo se asocia con un aumento de la concentración de múltiples marcadores inflamatorios, como la proteína C-reactiva, la interleucina-6 y el factor de necrosis tumoral alfa, tanto en hombres como en mujeres fumadoras. Aumenta también la actividad de las moléculas de adhesión^{29,30}.

El tabaquismo podría favorecer la aterosclerosis, en parte por sus efectos sobre el lipidograma. Los fumadores tienen concentraciones significativamente más altas de colesterol, triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad (LDL-C), pero la concentración de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) es menor en los fumadores que en los no fumadores. Más importante aún, el tabaquismo aumenta también la modificación oxidativa del LDL-C^{31,32}.

Los productos circulantes de la peroxidación lipídica y los títulos de autoanticuerpos contra el LDL-C oxidado están significativamente aumentados en los fumadores. El tabaquismo también puede disminuir la actividad plasmática de la paraoxonasa, una enzima que protege contra la oxidación del LDL-C^{31,32}.

Cigarrillo y lípidos

Existe una variedad de cambios asociados al cigarrillo que parecen contribuir con este riesgo incrementado para enfermedad coronaria aguda, incluyendo alteración de los niveles plasmáticos de lípidos, niveles elevados de carboxihemoglobina, factores de coagulación y viscosidad sanguínea. Estudios in vitro demuestran que la exposición al cigarrillo produce LDL oxidada, y esta lipoproteína modificada causa la acumulación de ésteres de colesterol en macrófagos²⁴, por lo tanto, la oxidación del LDL-C contribuye con la formación de células espumosas y la aterosclerosis.

Craig et al.³³, evidenció incrementos estadísticamente significativos en los niveles plasmáticos de triglicéridos, VLDL y LDL, así como una disminución significativa en la concentración de HDL en sujetos adolescentes fumadores comparado con no fumadores. Este patrón es aún significativamente mayor cuando se comparan adultos fumadores con adolescentes fumadores por lo que es razonable asumir que este grupo etario posee un riesgo claro de padecer eventos coronarios en la vida adulta.

Godsland et al.³⁴ evidencia en el HDDRISC-1 ("First Heart Disease and Diabetes Risk Indicator in a Screened Cohort Study"), estudio prospectivo para factores de riesgo de enfermedad cardiovascular; una asociación significativa entre el cigarrillo y la disminución de las HDL.

Cigarrillo y respuesta vascular

Butler et al.³⁶ demostraron una reducción significativa en la tasa de flujo sanguíneo en el antebrazo de sujetos fumadores tratados y no tratados con el vasodilatador dependiente de endotelio acetilcolina (Figuras 3 y 4); sin embargo, no se demostró una variación significativa ante la respuesta de vasodilatadores no dependientes de endotelio, provocada por nitroprusiato de sodio y verapamil demostrando el papel fundamental del cigarrillo en la patogénesis de la disfunción endotelial.

El cigarrillo también se encontró involucrado con un deterioro significativo de la vasoconstricción dependiente de endotelio inducida por monometil L-arginina. Además, se ha investigado sobre el papel del hábito tabáquico y su influencia en el Sistema Renina Angiotensina, evidenciando un agravamiento significativo de la vasoconstricción provocada por la infusión intra-arterial de Angiotensina I entre pacientes fumadores y no fumadores, sin embargo, no hubo variación en la respuesta a la Angiotensina II, lo que potencia los efectos adversos producto de la disfunción endotelial mediante el bloqueo de la producción y bioactividad del óxido nítrico.

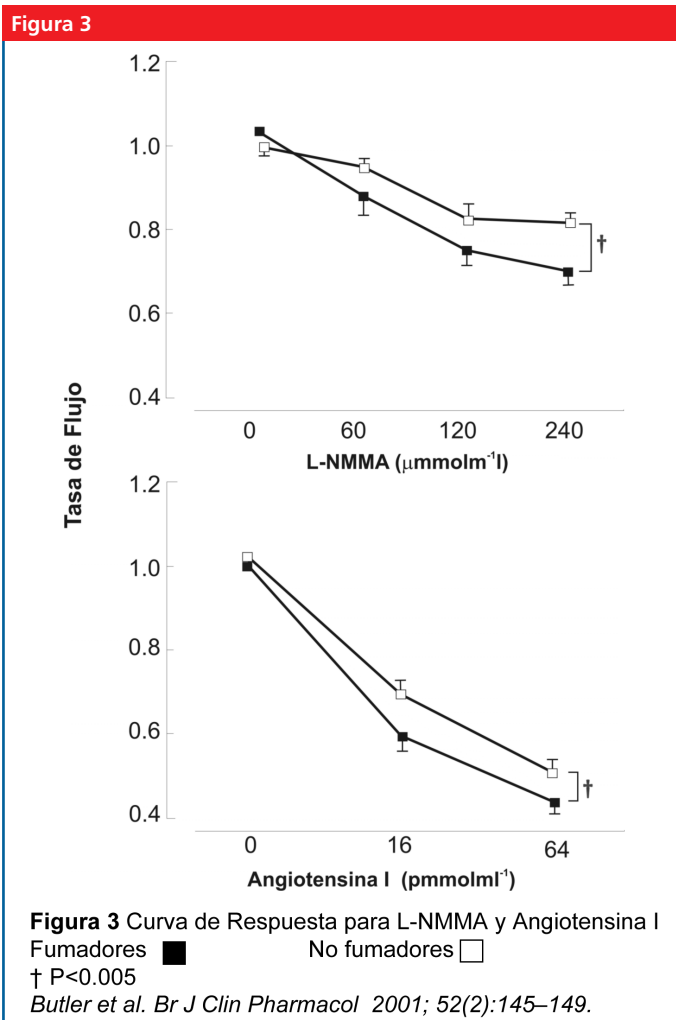


Figura 3

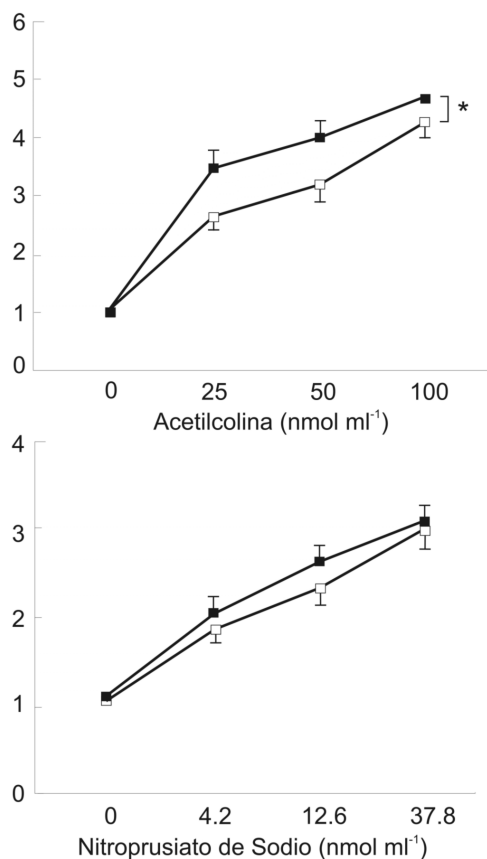


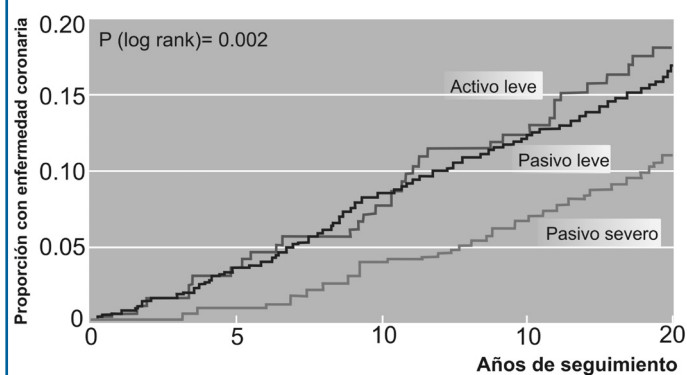
Figura 4 Curva de Respuesta para Acetilcolina y Nitroprusiato de sodio

Fumadores ■ No fumadores □

† P<0.005

Butler et al. *Br J Clin Pharmacol* 2001; 52(2):145 – 149.

Figura 5



Proporción de hombres con enfermedad arterial coronaria por años de seguimiento según grupos de fumadores: pasivos leves: (niveles de cotinina 0 – 0.7ng/ml) pasivos severos (niveles de cotinina 0.8 – 14ng/ml) activos leves fumadores de 1 – 9 cigarrillos/día

Whincup et al. *BMJ* 2004; 329:200–205.

Hábito pasivo y enfermedad coronaria

Una gran serie de observaciones durante los últimos veinte años sobre la exposición aguda al humo del cigarrillo ambiental son confirmatorias de que el hábito pasivo debe ser considerado como factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad arterial coronaria. Se estima que a nivel global, las muertes atribuibles a la exposición ambiental al humo del tabaco se encuentra en un rango de 53.000–60.000 anualmente; también se conoce que aquellos sujetos expuestos al humo del cigarrillo en el sitio de trabajo tienen 1.23 veces mayor riesgo para enfermedad coronaria que los sujetos no fumadores³⁷. El riesgo relativo es significativamente mayor en mujeres (1.99) que en hombres³⁸. En países como Nueva Zelanda⁴⁰, se estima que se producirán alrededor de 490 muertes potencialmente prevenibles por años, señalando como segunda causa enfermedad coronaria luego del cáncer de pulmón.

Aproximadamente dos terceras partes de la atmósfera de espacios interiores confinados, son frecuentemente contaminadas por humo de cigarrillo, el cual es involuntariamente inhalado tanto por fumadores como no fumadores⁴. Los fumadores incrementan el daño debido a su hábito activo, mientras que los no fumadores son perjudicados en contra de su voluntad.

Estudios clínicos, epidemiológicos y experimentales basados en el seguimiento de la exposición pasiva tanto aguda como crónica al humo del cigarrillo, ciertamente confirman los efectos dañinos sobre corazón y vasos, con cambios evidentes en la función endotelial y plaquetaria, con el consecuente deterioro del desempeño cardíaco, la tasa de enfermedad arterial coronaria en no fumadores con hábito pasivo demuestra un incremento estadísticamente significativo en la mayoría de los estudios de largo plazo conducidos en mujeres casadas con fumadores o ex-fumadores, así como de personas que viven con fumadores. Leone et al.⁴⁰ demostró efectos negativos del hábito pasivo sobre la esfera cardiovascular luego de la exposición aguda a humo de cigarrillo, particularmente en aquellos que sufrían cardiopatía isquémica establecida; el desempeño cardíaco fue deteriorado de manera importante luego de la exposición pasiva durante pruebas de stress.

Existen muchas alteraciones de tipo bioquímicas, metabólicas y estructurales asociadas a la Exposición Ambiental al humo del tabaco. La exposición prolongada al monóxido de carbono se ha demostrado que produce cambios ultraestructurales sobre el miocardio, específicamente sobre la función mitocondrial del cardiomiocito.

La evidencia indica la relación entre la vasodilatación dependiente de endotelio y exposición al humo de tabaco ambiental es caracterizada por una respuesta negativa de vasodilatación dependiente de endotelio en sujetos sanos. La vasodilatación endotelio dependiente es un marcador importante de integridad endotelial y refleja respuesta del mismo al óxido nítrico. Giannini et al.³⁹ encontró que los sujetos voluntarios sanos expuestos a humo de tabaco ambiental presentaron deterioro significativo de esta respuesta.

El incremento en la actividad y adhesividad plaquetaria es otra vía por la cual la exposición al humo de tabaco ambiental puede conducir a eventos coronarios, jugando un papel importante en la formación de trombos, con crecimiento y progresión de placas ateroscleróticas.

La elevación de los niveles plasmáticos de los lípidos, la conversión de LDL a LDL oxidada y los cambios en la distribución de lípidos plasmáticos no está claramente demostrada luego de exposición ambiental al humo de tabaco.

Los radicales libres de oxígeno presentan documentados efectos perjudiciales sobre la membrana celular en el cardiomiocito, induciendo alteraciones importantes en su función. Los fumadores pasivos presentan un agravamiento de la evolución de un infarto agudo de miocardio a través de un incremento significativo de los radicales libres durante la reperfusión de la lesión. Las personas con cardiopatía isquémica establecida frecuentemente han tenido niveles elevados de carboxihemoglobina, y por lo tanto, menos capacidad para el transporte de oxígeno.

Marcadores biológicos como la cotinina (metabolito de la nicotina) han sido de utilidad para la medición de la exposición al humo del cigarrillo en sujetos emparentados o que viven con fumadores. Whincup et al.⁴¹ condujeron un estudio basándose en el "British Regional Heart Study", estudio prospectivo de 20 años de seguimiento clínico, donde se evidenció (Figura 5) que en los sujetos clasificados como fumadores pasivos severos (con niveles de cotinina entre 0.8 – 14ng/ml) la tasa de riesgo para enfermedad coronaria fue significativamente mayor que el determinado en fumadores pasivos leves (aquellos con niveles de cotinina menores de 0.7ng/ml), y similar al evidenciado en fumadores activos leves (clasificados como fumadores de 1 a 9 cigarrillos/día). Dicho riesgo también se evidenció progresivo conforme aumentaba el tiempo de seguimiento.

Por otra parte, Pitsavos et al.⁴² en el estudio caso-control "CARDIO2000" llevado a cabo en Grecia, que incluyó pacientes con un primer episodio de síndrome coronario agudo (infarto agudo de miocardio; angina inestable) y sujetos sanos reportó que en 86% de los pacientes y hasta 56% de los sujetos sanos presentaron exposición mayor de 30min/día al humo del cigarrillo durante la casa y/o trabajo independientemente de su condición de hábito; obteniéndose que el riesgo para desarrollo de síndromes coronarios agudos fue significativamente mayor en sujetos expuestos al humo del cigarrillo en el sitio de trabajo que la exposición doméstica. También se demostró que los no fumadores que presentaron exposición regular e inclusive ocasional al humo del cigarrillo presentaron un incremento del 47% del riesgo para el desarrollo de síndromes coronarios agudos que aquellos no expuestos⁴³⁻⁴⁵.

Feldman et al.⁴⁶ encontraron que hasta un 11% de los adolescentes hijos de fumadores presentan niveles de cotinina superiores a los 2.5ng/ml, y este fue asociado a un incremento significativo de hasta un 8.9% en la relación colesterol total/HDL, un buen documentado predictor del riesgo de aterosclerosis y enfermedad arterial coronaria;

esto debido a una reducción de 6.8% en la concentración plasmática de HDL.

Medidas preventivas

Las medidas preventivas deben enfocar al menos tres vías: a) Modificación de estilos de vida; b) Terapia medicamentosa conducida hacia los factores de riesgo documentados; y c) Suplementación dietética. No menos que el cese del consumo del cigarrillo es necesario para prevenir eventos cardiovasculares. El riesgo de eventos recurrentes en un paciente con infarto de miocardio pre-existente es dramáticamente disminuido por el solo hecho de eliminar el hábito de fumar, el riesgo relativo de enfermedades cardiovasculares declina a un nivel cercano al de los no fumadores en un año. Está bien documentado que una persona de 35 años que deja de fumar extiende su sobrevivencia de 3 a 5 años con mucha mejoría de la expectativa de vida causada por la reducción de eventos cardiovasculares⁴⁸⁻⁵⁰.

La actividad física es la segunda vía para mejorar los beneficios del cese del hábito tabáquico. El ejercicio de intensidad intermedia reduce la progresión de aterosclerosis, causa dilatación de los vasos sanguíneos y determina una caída en el peso corporal del fumador, sin embargo, estos resultados no están del todo esclarecidos^{50,51}.

Los efectos benéficos de la terapia medicamentosa contra otros importantes factores de riesgo cardiovasculares son más y mejores establecidos. Se obtienen resultados protectores al tratar patologías como: Hipertensión, LDL elevadas, Diabetes Mellitus, obesidad, y en ocasiones, el Estado Post-menopáusico debe ser tratado en un intento por disminuir su interacción^{52,53}.

Estudios epidemiológicos han demostrado que los niveles plasmáticos de Vitaminas C y E fueron significativamente menores en fumadores comparados con no fumadores, además, la Vasodilatación Dependiente de Endotelio en el antebrazo de fumadores crónicos puede ser mejorada con la administración aguda intrarrenal de Vitamina C. En el "Health Professionals Follow-Up Study", se reportó una reducción de eventos coronarios en sujetos sanos que ingerían 100 a 250 UI de Vitamina E al día^{46,53}.

Con respecto a la manera de cómo combatir la exposición ambiental al humo del cigarrillo, se ha medido la efectividad de la legislación contra consumo de cigarrillo en los sitios públicos y de trabajo, como el realizado en Helena, Montana, USA⁴⁷, donde se comprobó una caída en el número de ingresos por infarto de miocardio en el único Hospital de la localidad, luego de la aplicación de una ley que prohibió el fumar en dicho sitio desde el 2002. Esto se debe a un doble efecto, el primero, mantener ambientes libres de humo disminuyendo la exposición ambiental y por otra parte por obligar a los fumadores activos a no fumar.

El conocimiento de los efectos del humo de cigarrillo sobre la salud de la persona, ha ocasionado que se hayan implementados medidas no solo en los Estados Unidos sino en una gran cantidad de países del mundo entero: Argentina, Australia, Bangladesh, Brasil, Bulgaria, Bután,

Canadá, Corea del Sur, Cuba, Chile, China, Hong Kong, Islandia, India, Indonesia, Irán, Islas Bermudas, Kenia, México, Myanmar (antes Birmania), Nepal, Noruega, Nueva Zelanda, Perú, Puerto Rico, Rusia, Singapur, Somalia, Suiza, Tailandia, Tanzania, Turquía, Uganda, Uruguay, Unión Serbia-Montenegro, Vietnam⁵⁴. Por su parte, en la Unión Europea se cuentan las naciones: España, Alemania, Austria, Bélgica, Dinamarca, Eslovenia, Estonia, Finlandia, Francia, Grecia, Holanda, Irlanda, Italia, Lituania, Malta, Países Bajo, Polonia, Portugal, Reino Unido y Suecia⁵⁵.

Algunas de las diferentes medidas implementadas por varios de estos países son: Limitar la publicidad de la sustancia, limitar su compra a sólo mayores de edad, no fumar en lugares cerrados (trabajo, restaurantes, bares, cafeterías, transporte público, recintos oficiales, clubes nocturnos, peluquerías, centros médicos, polideportivos cerrados, centros comerciales y sanitarios, locales de masajes, etc.) salvo en zonas habilitadas para ello, incluir imágenes de los daños del tabaco en las cajetillas, aumento del costo del cigarrillo, multas elevadas a los dueños de locales que no informen a la policía los clientes que infrinjan esta medida, prohibición de venta de tabaco a través de máquinas expendedoras, entre otras. De esto se puede entrever, que la lucha anti-tabaco no es la prioridad de uno o dos países, sino que es una necesidad global y son múltiples batallas las que luchar para lograr controlar el hábito tabáquico^{54,55}.

Sin duda alguna el hábito tabáquico es un guía fiel de cualquier fumador hacia los eventos isquémicos cardiacos, cáncer de pulmón, enfermedad aterosclerótica, hipertensión arterial, entre otros, haciendo especial referencia en el aumento de manera significativa del riesgo de sufrir infarto de miocardio. Razón ésta por la cual la principal medida de prevención de este evento es la eliminación del consumo tabáquico, tarea nada fácil ya que el mismo crea dependencia biofísica en quienes lo consumen complicando aún más el bien buscado, es por ello que la terapia para tratar dicha adicción es basado en cambios en el estilo de vida, terapia farmacológica en segunda instancia, y suplementos dietéticos, todo esto en conjunto ha demostrado mejorar la condición de pacientes fumadores y lo más importante, es que disminuye considerablemente el riesgo de padecer enfermedad cardiaca y pulmonar, aumenta la sobrevida, y por tanto están en pro de la calidad del vida que merece cada ser humano, ya sea éste fumador activo o pasivo. Existen medidas implementadas anti-consumo de tabaco y cigarrillos alrededor de todo el mundo, pero, ¿qué hay de la República Bolivariana de Venezuela? ¿qué hay del resto de los países que conforman Latinoamérica? Se están quedando muy atrás en el control de este perjudicial hábito.

Referencias

1. The World Bank Group. Curbing the epidemic: Governments and economics of tobacco control. World Bank. Washington DC 1999: 32-33.
2. Murray CJL, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990 - 2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997; 349:1498-1504.
3. Fielding JE. Smoking health effects and control. *N Engl J Med* 1985;313: 491-498.
4. Leone A. Relationship between Cigarette Smoking and Other Coronary Risk Factors in Atherosclerosis: Risk of Cardiovascular Disease and Preventive Measures. *Current Pharmaceutical Design* 2003;9:2417-2423.
5. Pohjola S, Siltanen P, Romo M. Five year Survival of 728 patients after myocardial infarction. *Br Heart Journal* 1980;43:176-183.
6. Sparrow D, Dauber TR, Colton T. The influence of cigarette smoking on prognosis after a first myocardial infarction. *J Chronic Dis* 1978;31:425-432.
7. Leone A. Cigarette smoking and health of the heart. *J Roy Soc Health* 1995;115: 354-355.
8. Pooling Project Research Group. Relationship of blood pressure, serum cholesterol, smoking habit, relative weight and ECG abnormalities to incidence of major coronary event: Final Report of the Pooling Project. *J Chronic Dis*. 1978;31: 201-306.
9. Robertson TL, Kato H, Gordon T, Kagan A, Rhoads GG, Land CE, Worth RM, Belsky JL, Dock DS, Miyamishi M, Kawamoto S. Epidemiologic studies of coronary heart disease and Stroke in Japanese men living in Japan, Hawaii and California. *Am J Cardiol* 1977;39(2):244-249.
10. Carlson LA, Bottiger LE, Ahfeldt PE. Risk Factors for myocardial infarction in the Stockholm prospective Study. *Acta Medica Scandinavica* 1979; 206: 351-360.
11. Leone A. Oral Contraception, ovarian disorders and tobacco in myocardial infarction of woman. *Pathologica* 1986;78:237-242.
12. Kodama M, Kaneko M, Aida M, Inoua F, Nakajamat T. Free radical chemistry of cigarette smoke and its implications in human cancer. *Anticancer Res* 1997;17(1A):433-437.
13. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Cir Res* 2000;87(10):840-844.
14. Mac Nee W. Oxidants/Antioxidants and COPD. *Chest* 2000;117(5 Suppl 1):303S-317S.
15. Morrison D, Rahman I, Lannan S. Epithelial permeability inflammation and oxidant stress in the air spaces of smokers. *Am J Respir Int Care Med* 1999; 159:473-479.
16. Duthie GG, Arthur JR. Effects of smoking and vitamin E on blood antioxidant status. *Am J Clin Nutr* 1991; 53(4):1061S-63S.
17. Morrow JD, Frei B. Increase in circulating products of lipid peroxidation in circulating products of lipid peroxidation (F2-isoprostanes) in smokers. *N Engl J Med* 1995; 332:1198-1203.
18. Gutiérrez A. Oxidantes en el humo del cigarro y enfermedades cardiopulmonares. *Revista Cubana de Medicina* 2003; 42(5).
19. Church DF, Pryor WA. Free radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Persp* 1985; 64:111-126.
20. Zang LY, Stone K, Pryor WA. Detection of free radicals in aqueous extracts of cigarette tar by electron-spin resonance. *Free Radic Biol Med* 1995; 19:161-167.
21. Sobczak A. The effects of tobacco smoke on the homocysteine level—a risk factor of atherosclerosis. *Addiction Biology* 2003;8: 147 - 158.
22. Voutilainen S, Morrow JD, Roberts LJ, Alfthan G, Alho J, Nyssönen K, Salonen JT. Enhanced in vivo lipid peroxidation at elevated plasma total homocysteine levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:1263-1266.

23. Maturri L, Lavezzi AM, Ottaviani G, Rossi L. Intimal preatherosclerotic thickening of the coronary arteries in human fetuses of smoker mothers. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2003; 1(10): 2234–2238.
24. Giordano A, Masini T, Maturri L. Istochimica dei primi stadi Della coronarosclosi umana. *Cardiol Prat.* 1996; 8:237–272.
25. Ambrose A, Barua R. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:1731–1737.
26. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, Bull C, Thomas O, Robinson J, Deanfield JE. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation* 1993; 88:2149–2155.
27. Barua RS, Ambrose JA, Eales-Reynolds LJ, DeVoe MC, Zervas JG, Saha DC. Dysfunctional endothelial nitric oxide biosynthesis in healthy smokers with impaired endothelium-dependent vasodilatation. *Circulation* 2001; 104:1905–1910.
28. Celermajer DS, Adams MR, Clarkson P, Robinson J, McCredie R, Donald A, Deanfield J. Passive smoking and impaired endothelium-dependent arterial dilatation in healthy young adults. *N Engl J Med* 1996;334:150–154.
29. Kugiyama K, Yasue H, Ohgushi M, Motoyama T, Kawano H, Inobe Y, Hirashima O, Sugiyama S. Deficiency in nitric oxide bioactivity in epicardial coronary arteries of cigarette smokers. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28:1161–1167.
30. Sumida H, Watanabe H, Kugiyama K, Ohgushi M, Matsumura T, Yasue H. Does passive smoking impair endothelium-dependent coronary artery dilation in women? *J Am Coll Cardiol* 1998;31:811–815.
31. Craig WY, Palomaki GE, Haddow JE. Cigarette smoking and serum lipid and lipoprotein concentrations: An analysis of published data. *BMJ* 1989; 298:784–788.
32. Heitzer T, Yla-Herttuala S, Luoma J, Kurz S, Münzel T, Just H, Olschewski M, Drexler M. Cigarette smoking potentiates endothelial dysfunction of forearm resistance vessels in patients with hypercholesterolemia: Role of oxidized LDL. *Circulation* 1996; 9:1346–1353.
33. Yokode M, Kita T, Arai H, Kawai C, Narumiya S, Fujiwara M. Cholesteryl ester accumulation in macrophage incubated with low density lipoprotein pretreated with cigarette extract. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 2344–2348.
34. Craig W, Palomaki G, et al. Cigarette Smoking-Associated Changes in Blood Lipid and Lipoprotein Levels in the 8 to 19 Year old Age Group; A Meta Analysis. *Pediatrics* 1990; 85(2): 155–158.
35. Godsland, Leyva, Walton, Worthington, Stevenson. Associations of smoking, alcohol and physical activity with risk factors for coronary heart disease and diabetes in the first follow-up cohort of the Heart Disease and Diabetes Risk Indicators in a Screened Cohort Study (HDDRISC-1). *Journal of Internal Medicine* 1998; 244(1): 33–41.
36. Butler R, Morris AD, Struthers AD. Cigarette smoking in men and vascular responsiveness. *Br J Clin Pharmacol* 2001; 52(2):145–149.
37. Howard G, Thun M. Why is Environmental tobacco Smoke More Strongly Associated with Coronary Artery Disease Than Expected? *Environmental Health Perspectives* 1999; 107(Suppl 6): 853–858.
38. McElduff P, Dobson AJ, Jackson R, Beaglehole R, Heller R F, Lay-Yee R. Coronary events and exposure to environmental tobacco smoke: a case-control study from Australia and New Zealand. *Tob Control* 1998;7:41–46.
39. Giannini D, Leone A, Nuti M, Strata G, Balbarini A, Mariani M. Indoor passive smoking impairs endothelial function. *European Heart Journal* 2001; 22:128A.
40. Leone A, Mori L, Bertanelli F, Fabiano P, Filipelli M. Indoor Passive Smoking: Its effects on Cardiac Performance. *Int J Cardiol* 1991;33(2): 247–251.
41. Whincup PH, Gilg JA, Emberson JR. Passive smoking and risk of coronary heart disease and stroke: prospective study with cotinine measurement. *BMJ* 2004; 329:200–205.
42. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chrysohoou C, Skoumas J, Tzioumis K, Stefanadis C, Toutouzas P. Association between exposure to environmental tobacco smoke and the development of acute coronary syndromes: the CARDIO2000 case-control. *Tob. Control* 2002;11:220–225.
43. Pryor WA. *Free radicals in biology*. Vol. 1, 3. Academic press, New York, 1976.
44. Church DF, Pryor WA. Free radicals chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect* 1985; 64:111–126.
45. Pryor WA., Hales BJ, Pnemovic PI, Church DF. The radicals in cigarette tar: their nature and suggested physiological implications. *Science* 1983; 220:425–427.
46. Feldman J, Shenker IR, Nussbaum M, Jacobson M, Etzel R, Spierto F, Lilienfeld D. Passive Smoking Alters Lipid Profiles in Adolescents. *Pediatrics* 1991; 88(2):259–264.
47. Sargent RP, Shepard RM, Glantz SA. Reduced incidence of admissions for myocardial infarction associated with public smoking ban: before and after study. *BMJ* 2004;328:977–980.
48. Woodward A, Laugesen M. How many deaths are caused by second hand cigarette smoke? *Tob. Control* 2001; 10:383–388.
49. Howard G, Wagenknecht LE. Environmental tobacco smoke and measures of Subclinical Vascular Disease. *Environmental Health Perspectives* 1999; 107(Suppl. 6):837–840.
50. Yuan-Kun T, Wen-Neng U. The Effects of Cigarette Smoking on Rabbit Tibial Vascular Endothelium. *Journal of Musculoskeletal Research* 2001;5(4): 235–242.
51. Gökkusu C, Ademoglu E, Tame S, Alkan G. Oxidant–Antioxidant profiles of platelet rich plasma in smokers. *Addiction biology* 2001; 6:325–330.
52. Bakhru A, Thomas E. Smoking Cessation and Cardiovascular Disease Risk Factors: Results from the Tird National Health and Nutrition Examination Survey. *PLoS Medicine* 2005; 2(6): 528–536.
53. Winkelmann BR, Boehm BO, Nauck M, Kleist P, März W, Verho NK, Ranjith N, Kneissl G. Cigarette Smoking is Independently Associated with Markers of Endothelial Dysfunction and Hyperinsulinemia in Non-diabetic Individuals with Coronary artery Disease. *Curr Med Res Opin* 2001; 17(2):132–141.
54. Sainz M. Iniciativas Antitabaco en todo el mundo. Publicado en la Sección Salud, Tabaquismo, Especiales de “elmundo.es”. Fecha de Última Actualización: 29/02/2008. Fecha de Consulta: 25/02/2008. Disponible en la página web: <http://www.elmundo.es/elmundosalud/2005/07/21/tabacodossiers/1121955664.html>
55. Sainz M. La UE mueve ficha para vencer el tabaco. Publicado en la Sección Salud, Tabaquismo, Especiales de “elmundo.es”. Fecha de Última Actualización: 29/02/2008. Fecha de Consulta: 25/02/2008. Disponible en la página web: <http://www.elmundo.es/elmundosalud/2005/02/02/tabacodossiers/1107370162.html>

Infección, inflamación y enfermedad vascular aterosclerótica

Bermúdez Valmore, Martínez Yubraska, Finol Freddy, Aparicio Daniel, Acosta Luis, Rojas Edward, Canelón Roger, Manuel Velasco¹

Centro de Investigaciones Endocrino-Metabólicas "Dr. Félix Gómez". Universidad del Zulia, Venezuela.

Correspondencia: Valmore Bermúdez, MD; PhD. La Universidad del Zulia. Facultad de Medicina,

Centro de Investigaciones Endocrino-Metabólicas "Dr. Félix Gómez".

¹Unidad de Farmacología Clínica, Escuela de Medicina José María Vargas. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

E-mail: vbermudez@hotmail.com, ffinol166@hotmail.com

Recibido: 18 /10/ 2009

Aceptado:28 /11/2009

28

Resumen

La Enfermedad Cardiovascular (ECV) representa la principal causa de mortalidad en el mundo y es ampliamente reconocido su etiología de carácter multifactorial. Se ha encontrado que una proporción representativa de personas con enfermedad arterial coronaria no poseen factores de riesgo convencionales para dicha enfermedad y es allí donde las enfermedades infecciosas juegan un importante rol como mecanismo patogénico o como un elemento que intensifica el efecto de otros factores de riesgo presentes. Virus y bacterias con un tropismo específico por las células de la pared vascular pueden contribuir en el daño vascular inicial tanto por vía citopática directa o por la inducción de respuestas inmunitarias genuinas. La asociación entre la ECV y la infección por *Chlamydia pneumoniae* ha sido fuertemente establecida a pesar de que el mecanismo molecular no ha sido totalmente dilucidado, sin embargo, se sabe que el componente inflamatorio asociado a la presencia de una infección crónica juega un papel central en este proceso. Ciertos marcadores de inflamación sistémica como la proteína C reactiva (PCR) pueden predecir la aparición de eventos cardiovasculares futuros tanto en sujetos aparentemente sanos como en pacientes con síndromes crónicos y agudos favoreciendo así el potencial terapéutico en cuanto a la modificación de los componentes ateroscleróticos, vasomotores y trombóticos de la isquemia. Sin embargo, existe controversia sobre la vinculación de la ECV con condiciones como la periodontitis o con su relación a otros agentes infecciosos, tales como: Cytomegalovirus, *Helicobacter pylori* y el Virus Herpes Simple.

Palabras claves: enfermedad cardiovascular, factor de riesgo, aterosclerosis, infección, chlamydia, inflamación.

Abstract

Cardiovascular disease (CVD) is the leading cause of death in developed countries. The causes of this have a multifactorial character. A substantial proportion of patients with coronary artery disease do not have traditional risk factors and is there that infectious diseases may play a role in these cases, or they may intensify the effect of other risk factors. Viruses or bacteria with a specific tropism for cells of the vascular wall may contribute to the initial vascular injury via direct cytopathic effects or via the induction of genuine immune responses. The association Of CVD and *Chlamydia pneumoniae* infection is firmly established, but causality is yet to be proven, although, it is known that inflammatory component associated to the presence of chronic infection plays a main role to this process. Several markers of systemic inflammation like C-reactive protein may predict future cardiovascular events in apparently healthy subjects as well as in patients with chronic and acute syndromes favoring the therapeutic potential in modifying the atherosclerotic, vasomotor, and thrombotic components of ischaemic heart disease. The link of CVD with other infectious agents or conditions, such as Cytomegalovirus, *Helicobacter pylori*, Herpes simplex virus and conditions like periodontitis, is more controversial.

Key words: cardiovascular disease, risk factor, atherosclerosis, infection, *Chlamydia*, inflammation.

La enfermedad aterosclerótica es la principal causa de morbi-mortalidad en el mundo, manifestándose principalmente como enfermedad arterial coronaria y enfermedad cerebrovascular. Entre los factores de riesgo convencionales para padecerla están el hábito tabáquico, la hipertensión arterial, dislipidemia, obesidad y diabetes. Además, numerosos estudios indican que la inflamación en los vasos sanguíneos juega un rol esencial tanto en la iniciación como en la progresión de esta enfermedad y en la erosión y eventual ruptura de las placas ya formadas. La hipótesis de que la inflamación contribuye en la patogénesis de la aterosclerosis proviene desde hace más de cien años atrás¹. Recientes estudios han demostrado que varios marcadores sistémicos de inflamación como por ejemplo reactantes de fase aguda como lo son la proteína C reactiva (PCR) y el fibrinógeno pueden predecir eventos cardiovasculares futuros. Aunque la inflamación esté presente, la causa exacta de ésta en la enfermedad cardiovascular (ECV) no es totalmente conocida ya que la PCR es un marcador no específico liberado ante varios estímulos como lo son el daño tisular, el hábito tabáquico y las infecciones².

Se ha establecido una firme asociación entre la enfermedad cardiovascular (ECV) y la infección por *Chlamydia pneumoniae* pero el mecanismo no ha sido totalmente dilucidado. La vinculación con otros agentes infecciosos como *Helicobacter pylori*, *Cytomegalovirus* (CMV) y *Virus Herpes Simple 1 y 2* (VHS-1 y VHS-2) es más controversial³.

Patogenia de la aterosclerosis

Se han manejado dos hipótesis para tratar de explicar el origen de la aterosclerosis^{4,5}, una que postula la proliferación celular a nivel de la íntima como una reacción al paso de proteínas y lípidos plasmáticos desde la sangre a la pared arterial (teoría lipídica); y la otra postula que la organización y crecimiento repetitivo de trombos da lugar a la formación de la placa ateromatosa (teoría trombogénica). Sin embargo, en la actualidad se incorporan elementos de ambas teorías y se describe la patogenia de la enfermedad aterosclerótica basada en una teoría multifactorial, donde la lesión aterosclerótica aparece en respuesta a una forma de lesión de las células endoteliales mejor conocida como disfunción endotelial^{6,7}.

La disfunción endotelial puede ser ocasionada por múltiples factores como: hiperlipidemia, obesidad, hipertensión arterial, tabaquismo, depósito de inmunocomplejos o por fuerzas mecánicas ejercidas por el flujo sanguíneo (sheer stress)^{7,8}. El endotelio disfuncional se caracteriza por la pérdida de las funciones fisiológicas del mismo; de esta manera existe un incremento en la permeabilidad de la pared arterial, permitiendo así el paso hacia la íntima de macromoléculas como las LDL y otras proteínas plasmáticas, aumento de la adhesión celular y reclutamiento de células inflamatorias, estimulación de la proliferación de las células

musculares lisas (CML), disminución de la producción de sustancias biológicamente activas, como el óxido nítrico (ON) y las prostacilinas, y pérdida de la carga negativa de la membrana plasmática de las células endoteliales (pérdida de glucosaminoglicanos), por lo que la célula disfuncional es proagregante^{9,10}.

En la actualidad, se han estudiado los diferentes mecanismos moleculares que explican la formación de las placas aterogénicas, y todo pareciera indicar que se inicia con una lesión endotelial que produce aumento de la adhesión y migración de los monocitos hacia el espacio subendotelial en respuesta a un gradiente de factores quimiotácticos como: lípidos oxidados¹¹, fragmentos de proteínas de la matriz extra celular (MEC) o citocinas inflamatorias, como por ejemplo la Proteína quimiotáctica para monocitos 1 (MCP-1)¹² y factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF)^{13,14}. La adhesión de los monocitos circulantes a las células endoteliales está mediada por la expresión de moléculas de adhesión de células vasculares 1 (VCAM-1), moléculas de adhesión intercelulares 1 (ICAM-1) y las selectinas E y P (E-selectina y P-selectina)^{15,16}.

Los macrófagos también proliferan en la íntima y son los responsables de la fagocitosis de lipoproteínas modificadas para generar así las células espumosas. Estas células fagocíticas expresan un receptor denominado "scavenger" o barrendero, el cual capta las LDL modificadas u oxidadas, y cuando se acumulan en su interior se transforman en células espumosas^{17,18}. Asimismo, los macrófagos producen IL-1 y TNF α que aumentan la adhesión de leucocitos, así como factores quimiotácticos para leucocitos (MCP-1 y M-CSF), producen radicales libres de O₂ que causan la oxidación de las LDL, modulan la proliferación de las CML y el depósito de MEC en las lesiones a través de estimulantes e inhibidores del crecimiento producidos por el macrófago como el Factor de Crecimiento derivado de Plaquetas y el Factor de Crecimiento Transformante β (PDGF y TGF- β)^{19,20}.

Es bien conocido que la hiperlipidemia desempeña un papel aterogénico importante ya que en conjunto a la disfunción endotelial se facilita el paso de las diferentes lipoproteínas (LDL, Lp(a) y VLDL) a la íntima, donde la LDL es modificada y favorece el desarrollo de la lesión aterosclerótica. La LDL oxidada acelera la aterogénesis mediante varios mecanismos:

- Es quimiotáctica para los monocitos circulantes¹¹.
- Aumenta la adhesión monocitaria¹¹.
- Estimula la liberación de factores de crecimiento y citocinas²¹.
- Es citotóxica para las células endoteliales y las CML²².
- Es inmunogénica^{23,24}.

Además de la acumulación de lípidos, la proliferación de las CML y el depósito de MEC en la íntima son los principales procesos responsables del crecimiento progresivo de las placas. La proliferación de las CML se origina por la migración de las células desde la capa media de las arterias y están implicados varios agentes quimiotácticos como el

PDGF, presentes en los gránulos alfa de las plaquetas y liberados tras la adhesión plaquetaria sobre los focos de lesión vascular. Las CML también elaboran y remodelan los componentes extracelulares de la placa aterosclerótica, pueden acumular grandes cantidades de colesterol y ésteres de colesterol, y junto con los macrófagos pueden formar células espumosas²⁵.

Chlamydia pneumoniae y riesgo de aterosclerosis

Las clamidias²⁶ son parásitos intracelulares obligatorios que no poseen maquinaria metabólica para producir su propia energía, por lo tanto son incapaces de sintetizar ATP. Son células procariotas que muestran similitud morfológica y estructural con las bacterias Gram negativas, poseen una membrana externa trilaminar que contiene lipopolisacáridos y varias proteínas de membrana, aunque parece no tener proteoglicanos clásicos, sin embargo, su genoma tiene todos los genes necesarios para su síntesis. Tienen ARN y ADN. Se clasifican como bacterias por la composición de su pared celular y porque se multiplican por fisión binaria, además tienen un ciclo de vida bifásico, caracterizado por: cuerpos elementales, que son formas extracelulares pequeñas, y los cuerpos reticulares, que son formas intracelulares replicativas más grandes. Su ciclo de desarrollo comienza cuando los cuerpos elementales atacan a la célula huésped y son fagocitados, dentro del fagosoma utilizan la energía de esta célula y se transforman en cuerpos reticulares produciendo las características inclusiones citoplasmáticas de la célula huésped^{27,28}.

Desde 1989^{28,29} fue establecido como una tercera especie de *Chlamydia* a la cepa TWAR, *Chlamydia pneumoniae*, cuyo nombre se derivó de la designación por laboratorio de los primeros aislamientos conjuntivales³⁰ y respiratorios³¹ (TW-183 y AR-39) de este organismo. Existen 3 especies de clamidias^{27,28}:

- *Chlamydia trachomatis*: responsable de enfermedades de transmisión sexual (linfogranuloma venéreo y uretritis no gonocócica) conjuntivitis y neumonía en infantes.
- *Chlamydia psittaci*: productor de neumonía y fiebre de origen desconocido.
- *Chlamydia pneumoniae*: agente responsable de neumonías adquiridas en la comunidad y productor de bronquitis.

Estructura antigénica

Las clamidias son inmunogénicas e inducen la producción de anticuerpos (IgG, IgM e IgA) a partir de antígenos de grupo (lipopolisacáridos termoestables) y antígenos específicos de cada especie como la Proteína mayor de la membrana externa (MOMP, por sus siglas en inglés)²⁷. Algo interesante de esta clase de bacterias es el fenómeno inmunológico involucrado en la respuesta inmune del huésped frente a la infección. Como son bacterias intracelulares obligadas, su destrucción depende entonces de dos mecanismos^{27,32}, destrucción de la bacteria dentro del fagosoma del macrófago ó la lisis de la célula infectada mediante los linfocitos T citotóxicos CD8⁺. Las clamidias son capaces de evadir la destrucción intracelular, por lo tanto, el mecanismo inmunológico responsable de su des-

trucción es la lisis del macrófago mediante el linfocito T citotóxico el cual induce la apoptosis celular.

La presencia de antígenos específicos de especie, fue demostrada por anticuerpos monoclonales específicos de *Chlamydia pneumoniae* en la prueba de inmunofluorescencia específica para este parásito³⁰. En todos los aislamientos examinados de TWAR se han identificado proteínas del complejo de membrana externa similares a las observadas en otras especies (proteínas ricas en cisteína de 15.5 y 60 kDa), sin embargo, la proteína rica en cisteína de 98-kDa parece estar presente sólo en las proteínas del complejo de la membrana externa de la *Chlamydia pneumoniae*. Esta proteína fue asociada como la responsable de la estructura rígida de la membrana que da la forma de pera a los cuerpos elementales³³.

Estudios Epidemiológicos

La infección por *Chlamydia pneumoniae*, parece tener una distribución mundial³⁴. En menores de 15 años, la seroprevalencia es igual en ambos sexos, pero suele ser mayor en hombres adultos que en mujeres adultas; las edades más afectadas son entre los 5 y 14 años, aunque aproximadamente el 50% de los adultos mayores de 20 años, han manifestado niveles detectables de anticuerpos. El reservorio conocido para *Chlamydia pneumoniae*, es el hombre y la vía de transmisión es de persona a persona vía respiratoria. Las manifestaciones clínicas comprenden: infecciones respiratorias^{28,35} (neumonía y bronquitis), sinusitis, faringitis, otitis media³⁶ e incluso existen reportes clínicos que la asocian a endocarditis³⁷, eritema nodoso³⁸ y síndrome de Guillain-Barré³⁹. Por otra parte, a lo largo de los años, varios ensayos se han realizado con el objetivo de esclarecer la relación existente entre la infección por *Chlamydia pneumoniae* y el origen o agravamiento de placas ateroscleróticas⁴⁰.

Estudios serológicos como los realizados por Saikku y colaboradores⁴¹ en 1988, concluyeron que la infección crónica con *Chlamydia pneumoniae* podría ser un factor de riesgo para enfermedad cardiovascular. Para llegar a esta conclusión midieron anticuerpos IgG específicos contra *Chlamydia pneumoniae*, mediante micro-inmunofluorescencia, en pacientes con enfermedad cardíaca aguda o crónica con el fin de demostrar la posible relación entre esta infección y la enfermedad cardiovascular. Sus resultados señalan que el 68% de los pacientes con infarto de miocardio (IM) y el 50% de los pacientes con enfermedad coronaria presentaron títulos elevados de IgG (mayor o igual a 128) e IgA (mayor o igual a 32).

Saikku en el año 2000⁴², señala que aproximadamente el 70% de las personas con IM son seropositivas para el lipopolisacárido clamidial (LPS) y encontró que niveles elevados de anticuerpos contra el LPS, estaban presentes en sueros de pacientes con infecciones o exacerbaciones con esta bacteria, y que la presencia de complejos de anticuerpos conteniendo LPS clamidial sugieren relación con la patogénesis del sistema vascular, demostrando que los títulos elevados de anticuerpos y complejos inmunes que contenían al LPS, fueron un factor significativo de

riesgo independiente para IM, de 3 a 6 meses antes del evento cardíaco.

En 1997, Danesh y colaboradores⁴³ basándose en estudios de casos control, encontraron relación entre enfermedad cardíaca y seroprevalencia de IgG clamidial, sin embargo en el 2000⁴⁴, este mismo equipo, no halló relación entre la prevalencia de IgG clamidial y enfermedad cardíaca luego de realizar ajustes en las variables a estudiar (género, edad, estatus socioeconómico y hábito tabáquico). Resultados similares niegan dicha asociación, así tenemos el trabajo realizado por Hoffmeister y colaboradores⁴⁵ en el año 2001, quienes publicaron que la Chlamydia pneumoniae no se asocia a alteraciones del lipidograma aclarando que en su estudio fue el Helicobacter pylori quien modificó dicho perfil, luego de analizar a 808 pacientes (470 sanos y 238 con enfermedad cardiovascular demostrada por angiografía) que fueron sometidos a estudios de seropositividad para Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori y Cytomegalovirus, además de determinar las concentraciones de colesterol total, HDL colesterol, Lp(a) y varias apolipoproteínas. Sus resultados demostraron que las concentraciones de HDL colesterol fueron significativamente disminuidas en los individuos sanos y seropositivos para Helicobacter pylori, en comparación con los sujetos seronegativos (1,36 vs 1.44 mmol/L, respectivamente; $p=0,006$), así como también, los niveles de Apo-A1 fueron significativamente bajos en los individuos sanos y seropositivos para Helicobacter pylori, comparados con los seronegativos (1.46 vs 1.51 gr/L, $p=0,03$); no se encontró relación significativa entre marcadores serológicos para Chlamydia pneumoniae o Cytomegalovirus con los niveles de lipoproteínas.

Sin embargo, a pesar de estos resultados antagónicos, la Chlamydia pneumoniae ha sido aislada en las placas ateromatosas⁴⁶ en diferentes estadios mediante varias técnicas, entre ellas inmunohistoquímica, reacción en cadena de la polimerasa, microscopía electrónica y cultivos celulares. En un estudio realizado por Mosorin⁴⁶ y colaboradores en el año 2000, demostraron que la inmunidad mediada por células contra Chlamydia pneumoniae juega un rol importante en la aterosclerosis, esto fue observado en muestras de tejidos carotídeos obtenidos de 17 pacientes sometidos a endarterectomía, tinciones inmunohistoquímicas, e hibridación in situ, quienes determinaron la presencia de Chlamydia pneumoniae en 11 (64%) de los 17 casos. Encontraron que la infiltración inflamatoria primaria fue mediada principalmente por linfocitos T de memoria CD45 RO⁺, mientras que los monocitos y las células B CD20⁺ estuvieron en menor proporción; además, observaron que la Chlamydia pneumoniae fue reconocida como un antígeno estimulador específico para células T en 7 (41%) de los 17 casos; así como también, mostraron que la proteína HSP60 kDa clamidial induce proliferación específica de células T en 5 de los 7 casos antes descritos. Sus hallazgos sugieren que existe relación entre la presencia de Chlamydia pneumoniae en placas ateroescleróticas de carótidas humanas y una respuesta que involucra inmunidad mediada por células, con la patogénesis de la aterosclerosis.

El equipo de Smieja⁴⁷ realizó un meta-análisis en el año 2002, de todos los trabajos previos sobre Chlamydia pneumoniae y aterosclerosis, demostraron la detección de ADN clamidial en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y su asociación con enfermedad cardiovascular. Sus resultados muestran que en nueve estudios cardiovasculares de casos control, la prevalencia de ADN circulante para Chlamydia pneumoniae, fue de 252 de 1763 (14.3%) pacientes con enfermedad cardiovascular y 74 de 874 (8.5%) controles. Esta prevalencia no se ajustó a otros factores de riesgo para eventos cardiovasculares por lo que concluyen que la detección de ADN clamidial se asocia a enfermedad cardiovascular en estudios de grupo control con variables no ajustadas, sin embargo, plantean que se necesitan más estudios que usen técnicas de detección específicas para Chlamydia pneumoniae donde el análisis estadístico incluya medición de cantidad de cigarrillos, estación del año, edad y género.

En un estudio realizado por Airene⁴⁸ y colaboradores, publicado durante el año 2002, sugieren que la inhibición de la apoptosis en células epiteliales y en monocitos humanos por Chlamydia pneumoniae, quizás sea uno de los mecanismos patogénicos de ésta, para producir enfermedades inflamatorias.

Helicobacter pylori y riesgo de aterosclerosis

El Helicobacter pylori⁴⁹ es un bacilo espirilar Gram negativo⁵⁰ que posee gran movilidad, caracterizado por la producción masiva de ureasa. Su localización anatómica en el ser humano es casi exclusivamente en la mucosa gástrica, por debajo del moco protector gástrico ya que no puede proliferar al pH del estómago sino a un pH de 6 a 7. En la luz estomacal el pH es de aproximadamente 1-2, mientras que el microambiente por debajo de la capa mucosa es de 7,4. Dentro de este ambiente alcalino el Helicobacter pylori produce amonio a través de su ureasa que le permite amortiguar el ácido y sintetiza ciertas proteasas que impiden que este difunda hacia el moco, para luego refugiarse en las células gástricas produciendo daño mecánico y químico, por lo que se asocia con la aparición del cáncer gástrico y enfermedad ulceropéptica, especialmente en gastritis antral y úlcera duodenal^{50,51}.

Estudios Epidemiológicos

Al igual que con Chlamydia pneumoniae, diversos estudios clínicos, epidemiológicos y experimentales han sugerido que la infección por Helicobacter pylori podría ser un factor de riesgo para enfermedad coronaria y aterogénica. Varios estudios⁵² señalan que existe una relación indirecta entre Helicobacter pylori y el riesgo de padecer enfermedad coronaria, debido a que la inflamación crónica producida por la bacteria en pacientes seropositivos, puede aumentar otros factores de riesgo para la misma como son: fibrinógeno⁵³ y proteína C reactiva⁵⁴. Sin embargo, aún no se conocen los mecanismos por los cuales esta relación podría ser causal o agravante de situaciones previas, por lo que continúa siendo un tema controversial.

En 1997 utilizando un modelo animal en ratones con infección mediante inyección intravenosa en la microcir-

culación gástrica de partículas de la bacteria, el equipo de Elizalde⁵⁵ obtuvo la formación de agregados plaquetarios tanto homólogos (plaquetas-plaquetas) como heterólogos (plaquetas-leucocitos). Más específicamente, aquellas cadenas bacterianas CagA⁺ Tox⁺ produjeron un mayor flujo mononuclear con incremento en la producción de IL-8. Estos hallazgos son relevantes en la anatomopatología de la úlcera gástrica sin embargo su papel en el shock séptico, trombosis y aterosclerosis aún queda por establecerse, sin embargo, teniendo en cuenta que los agregados leucocitarios-plaquetarios son punto clave en el desarrollo del infarto del miocardio estos eventos tendrían importancia si la bacteria infectara una placa ateromatosa.

En el 2001, Ameriso y colaboradores⁵⁶ estudiaron 38 placas ateroscleróticas de arterias carótidas humanas con el propósito de identificar la presencia de *Helicobacter pylori* y células mononucleares inflamatorias, mediante técnicas de inmunohistoquímica y reacción en cadena de la polimerasa. Encontraron ADN de *Helicobacter pylori* en 20 pacientes (53%) y la presencia del microorganismo en la superficie endotelial y en la íntima, de 10 de los 20 casos ADN positivos de *Helicobacter pylori*, también observaron que la mitad de las placas expresaron ICAM-1, 15 de los 20 pacientes (75%) con ADN positivo para *Helicobacter pylori* y en 4 de los 18 pacientes (22%) ADN negativos para *Helicobacter pylori*; concluyendo que *Helicobacter pylori* está presente en un número importante de lesiones ateroscleróticas de carótida y está asociado a moléculas de respuesta celular inflamatoria.

Por otra parte, en 1996, Blasi y colaboradores⁵⁷ realizaron estudios de inmunohistoquímica en 51 pacientes que se sometieron a cirugía para aneurisma aórtico abdominal; las muestras fueron sometidas a microinmunofluorescencia con anticuerpos para *Chlamydia pneumoniae* y *Helicobacter pylori* reportando que existe una relación entre *C. pneumoniae* y desarrollo de lesiones aneurismales, mientras que se descartó la posibilidad de una relación causal por parte del *H. Pylori*.

En 1999, Koenig y colaboradores⁵⁸ estudiaron la prevalencia de infección con *H. Pylori* positivas para CagA en 312 pacientes con enfermedad cardiovascular y 479 controles. La prevalencia de CagA⁺ fue de 27,9% en pacientes y 21,7% en los controles, y no se observó modificaciones de niveles séricos de marcadores inflamatorios, por lo que concluyen que la relación causal es baja y sin significancia estadística.

Durante el 2002, Mach y colaboradores⁵⁹ utilizaron modelos de ratón propensos a aterosclerosis (Receptor de LDL deficientes) para obtener evidencia directa de relación entre *Helicobacter pylori* y aterosclerosis; mediante la inoculación de la bacteria a estos animales los cuales posteriormente fueron sometidos a una dieta hipercolesterolémica. Este grupo reportó que no hubo ningún agravamiento de aterosclerosis previa en ratas normales ni inducción de aterosclerosis en animales propensos a la misma, ni modificación de otros factores aterogénicos como el perfil lipídico, por lo que concluyen que ésta bacteria no tiene un rol importante en la patogénesis de la aterosclerosis.

Cytomegalovirus (CMV) y Enfermedad Cardiovascular

Este microorganismo pertenece al grupo de los herpesvirus e infecta entre el 50 y 100% de la población humana durante la infancia. Algunos miembros de la familia de virus herpes poseen un fuerte tropismo por las células del sistema cardiovascular. La infección por este virus se ha asociado frecuentemente con la aparición de vasculitis y aterosclerosis, hecho que se ha observado en varios estudios seroepidemiológicos y por la detección frecuente del ADN de este virus en las arterias de pacientes con aneurisma aórtico abdominal inflamatorio como también en las lesiones de pacientes con enfermedad arterial coronaria. Sin embargo, recientes estudios muestran una asociación entre la seropositividad para este virus con el daño de la función vascular en individuos asintomáticos, sugiriendo así que esta infección es un evento temprano en el desarrollo cronológico de la enfermedad cardiovascular⁶⁰.

El CMV es capaz de infectar todos los tipos celulares en la pared vascular, incluyendo a las células endoteliales y las células del músculo liso, esta infección puede provocar la lisis celular o en una latencia del virus⁶¹. La infección de las células del músculo liso conlleva a la generación de especies reactivas de oxígeno y activación del Factor de transcripción Nuclear- $\kappa\beta$ lo que resulta en la síntesis de citoquinas proaterogénicas⁶². Además, un producto genético de este virus, el US28; un receptor viral de quimioquinas; estimula la migración de las células musculares lisas en respuesta a quimioquinas inflamatorias y a la proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1). Los efectos mediados por el US28 representan un mecanismo molecular que explica como la infección por CMV puede contribuir de forma directa en la formación de neointima acelerando así la enfermedad vascular⁶³.

Aterosclerosis e Infección: Bases Inmunomoleculares

Como ya se planteó anteriormente, existe una firme relación entre *Chlamydia pneumoniae* y el desarrollo de la aterosclerosis, sin embargo el mecanismo por el cual la infección por *Chlamydia pneumoniae* puede intervenir en la génesis o agravamiento de lesiones ateroscleróticas aún no ha sido dilucidado, no obstante, existen estudios⁶⁴ que sugieren que la vía que enlaza dicha relación es el proceso inflamatorio desencadenado por los antígenos específicos (como el lipopolisacárido clamidial, las proteínas de choque térmico) una vez que se produce la infección y la diseminación sistémica a través de los monocitos y los macrófagos⁶⁵. Además, la infección por *Chlamydia pneumoniae* induce la proliferación de CML a través del aumento en la producción de factores solubles con actividad mitógena por parte de células endoteliales, como por ejemplo: Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento epidermal (EGF) y factor de crecimiento semejante a la insulina- 1 (IGF-1), los cuales juegan un importante papel en la migración y proliferación de CML durante la aterogénesis⁶⁶. Asimismo, la infección de células endoteliales con este parásito estimula la migración de macrófagos y neutrófilos⁶⁷, a través del aumento de TNF α que estimula la expresión de moléculas de adhesión celular.

Lipopolisacárido clamidial

El lipopolisacárido clamidial (LPS) es secretado de forma lenta pero persistente dentro del macrófago luego de la fagocitosis de la partícula infectante y pareciera ser el principal promotor del efecto aterogénico. Dentro de las funciones del LPS está la de estimular la formación de células espumosas, hecho que fue estudiado por Kalayoglu y Byrne⁶⁸ en 1998, quienes incubaron macrófagos con *Chlamydia pneumoniae* y LDL, resultando en un incremento en la tasa de captación de las LDL por parte del macrófago. Por otro lado, cuando la bacteria infecta al fagocito, el LPS media sus efectos vía receptor CD14 estimulando la secreción de factor de necrosis tumoral- α e interleucina-1, los cuales van a inducir una serie de cascadas inmunológicas destinadas a modificar patrones celulares a distancia.

Efectos locales

Se ha especulado los posibles papeles de la infección por *Chlamydia pneumoniae* en la aterosclerosis, pudiendo ser los siguientes: 1) se queda en las células endoteliales sin contribuir a la patología, 2) causa la injuria inicial de la enfermedad, 3) acelera el proceso y la gravedad de la misma. La bacteria es capaz de diseminarse a través de la vía hematogena y linfática por medio de macrófagos infectados⁶⁹, llegando así a las placas ateromatosas distribuidas por todo el árbol vascular. Se ha establecido que una de las vías más importantes para sus efectos adversos sobre el sistema cardiovascular, es su capacidad de estimular la síntesis de citocinas inflamatorias, especialmente dentro del microambiente de la placa.

La infección de *Chlamydia pneumoniae* en células endoteliales⁷⁰ produce varios efectos, entre ellos: incremento de la proteína quimiotáctica para monocitos 1 (MCP-1), aumenta la adhesión plaquetaria, aumenta las moléculas de adhesión celular (E-selectina, ICAM-1, VCAM-1), los macrófagos secretan citocinas proinflamatorias como IL-1, IL-6, IL-8, TNF α y moléculas tipo CD14, y además los cuerpos elementales son quimiotácticos de los monocitos per se, por lo que incrementan el reclutamiento de células inflamatorias mononucleares⁶⁷. Además de infectar a células mononucleares y células endoteliales, este patógeno también es capaz de producir infección crónica en las células musculares lisas⁷¹, caracterizado por la inducción de IL-6 y factor de crecimiento fibroblástico (FGF). La IL-6 incrementa la actividad plaquetaria y los niveles de fibrinógeno aumentando la viscosidad sanguínea, mientras que el FGF es un potente mitógeno de los mocitos lisos, en suma, estos efectos incrementan el tamaño de la placa, favorecen los fenómenos trombóticos y se han asociado con inestabilidad de la misma, lo que incrementa el riesgo de fenómenos aterotrombóticos agudos. También, la infección por *Chlamydia pneumoniae* induce la proliferación de las células musculares lisas a través de la producción de factores solubles derivados de la célula endotelial, como son: factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor de crecimiento semejante a la insulina -1 (IGF-1), los cuales juegan un rol importante en la migración y proliferación de las células musculares lisas, durante la aterogénesis⁶⁶. No

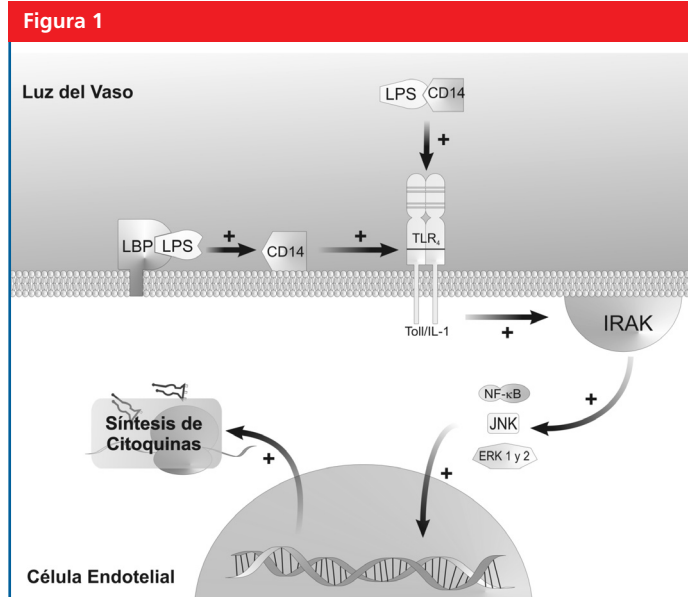
obstante, el estudio de Knoebel y colaboradores⁸⁵ apoyan que la infección por *Chlamydia pneumoniae* es mayor en células ricas en colesterol, esto lo observaron al incubar miocitos lisos vasculares bovinos, de conejos y humanos con *Chlamydia pneumoniae* reportando que los tres tipos celulares eran susceptibles, pero que los miocitos cargados con colesterol eran aún más propensos a la infección, por lo que infieren que las células espumosas de la placa tienen un mayor riesgo de infección por la bacteria y que esto apoya la hipótesis del posible rol de la *Chlamydia pneumoniae* en el agravamiento de las lesiones ateroscleróticas, más que en el origen de las mismas.

Vías moleculares

El LPS necesita 4 moléculas para poder cumplir su función: la primera es el receptor CD14^{72,73}; una molécula que se encuentra en la superficie de las membranas plasmáticas unida a fosfatidilinositol de las células de la línea mielomonocítica; la segunda es la proteína de unión a LPS/proteína transferidora de lípidos (LBP)^{74,75}, el tercero es el receptor tipo Toll (Toll like receptor-TLR) y cuarto su proteína asociada: MD2.

El proceso se inicia con la formación de un complejo entre la LPS y la LBP, donde la modificación tridimensional permite la aparición del patrón de unión del LPS al CD14, formando otro complejo el LPS-CD14 que activa entonces al receptor tipo Toll-4⁷⁶ y termina con la activación de las células mononucleares y en la secreción de sustancias que participan en la inflamación, a través de la activación de factores de transcripción. Aunque las células endoteliales no expresan el CD14, se piensa que su forma soluble⁷⁷ es la responsable de la activación de éstas, lo cual está representado por la alteración de la superficie celular debido a la expresión de VCAM-1, ICAM-1 y ELAM-1 (molécula de adhesión endotelial-leucocitaria), factor tisular y trombomodulina.

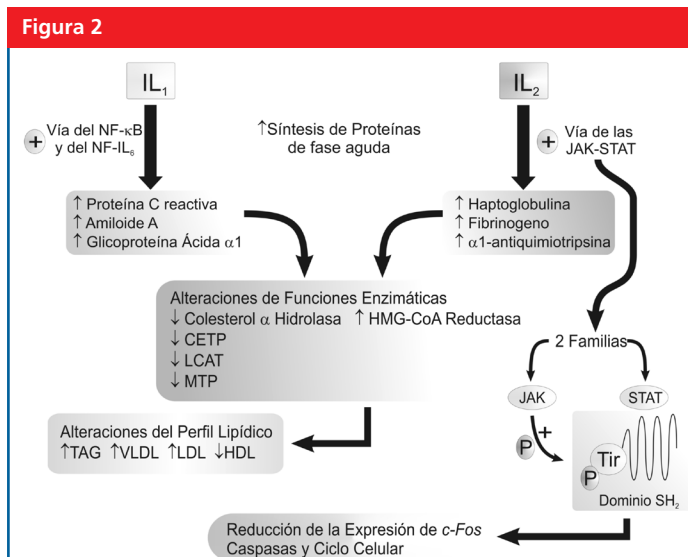
Como se explicó anteriormente, la LBP forma un complejo con el LPS, el cual luego se une al CD14 de la membrana, sin embargo también puede unirse con gran afinidad a su forma soluble, y para esto se necesitan por lo menos 50 ng/ml de LPS para activar la formación del complejo con la LBP, pero concentraciones por encima de los 500 ng/ml, son suficientes para que el CD14 active las células endoteliales, sin la participación de las LBP⁷⁷. Luego de la formación de los 2 complejos antes mencionados, el efector principal de las acciones del LPS es el TLR⁷⁸ el cual pertenece a la familia de receptores tipo Toll, proteínas transmembrana caracterizadas por un dominio extracelular rico en leucina y un dominio intracelular que es semejante al dominio intracelular del receptor para IL-1, por lo que es denominado dominio Toll/IL-1. El LPS y la Proteína 60 de Choque Térmico clamidial (HSP-60) son capaces de activar al TLR-4, el cual a su vez activa al dominio Toll/IL-1 y éste estimula a la cinasa asociada al receptor de IL-1 (IRAK) la cual es la mediadora de la estimulación de los factores de transcripción (NF- κ B, Proteínas cinasas activadas por estrés, cinasa c-Jun N-terminal [JNK], y ERK 1-2) induciendo la síntesis de citocinas proinflamatorias⁷⁹. (Figura 1)



Efectos de la infección por *Chlamydia pneumoniae* a nivel de la célula endotelial. Mecanismo molecular. LPS: Lipopolisacárido clamidial; LBP: proteína de unión a lipopolisacárido/proteína transferidora de lípidos; TLR₄: receptor tipo Toll; IRAK: cinasa asociada al receptor de IL-1; NF-κB: factor nuclear κB; JNK: cinasa c-Jun N-Terminal; ERK: cinasa reguladora de señal extracelular. Ver explicación en el texto.

Efectos a distancia

Durante la infección, la IL-1 y la IL-6 son capaces de activar la síntesis de la proteína C reactiva, proteína amiloide A, glicoproteína ácida alfa-1 y la haptoglobulina, fibrinógeno y alfa-1 antiqumiotripsina, respectivamente. La IL-1 media esta síntesis mediante la vía del NF-κB y el NF-IL6, mientras que la IL-6 lo hace a través de la vía de las JAK-STAT. La vía JAK-STAT involucra dos familias⁸⁰: la familia de los STAT (Signal Transducer And Activator of Transcription), los cuales regulan la expresión de c-fos, caspasas y ciclo celular, y de la familia JAK (Janus kinase). Los STAT deben estar fosforilados en sus residuos Tirosina para poder dimerizarse (a través de su dominio SH2) y de éste modo unirse al ADN, y son las JAK quienes fosforilan a las STAT. (Figura 2)



Efectos a distancia de la infección por *Chlamydia pneumoniae*. NF - κB: factor nuclear κB; NF-IL₆: factor nuclear interleucina 6; JAK: cinasa Janus; STAT: traductor de señal y activador de transcripción; CETP: proteína transferidora de ésteres de colesterol; LCAT: lecitin colesterol acil-transferasa; MTP: proteína transferidora de TAG. Ver explicación en el texto.

Esta síntesis de las proteínas de la fase aguda producen efectos a nivel del metabolismo lipídico hepático, observándose alteración del perfil lipídico, por ejemplo: incremento de TAG, VLDL, LDL pero disminución de HDL, por lo que se sabe que la infección disminuye la función de las siguientes enzimas claves: colesterol alfa-hidroxilasa⁷⁵, CETP⁸¹ (proteínas transferidoras de ésteres de colesterol), LCAT⁸² (lecitin:colesterol acil transferasa), apo E⁸³, y MTP⁸⁴ (proteína transferidora de TAG microsomal), mientras que se incrementa la actividad de la HMG CoA reductasa⁸³. Estos cambios hacia un perfil lipídico aterogénico, aumentan la sensibilidad de las células a la infección por *Chlamydia pneumoniae*, esto fue estudiado por Hu y colaboradores⁸⁵ quienes utilizaron ratones knock out para el receptor de LDL, demostrando que la *Chlamydia* necesita niveles elevados de colesterol para poder ejercer su posible efecto aterogénico, como es exacerbar la progresión de la placa, por lo que sus efectos a distancia favorecería el resultado de la infección sobre la enfermedad ateromatosa.

Infección crónica (latente)

La apoptosis es un proceso suicida; que requiere de una maquinaria especializada; que culmina con la muerte celular programada de una o un grupo de células, generalmente utilizado durante el desarrollo embrionario, hemostasis, vigilancia antitumoral y defensa inmunológica (sobretudo viral). En el ámbito inmunológico las células CD8⁺ citotóxicas y las asesinas naturales (NK) son capaces de activar la apoptosis de las células infectadas para eliminar la fuente de infección y detener la diseminación del microorganismo causal, por lo tanto de la eficacia y efectividad del proceso depende la supervivencia de huésped^{86,87}.

Una de las características de la infección clamidial es la capacidad para producir infección latente, esto fue estudiado por Fan y colaboradores⁸⁸ quienes postulan que la *Chlamydia* es capaz de inhibir la señal apoptótica inducida por agentes inmunológicos, siendo éste el principal mecanismo de latencia de la bacteria, basado en el bloqueo de la salida del citocromo c de la mitocondria (produciendo estabilidad de las membranas mitocondriales) por lo que no ocurre la activación de las caspasas, para este fenómeno, propusieron 3 mecanismos: i) inducción de factores antiapoptóticos, como los homólogos mamíferos de Bcl-2, como el BHRF1 del virus Epstein Barr; ii) incrementa la expresión de Bcl-2 ya que esta molécula previene la salida del citocromo c y la activación de la caspasa 3 y iii) perturbación de la señalización mitocondrial relacionada con la integridad de las membranas, sin embargo, los investigadores concluyen que el mecanismo más probable es el primero, es decir, que la síntesis de sustancias antiapoptóticas, sería la responsable de la infección latente de *Chlamydia pneumoniae*.

Proteínas de Choque Térmico

Las proteínas de choque térmico⁸⁹ (HSP) son un grupo de polipéptidos secretados por células eucariotas y procariontas en respuesta a estímulos agresores externos como calor extremo, infecciones, estados oxidativos intensos y en respuesta a ciertas citocinas, con el único propósito de proteger la célula. Su principal función es la de servir como chaperonas: grupo de proteínas que regulan el

plegamiento adecuado de las proteínas sin formar parte ellas mismas de la estructura final proteica. Existen 3 grupos, las HSP60 (constituida por la Hsp60 y Grp58) que forma parte del grupo III, y se encuentran en mitocondria donde median el plegamiento y almacén de proteínas mitocondriales; por otra parte HSP60 puede aumentar la expresión de moléculas de adhesión celular, favorece la secreción de proteínas proinflamatorias y modula la actividad de metaloproteinasas en macrófagos, CML y células endoteliales⁹⁰. La familia HSP se expresan en placas ateromatosas a partir de células endoteliales activadas por citocinas (TNF α e interleucinas), LPS y LDL, encontrándose asociación entre la producción de Hsp60 y moléculas de adhesión celular⁹¹.

Estudios previos han asociado la presencia de anticuerpos específicos contra HSP humana y clamidial con reacción inflamatoria y el posible rol en el origen y empeoramiento de lesiones ateroscleróticas; en el año 1999, Kol y colaboradores⁹⁰, estudiaron las HSP60 humana y clamidial en ateromas humanos, y examinaron la expresión de E selectina, ICAM-1, VCAM-1 e IL-6, mas la inducción del factor nuclear $\kappa\beta$ (NF- κ B), encontraron que las HSP60 humana y clamidial induce la expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales, similar a la inducción de éstas por el LPS de *Escherichia coli*, además se determinaron que las HSP60 induce significativamente la síntesis de IL-6 por parte de macrófagos, células musculares lisas y células endoteliales y estimula la activación de NF- κ B⁹¹, el cual contribuye a la expresión de genes para estas moléculas; por lo tanto concluyen que las HSP60 humana y clamidial activa las funciones de la célula vascular humana, desencadenando eventos inflamatorios que podrían ser aterogénicos o agravantes de lesiones ateroscleróticas previas.

Metaloproteinasas

Las metaloproteinasas (MMP) son un grupo de 17 polipéptidos que contienen zinc en su estructura encargadas del remodelamiento tisular y actividad proteolítica durante la inflamación. Las MMP se clasifican en colagenasas, gelatinasas, estromelinasas y matrilisina. El macrófago es capaz de secretar una colagenasa intersticial (MMP1), una gelatinasa de 72 kDa (MMP2) y otra de 92 kDa (MMP9), estromelinasa (MMP3) y matrilisina (MMP7). Se ha demostrado que la infección por *Chlamydia pneumoniae* en macrófagos aumenta tanto la síntesis como la expresión de MMP9. Vehmaan-Kreula y colaboradores⁹² en el 2001 realizaron estudios titulares con macrófagos determinando que luego de incubarlos por 1,5 horas con la bacteria, observaron un incremento selectivo de la expresión de esta MMP. El equipo propone que el mecanismo inductor se debe a la activación del factor de transcripción NF- κ B⁹¹, quien tiene sitios de unión en el sitio promotor del gen para MMP9, gracias a la acción de la HSP60 clamidial y al *Omp2*, quienes son capaces de regular en alta la síntesis de ésta enzima. La importancia de este hallazgo se adjudica a que placas infectadas poseen una mayor cantidad de macrófagos invadidos por las partículas infectantes que incrementan la producción de estas MMP capaces de producir disrupción y desestabilización de la placa vulnerable⁹³, ya que la capa fibrosa se adelgaza y es más fácil su ruptura y la precipitación de un fenómeno trombótico.

Estos cambios producidos por la infección aguda y crónica por *Chlamydia pneumoniae* favorecen a la desestabilización de la placa debido a un aumento de la actividad de las metaloproteinasas y de la celularidad de la misma; además las citocinas antes mencionadas provocan la lisis de las células espumosas infectadas aumentando la cantidad de LPS en el medio prolongando dichos fenómenos. Debido a todo esto la infección por *Chlamydia pneumoniae* se ha asociado como un agente posiblemente implicado en la génesis o agravamiento de placas ateroscleróticas⁶⁴.

Conclusiones

D

urante años recientes nuestro entendimiento acerca de los mecanismos que envuelven el desarrollo y progresión de las lesiones ateroscleróticas ha aumentado en gran medida. La aterosclerosis es vista ahora como la consecuencia de una cascada inflamatoria que puede ser iniciada por infecciones microbianas en la pared de los vasos y su desarrollo puede ser acelerado bajo ciertas condiciones como la hipercolesterolemia e hipertensión⁶³. La inflamación, y por consiguiente, la infección crónica juegan un rol importante en la iniciación de esta enfermedad y en su progresión hasta sus estadios finales. Las lesiones ateroscleróticas están altamente infiltradas por células que están asociadas a la inflamación (macrófagos y linfocitos T) y la ruptura de la placa también está asociada a componentes inflamatorios⁹⁴.

La infección y la inflamación son asociadas con cambios marcados en el metabolismo de los lípidos y lipoproteínas. Añadido a su papel en el transporte lipídico, las lipoproteínas participan en la inmunidad innata, siendo ésta la primera línea de defensa del huésped ante la invasión por algún microorganismo, muchos de esos cambios tienen un efecto protector sobre el huésped. Sin embargo, en los casos de infecciones crónicas, enfermedades inflamatorias, diabetes, obesidad y síndrome metabólico, muchos de esos cambios; inducidos por las citoquinas en la estructura y función de las lipoproteínas; pueden ser deletéreos y contribuir al desarrollo de la aterosclerosis⁹⁵. La infección por microbios como *C. pneumoniae* puede iniciar el proceso de la aterosclerosis y contribuir en la maduración de las placas ateroscleróticas. Las células inflamatorias están siempre presentes en estas placas y responden a diferentes estímulos sistémicos liberando proteasas y factores procoagulantes que pueden provocar la ruptura de la placa y un tromboembolismo⁹⁶.

La medición de los niveles plasmáticos de PCR debe ser considerada de rutina en la práctica clínica para poder identificar a los individuos que poseen un elevado riesgo inflamatorio para enfermedad cardiovascular⁹⁶.

Referencias

- 1 Kol A, Libby P. The mechanisms by which infectious agents may contribute to atherosclerosis and its clinical manifestations. *Trends Cardiovasc. Med.* 1998; 8(5):191-199.

- 2 Anderson J, Carlquist J, Muhlestein J, Horne B, Elmer S. Evaluation of C-reactive protein, and inflammatory marker, and infectious serology as risk factors for coronary artery disease and myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1998; 32(1):35-41.
- 3 Fong I. Emerging relations between infectious diseases and coronary artery disease and atherosclerosis. *CMAJ.* 2000; 163(1):49-56.
- 4 Falk E. Pathogenesis of Atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006; 47: C7- C12.
- 5 Ghazalpour A, Doss S, Yang X, Aten J, Toomey E, Van Nas A, Wang S, Drake T, Lusis A. Thematic review series: The Pathogenesis of Atherosclerosis. Toward a biological network for atherosclerosis. *J. Lipid Res.* 2004; 45:1793-1805.
- 6 Ross R. Atherosclerosis: a problem of the biology of arterial wall cells and their interactions with blood component. *Arteriosclerosis* 1981; 1:293-311.
- 7 Nageswara R, Vendrov M, Runge M. Oxidative Stress and Vascular Disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25: 29-38.
- 8 McMillan DE. Blood flow and the localization of atherosclerotic plaques. *Stroke.* 1985;16: 582-587.
- 9 Jonasson L, Holm J, Skalli O, Bondjers G, Hansson G. Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis.* 1986; 6:131-138.
- 10 Van der Wal AC, Das PK, Bentz van de Berg, van der Loos CM, Becker AE. Atherosclerotic lesions in human: in situ immunophenotypic analysis suggesting an immune mediated response. *Lab. Invest.* 1989; 61:166-170.
- 11 Stocker R., Keaney J. Role of Oxidative Modifications in Atherosclerosis. *Physiol. Rev.* 2004; 84:1381-1478.
- 12 Leonard EJ, Yoshimura T. Human monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1). *Inmunol Today.* 1990; 11: 97-101.
- 13 Quinn MT, Parthasarathy S, Fong LG, Steinberg D. Oxidatively modified low density lipoprotein: a potential role in recruitment and retention of monocyte/macrophages during atherogenesis. *PNAS.* 1987; 84:2995-2998.
- 14 Rajavashisth TB, Andalibi A, Territo MC, Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Lusis AJ. Induction of endothelial cell expression of granulocyte and macrophage colony-stimulating factors by modified low- density lipoproteins. *Nature.* 1990; 344: 254-247.
- 15 De Caterina R, Basta G, Lazzerini G, Dell'Omo G, Pertrucci R, Morale M, Carmassi F, Pedrinelli R. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 as a biohumoral correlate of atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997; 17: 2646-2654.
- 16 Hwang S-J, Ballantyne CM, Sharrett AR, Smith LC, Davis CE, Gotto AM Jr, Boerwinkle E. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation.* 1997; 96:4219-25.
- 17 Ylä-Herttua S, Palinski W, Rosenfeld ME, Parthasarathy S, Carew TE, Butler S, Witztum JL, Steinberg D. Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J. Clin. Invest.* 1989; 84(4): 1086-1095.
- 18 Han J, Hajjar DP, Nicholson AC, Febbraio M. Native and modified low density lipoproteins increase the functional expression of the macrophage class B scavenger receptor, CD36. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 21654-21659.
- 19 Smith RE, Hogaboam CM, Strieter RM, Lukacs NW, Kunkel SL. Cell- to- cell and cell- to- matrix interactions mediate chemokine expression: an important component of the inflammatory lesion. *J. Leukoc. Biol.* 1997; 62: 612-619.
- 20 Qiao JH, Tripathi J, Mishra NK, Cai Y, Tripathi S, Wang XP, Imes S, Fishbein MC, Clinton SK, Libby P, Lusis AJ, Rajavashisth TB. Role of macrophage colony-stimulating factor in atherosclerosis: studies of osteopetrotic mice. *Am J. Pathol.* 1997; 150:1687-99.
- 21 Folcik VA, Aamir R, Cathcart MK. Cytokine modulation of LDL oxidation by activated human monocytes. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997; 17:1954-1961.
- 22 Morel DW, Hessler JR, Chisholm GM. Low density lipoprotein cytotoxicity induced by free radical peroxidation of lipid. *J. Lipid Res.* 1983; 24: 1070-1076.
- 23 Hansson G. Immune Mechanisms in Atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001; 21:1876-1890.
- 24 Stemme S, Faber B, Holm J, Wiklund O, Witztum JL, Hansson GK. T lymphocytes from human atherosclerotic plaques recognize oxidized low density lipoprotein. *PNAS.* 1995; 92: 3893-3897.
- 25 Babaev VR, Bobryshev YV, Stenina OV, Tararak EM, Gabbiani G. Heterogeneity of smooth muscle cells in atheromatous plaque of human aorta. *Am. J. Pathol.* 1990; 136(5): 1031-42.
- 26 Boman, J. and Hammerschlag, M. Chlamydia pneumoniae and Atherosclerosis: Critical Assessment of Diagnostic Methods and Relevance to Treatment Studies. *Clinical Microbiology Reviews.* 2002;15(1):1-20.
- 27 Jones R, Batteiger B. Chlamydial Disease: Introduction to Chlamydial Diseases. En Mandell. Principles and practice of Infectious Diseases. 2000; 5:1986-1988.
- 28 Üstünsoy H, Sivriköz C, Sirmatel F, Bakır K, Burma O, Kazaz H. Is Chlamydia Pneumoniae a Risk Factor for Peripheral Atherosclerosis? *Asian. Cardiovasc. Thorac. Ann.* 2007; 15: 9-13.
- 29 Camm A, Fox K. Chlamydia pneumonia (and other infective agents) in atherosclerosis and acute coronary syndromes How good is the evidence? *European Heart Journal.* 2000; 21:1046–1051.
- 30 Miyairi I, Tatireddigari V, Mahdi O, Rose L, Belland R, Lu L, Williams R, Byrne G. The p47 GTPases Iigp2 and Irgb10 Regulate Innate Immunity and Inflammation to Murine Chlamydia psittaci Infection. *J. Immunol.* 2007; 179: 1814-824.
- 31 Grayston J-t, Kuo C-C, Wang S-P, Altman J. A new Chlamydia psittaci strain TWAR, isolated in acute respiratory tract infection. *NEJM.* 1986; 315:161-168.
- 32 Roitt I, Brostoff J, Male D. *Immunología.* Editorial Harcourt Brace, 4ta Edición. Barcelona España. 1997, pp17.1-17.11.
- 33 Pérez Melgosa M, Kuo C-C, Campbell L-A. Outer membrane complex proteins of Chlamydia pneumoniae. *FEMS. Microbiol. Lett.* 1993; 112:199-204.
- 34 Saikku P. Epidemiology of Chlamydia pneumoniae in atherosclerosis. *Am. Heart. J.* 1999; 138(5 Pt 2):S500-503.
- 35 Grayston J-T Aldous M-B, Easton A. Evidence that Chlamydia pneumoniae causes Pneumonia and bronchitis: *J. Infect. Dis.* 1993; 169:1231-1235.
- 36 Grayston J-T. Infection caused by Chlamydia pneumoniae strain TWAR. *Clin. Infect. Dis.* 1992; 15:757-763.
- 37 Marrie TJ, Harczy M, Mann OE, Landymore RW, Raza A, Wang SP, Grayston JT. Culture- negative endocarditis probably due to Chlamydia pneumoniae. *J. Infect. Dis.* 1990; 161:127-129.
- 38 Erntell M, Ljunggren K, Gadd T, Persson K. Erythema nodosum- a manifestation of Chlamydia pneumoniae (strain TWAR) infection. *Scand. J.Infect. Dis.* 1989;21:693-696.
- 39 Haidi S, Ivarsson S, Bjerre I, Persson K. Guillan- Barre Syndrome after Chlamydia pneumoniae infection. *NEJM.* 1992; 326:576-577.
- 40 Saikku P. Chlamydia pneumoniae in atherosclerosis. *J. Intern. Med.* 2000;247(3):391-396.
- 41 Saikku P, Leinonen M, Mattila K, Ekman MR, Nieminen MS, Mäkelä PH, Huttunen JK, Valtonen V.. Serological evidence of an association of a novel Chlamydia TWAR with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet.* 1988;ii:936-946.
- 42 Saikku P. Epidemiologic association of Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis: the initial serologic observation and more. *J. Infect. Dis.* 2000; 181 Suppl. 3:S411-413.
- 43 Danesh J, Collins R, Petro R. Chronic infections and coronary heart disease: Is there a link? *Lancet.* 1997; 350:430-6.
- 44 Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, Wong Y, Bernardes-Silva M, Ward M. Chlamydia pneumoniae IgG titres and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *BMJ.* 2000; 321(7255):208-213.
- 45 Hoffmeister A, Rothenbacher D, Bode G, Persson K, März W, Nauck MA, Brenner H, Hombach V, Koenig W. Current infection with Helicobacter pylori, but not seropositivity to Chlamydia pneumoniae or cytomegalovirus, is associated with an atherogenic, modified lipid profile. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21:427-432.
- 46 Mosorin M, Surcel HM, Laurila A, Lehtinen M, Karttunen R, Juvonen J, Paavonen J, Morrison RP, Saikku P, Juvonen T. Detection the Chlamydia pneumoniae- reactive T lymphocytes in human atherosclerotic plaques of carotid artery. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* 2000; 20(4):1061-1067.
- 47 Smieja M, Mahony J, Petrich A, Boman J, Chernesky M. Association of circulating Chlamydia pneumoniae DNA with cardiovascular disease: a systemic review. *BMC. Infectious Diseases.* 2002; 2:21.
- 48 Airene S, Surcel HM, Tuukkanen J, Leinonen M, Saikku P.. Chlamydia pneumoniae inhibits apoptosis in human epithelial and monocyte cell lines. *Scand. J. Immunol.* 2002;55(4):390-8.
- 49 Kusters J, Van Vliet A, Kuipers E. Pathogenesis of Helicobacter pylori Infection. *Clinical Microbiology Reviews.* 2006;19(3):449–490.

- 50 Dunn B, Cohen H, Blaser M. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev*. 1997;10(4):720-741.
- 51 Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* Infection. *N Eng J Med*. 2002; 347(15): 1175-1186.
- 52 Mendall MA, Goggin PM, Molineaux N, Levy J, Toosy T, Strachan D, Camm AJ, Northfield TC. Relation of *Helicobacter pylori* infection and coronary heart disease". *Br Heart, J*. 1994; 71: 437-9.
- 53 Patel P, Carrington D, Strachan DP, Leatham E, Goggin P, Northfield TC, Mendall MA. Fibrinogen: a link between chronic infection and coronary heart disease. *Lancet*. 1994;343:1634.
- 54 Mendall MA, Patel P, Ballan I, Strachan D, Northfield TC. C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factor. *BMJ*. 1996; 312:1061-1065.
- 55 Elizalde JI, Gómez J, Panés J, Lozano M, Casadevall M, Ramírez J, Pizcueta P, Marco F, Rojas FD, Granger DN, Piqué JM. Platelet Activation In Mice and Human *Helicobacter Pylori* Infection. *J Clin Invest*. 1997;100(5):996-1005.
- 56 Ameriso S, Fridman E, Leiguarda R, Seveler G. Detection of *Helicobacter pilori* in Human Carotid Atherosclerotic Plaques. *Stroke*. 2001; 32(2):385-391.
- 57 Blasi F, Denti F, Erba M, Cosentini R, Raccanelli R, Rinaldi A, Fagetti L, Esposito G, Ruberti U, Allegra L. Detection of *Chlamydia pneumoniae* but not *Helicobacter pylori* in atherosclerotic plaques of aortic aneurysms. *J Clin Microbiol*. 1996;34(11):2766-2769.
- 58 Koenig W, Rothenbacher D, Hoffmeister A, Miller M, Bode G, Adler G, Hombach V, März W, Pepys MB, Brenner H. Infection with *Helicobacter pylori* in not a major independent risk factor for stable coronary heart disease. Lack of a role of cytotoxin-associated protein A-positive strains and absence of a systemic inflammatory response. *Circulation*. 1999;100:2326-2331.
- 59 Mach F, Sukhova GK, Michetti M, Libby P, Michetti P. Influences of *Helicobacter pylori* infection during atherogenesis in vivo in mice. *Circ Res*. 2002; 90:e1-e4.
- 60 Grahame-Clarke C, Chan NN, Andrew D, Ridgway GL, Betteridge DJ, Emery V, Colhoun HM, Vallance P. Human cytomegalovirus seropositivity is associated with impaired vascular function. *Circulation*. 2003; 108:678-683.
- 61 Jarvis MA, Nelson JA. Human cytomegalovirus persistence and latency in endothelial cells and macrophages. *Curr Opin Microbiol*. 2002; 5: 403-407.
- 62 Speir E. Cytomegalovirus gene regulation by reactive oxygen species. Agents in atherosclerosis. *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 2000; 899: 363-374.
- 63 Ludewig B, Krebs P, Scandella E. Immunopathogenesis of atherosclerosis. *J Leukoc Biol*. 2004; 76:300-306.
- 64 Song YG, Kwon HM, King JM, Hong BK, et al. Serologic and histopathology study the *Chlamydia pneumoniae* infection in atherosclerosis: a possible pathogenetic mechanism of atherosclerosis induced for *Chlamydia pneumoniae*. *Yonsei. Med. J*. 2000; 41(3):319-27.
- 65 Giusto L, Pucci L, Bonanno E, Cassone A, Sesti F, Ciervo A, Mauriello A. Persistent *Chlamydia pneumoniae* Infection of Cardiomyocytes Is Correlated with Fatal Myocardial Infarction. *Am. J. Pathol*. 2007; 170: 33-42.
- 66 Coombes B, Mahony J. *Chlamydia pneumoniae* infection of human endothelial cells induced proliferation of smooth muscle cells via an Endothelial cell-derived soluble factor(s). *Infection and Immunity*. 1999; 67:2909-2915.
- 67 Molestina R, Miller R, Ramirez J, Summersgill JT. Infection of human endothelial cells with *Chlamydia pneumoniae* stimulates transendothelial migration of neutrophils and monocytes. *Infection and Immunity*. 1999; 67:1323-1330.
- 68 Kalayaglu M, Byrne G. A *Chlamydia pneumoniae* component that induces macrophage foam cell formation in chlamydial lipopolysaccharide. *Infection and Immunity*. 1998; 66(11):5067-5072.
- 69 Neff L, Daher D, Muzzin P, Spenato U, Gülaçar F, Gabay C, Bas S. Molecular Characterization and Subcellular Localization of Macrophage Infectivity Potentiator, a *Chlamydia trachomatis* Lipoprotein. *J. Bacteriol*. 2007; 189: 4739-4748.
- 70 Campbell L, Kuo C, Grayston J. *Chlamydia pneumoniae* and cardiovascular disease. *Emerging Infect Dis*. 1998; 4(4):571-579.
- 71 Rödel J, Woytas M, Groh A, Schmidt KH, Hartmann M, Lehmann M, Straube E. Production of basic fibroblast growth factor and interleukin 6 by human smooth muscle cells following infection with *Chlamydia pneumoniae*. *Infect Immun*. 2000; 68:3635-3641.
- 72 Tamura Y, Higuchi Y, Kataoka M, Akizuki S, Matsuura K, Yamamoto S. CD14 transgenic mice expressing membrane and soluble forms: comparisons of levels of cytokines and lethality in response to lipopolysaccharides between transgenic and non-transgenic mice. *Japanese Society Immun*. 1999;11(3):333-339.
- 73 Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide and LPS binding protein. *Science*. 1990; 249:1431-1433.
- 74 Schumann RR, Leong SR, Flaggs GW, Gray PW, Wright SD, Mathison JC, Tobias PS, Ulevitch RJ. Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. *Science*. 1990;249:1329-1331.
- 75 Fagan MA, Liu Y, Stütz P, Vypel H, Golenbock DT. Acyclic analogue of lipid A stimulates TNF-alpha and arachidonate release via a unique LPS-signaling pathway. *J Immunol*. 1994;153:5230.
- 76 da Silva Correia J, Soldau K, Christen U, Tobias PS, Ulevitch RJ. Lipopolysaccharide is in close proximity to each of the proteins in its membrane receptor complex. *JBC*. 2001; 276:21129-21135.
- 77 Haziot A, Rong G, Silver J, Goyert S. Recombinant soluble CD14 mediates the activation of endothelial cells by lipopolysaccharides. *J Immunol*. 1993;151:1500-1507.
- 78 Vasselov T, Detmers P. Toll receptors: a central element in innate immune responses. *Infect Immun*. 2002; 70:1033-1041.
- 79 Cao F, Castrillo A, Tontonoz P, Re F, Byrne G. *Chlamydia pneumoniae*-Induced Macrophage Foam Cell Formation Is Mediated by Toll-Like Receptor 2. *Infect Immun*. 2007; 75: 753-759.
- 80 Simon A, Rai U, Fanburg BL, Cochran BH. Activation of the JAK-STAT pathway by reactive oxygen species. *Am J Physiol Cell Physiol* 1998;44:1640-52.
- 81 Hardardottir I, Moser A, Fuller J, et al. Endotoxin and cytokines decrease serum levels and extrahepatic protein and mRNA levels of cholesteryl ester transfer protein in Syrian hamsters. *J. Clin. Invest*. 1996;97:2585-2592.
- 82 Ly H, Francone OL, Fielding CJ, Shigenaga JK, Moser AH, Grunfeld C, Feingold KR. Endotoxin and TNF lead to reduced plasma LCAT activity and decreased hepatic LCAT mRNA levels in Syrian hamsters. *J. Lipid Res* 1995; 36:1254-1263.
- 83 Feingold KR, Hardardottir I, Memon R, Krul EJ, Moser AH, Taylor JM, Grunfeld C. The effect of endotoxin on cholesterol biosynthesis and distribution in serum lipoproteins in Syrian hamsters. *J. Lipid Res*. 1993; 34:2147-2158.
- 84 Navasa M, Gordon DA, Hariharan N, Jamil H, Shigenaga JK, Moser A, Fiers W, Pollock A, Grunfeld C, Feingold KR. Regulation of microsomal triglyceride transfer protein mRNA expression by endotoxin and cytokines. *J Lipid Res*. 1998;39:1220-1230.
- 85 Hu, H, Pierce G, Zhong G. The atherogenic effects of chlamydia are dependent of serum cholesterol and specific to *Chlamydia pneumoniae*. *JCI* 1999;103:747-53.
- 86 Green D, Reed J. Mitochondria and apoptosis. *Science* 1998;281:1309-12.
- 87 Thornberry N, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science* 1998;281:1312-16.
- 88 Fan T, Lu H, Hu H, Shi L, McClarty GA, Nance DM, Greenberg AH, Zhong G. Inhibition of apoptosis in *Chlamydia* infected cells: blockade of mitochondrial cytochrome c release and caspase activation. *J Exp Med* 1998;187(4):487-496.
- 89 Snoeckx L, Cornelussen R, Van Nieuwenhoven F, Reneman R, Van der Vusse G. Heat shock proteins and cardiovascular pathophysiology. *Physiol rev* 2001;81(4):1461-1497.
- 90 Pockley G. Heat Shock Proteins, Inflammation, and Cardiovascular Disease. *Circulation*. 2002; 105:1012-1017.
- 91 Xu Q, Schett G, Seitz CS, Hu Y, Gupta RS, Wick G. Surface staining and cytotoxic activity of heat shock protein 60 antibody in stressed aortic endothelial cells. *Cir res*. 1994;75:1078-1085.
- 92 Vehmaan-Kreula P, Puolakkainen M, Sarvas M, Welgus H, Kovanen P. *Chlamydia pneumoniae* proteins induce secretion of the 92kDa gelatinase by human monocyte derived macrophage. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:e1-e8.
- 93 Fuster V, Fayad Z, Badimon J. Acute coronary syndromes: biology. *Lancet*. 1999; 353(suppl II):5-9.
- 94 Tousoulis D, Davies G, Stefanadis C, Toutouzas P, Ambrose J. Inflammatory and thrombotic mechanisms in coronary atherosclerosis. *Heart*. 2003;89:993-997.
- 95 Khovidhunkit W, Kim MS, Memon RA, Shigenaga JK, Moser AH, Feingold KR, Grunfeld C. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. *J. Lipid Res*. 2004; 45:1169-1196.
- 96 Lindsberg P, Grau A. Inflammation and Infections as Risk Factors for Ischemic Stroke. *Stroke*. 2003; 34: 2518-2532.

Increased adenosine deaminase serum activity in patients with acute myocardial infarction

Yulan Torrellas MD¹, Mary Carmen Pérez-Aguilar BSc², Belkis Ramos MD¹, Antonio Franco Useche MD¹, Alba Ibarra BSc², Claudina Rodríguez-Bonfante MD MSc³, Rafael Bonfante-Cabarcas MD PhD^{2*}

¹Emergency Service at the "Antonio María Pineda" University Central Hospital, Barquisimeto-Venezuela; ²Biochemistry Research Unit and Medical Parasitology Research Unit³, School of Health Sciences, Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado", Barquisimeto-Venezuela.

Corresponding Author:
Dr. Rafael Bonfante-Cabarcas, Decanato de Ciencias de la salud, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Av. Libertador con Av. Andrés Bello, Barquisimeto, Estado Lara, Venezuela. Postal Code: 3001. Phone: 58-251-2591854. E-mail: rcabarca@ucla.edu.ve

Recibido: 18 /10/2009

Aceptado:28 /11/2009

38

Abstract

With the aim to evaluate adenosine deaminase serum activity in patients with acute myocardial infarction, a prospective, observational study were done in 56 patients admitted to the central hospital emergency room with a diagnosis of acute myocardial infarction; 32 had elevation of ST segment in the electrocardiogram, of which 24 underwent thrombolysis therapy and 14 evolved a Q wave. Each patient was submitted to a clinical evaluation and serum activity of T troponin, creatine kinase, creatine kinase MB isoform of and adenosine deaminase were determined. Results illustrated that adenosine deaminase serum activity was 109.6 ± 8.34 nmol/mL, decreasing after treatment to 82.34 ± 7.45 nmol/mL and 81.82 ± 9.40 nmol/mL at 24 and 72 hours, respectively, which it was significantly related in those patients that displayed no EST in electrocardiogram and received no thrombolytic treatment. In these patients adenosine deaminase activity was correlated with creatine kinase activity. In patients with elevation of ST segment (independently of developing a Q wave) receiving thrombolytic treatment, the adenosine deaminase serum activity remained elevated and unchanged. In conclusion: adenosine deaminase levels can be used as a molecular marker of the evolution in acute myocardial infarction patients receiving no thrombolytic therapy and presenting no changes in the ST segment.

KEY WORDS: Adenosine Deaminase, Acute Coronary Syndrome, Acute Myocardial Infarction, Creatine kinase.

Introduction

Cardiovascular diseases are responsible for 30% of deaths worldwide and 80% in developing countries¹. In Venezuela, Acute Myocardial Infarction (AMI) ranks first among causes of death from chronic no communicable diseases (21.9%), predominantly in males between 40 and 60 years of age².

AMI is a term used to describe acute necrotic changes in the myocardium due to sudden deprivation of coronary blood supply (i.e., acute coronary occlusion or hemorrhage), which causes hypoxia or anoxia, forcing the cardiomyocyte metabolism to change from aerobic to anaerobic³.

During this process, oxygen free radicals and cellular acidosis are generated⁴ and high-energy phosphates are rapidly consumed³.

Under conditions of tissue damage, endogenous adenosine concentration rapidly raises; furthermore, the activation of G protein-coupled adenosine receptors is responsible for changes such as vasodilatation, inhibition of inflammation, modulation of the sympathetic nervous system activity, and protection against the deleterious consequences of ischemia-reperfusion⁵.

Adenosine levels are regulated by the activity of the enzyme adenosine deaminase (ADA), which is a cytosolic enzyme of the purine catabolic pathway. This enzyme catalyzes the deamination of adenosine and 2'-deoxyadenosine to produce inosine and 2'-deoxyinosine respectively; ammonia is produced as a byproduct in this process⁶. The

physiological role of ADA is not entirely clear; however, various studies indicate that ADA activity in plasma of patients with chronic hypoxia is higher as compared with healthy patients, indicating that induction of ADA activity represents a physiological adaptation to high levels of adenosine during hypoxia⁷. Therefore, we propose that as the serum ADA activity is elevated during AMI, its activity correlates to the intensity of cellular hypoxia.

The aim of this study was to evaluate the ADA levels in serum samples of patients with AMI and correlate it to EKG ST segment changes, Q wave, use of thrombolytic therapy, and the serum activity of AMI classic enzyme markers (i.e., CK and CKMB) in order to explore the role of ADA as a biochemical marker for AMI prognosis.

Population: 56 patients (males and females) older than 18 years, admitted to the University Central Hospital's emergency room (Barquisimeto, Venezuela) between September 2008 and June 2009, with an AMI diagnosis. All patients received a thorough clinical exploration to evaluate the characteristics of the AMI pain (i.e., onset, location, duration, radiation, and possible triggering activity) and concomitant symptoms and signs: heart rate, blood pressure, and a 12-lead electrocardiogram were recorded for all patients. Exclusion criteria were: less than 18 years of age, sepsis, pneumonia, bronchopneumonia, intestinal malabsorption syndrome, asthma and other immune disorders, and signs of dementia and/or psychosis. Patients gave informed consent, which was approved by the Ethics Committee of the Centroccidental University "Lisandro Alvarado", Health Sciences School.

Samples: 2-5 ml blood samples (two per patient) taken from the antecubital vein at 0, 24, and 72 hours of the patient admission were tested for routine hematology parameters as well as for T-troponin and time-dependent determination of the CK, CK-MB, and ADA activity.

ADA levels: 5-7 mL of blood without anticoagulant was allowed to clot at room temperature (25°C) for at least two hours, centrifuged at 3000 rpm for 30 minutes, and the sera stored in Eppendorf's tubes at -20°C until processing. Before testing, samples were slowly thawed and the ADA levels measured spectrophotometrically using a colorimetric method as described by Giusti and Galanti⁸.

Statistical analysis: Results are presented as mean ± standard error (SE). A one-way ANOVA and Dunnet post-test were performed to establish whether significant differences existed between samples. A p value <0.05 was considered statistically significant. Statistical analysis was performed using the Graph Pad Prism 4 software.

The population included 36 male and 20 female, within the range of 31 to 90 years of age (average age of 61.52 ± 1.58 years), all diagnosed with AMI at admission. 10 patients had established history of hypertension and diabetes; 38 patients had a single antecedent: arterial hypertension (n = 33), diabetes mellitus (n = 3), and ischemic heart disease (n = 2); 10 patients had combined antecedents of arterial hypertension and diabetes and 1 had ischemic heart disease and diabetes; 7 patients had no apparent predisposing history. The predominant symptom in all these patients was ischemic chest pain with classical irradiation, being the intensity higher in patients that displayed Q wave; ischemic pain improved after treatment was initiated. AMIs of anterior location were the most frequently (24 for anterior alone and 4 for anterolateral), followed by lateral and inferior (13 for each one); 2 patients exhibited an extensive AMI which extended more than two cardiac walls (for more information see Table I).

Table I. Clinical characteristics of the patient groups

	STSE-Q+	STSE-Q-	No-STSE
Gender	M 10	13	13
	F 3	6	11
Age	61,08 ± 2,83	61,79 ± 2,87	61,54 ± 2,56
Personal Antecedents			
Hypertension	13 (100 %)	12 (63,16 %)	18 (75 %)
Diabetes	4 (30,77 %)	4 (21,05 %)	6 (25 %)
Ischemic	0 (0 %)	0 (0 %)	3 (12,5 %)
Pain intensity	7,85 ± 0,48*	6,41 ± 0,62	5,33 ± 0,59
Heart rate	82,69 ± 4,65	86,05 ± 4,06	80,13 ± 2,42
Systolic tension	135,3 ± 8,44	128,3 ± 4,30	133,5 ± 4,88
Diastolic tension	79,85 ± 4,89	81,63 ± 2,67	81,38 ± 2,81
Localization			
Anterior	4 (30,77 %)	14 (73,68 %)	6 (25 %)
Lateral	4 (30,77 %)	1 (5,26 %)	8 (33,33 %)
Anterolateral	0 (0 %)	0 (0 %)	4 (16,66 %)
Inferior	4 (30,77 %)	4 (21,05 %)	5 (20,83 %)
Extensive	1 (7,69 %)	0 (0 %)	1 (4,17 %)

STSE means ST segment elevation; Q the presence (+) or absence (-) of Q wave. The pain intensity was subjectively obtained from the patients in a scale 0 to 10. *means p < 0.05 when STSE-Q+ and Non-STSE were compared by Bonferroni's post-test.

The admission EKG demonstrated a ST segment elevation in 32 patients, but only 3 had a concomitant Q wave. Of those patients admitted with ST segment elevation, but no Q wave, 10 developed a Q wave after 24 and 1 patient developed it 72 hours after admission. 24 ST segment elevation positive patients received thrombolytic therapy. The patients with no ST segment elevation and no thrombolytic treatment did not develop a Q-wave in the EKG.

CK, CK-MB, and T-troponin serum activities were elevated in all patients with clinical diagnosis of AMI. CK and CK-MB serum levels decreased significantly and progressively after 72 hours and the lowering of these enzymes' level was related with clinical and EKG improvement (see table II).

Table II. CK, CK-MB and ADA serum activities in ami patients with different ekg profiles

	TIME (Hours)	CK (UI/dL)	CKMB (UI/dL)	ADA (nmol/mL)
STSE-Q+	0	546.3 ± 114.5	116.3 ± 33.14	91.62 ± 11.41
	24	612.8 ± 136.3*	119.3 ± 30.67	73.11 ± 9.52
	72	414.7 ± 100.0*	56.39 ± 9.783*	89.39 ± 25.46
STSE-Q-	0	400.5 ± 73.23	88.01 ± 13.78	120 ± 19.64
	24	430.1 ± 106.4*	79.66 ± 18.57	95.43 ± 17.12
	72	286.5 ± 88.52*	40.43 ± 8.112*	101.5 ± 15.04
No-STSE	0	316.4 ± 47.92	76.19 ± 13.92	115.4 ± 15.16
	24	272.9 ± 35.47*	60.42 ± 11.36	75.23 ± 10.18*
	72	174.6 ± 25.64*	29.44 ± 6.153*	51.12 ± 7.36*

STSE means ST segment elevation; Q the presence (+) or absence (-) of Q wave. *means $p < 0.05$ when 24 and 72 hours are compared with 0 hours.

All patients diagnosed with AMI had elevated serum levels of ADA at admission, which also decreased significantly after 24 and 72 hours. The average levels were 109.6 ± 8.34 nmol/mL at 0 hours, 82.34 ± 7.45 nmol/mL at 24 hours and 81.82 ± 9.40 nmol/mL at 72 hours.

When performing an analysis of enzyme activity related to EKG changes, we noticed that the decrease in these enzymes serum activity were statistically significant at 24 and 72 hours in no ST segment elevation patients and in patients that did not received thrombolytic therapy (Figures 1 and 2).

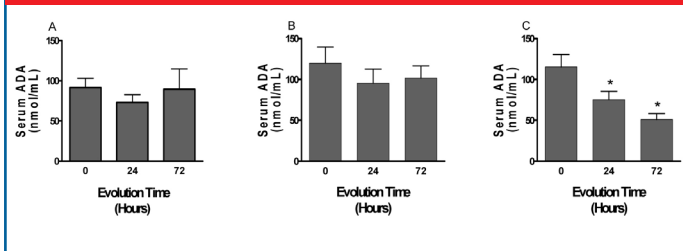
Figure 1

Figure 1. ADA levels in the serum of AMI patients with different EKG profiles. (A) Patients with ST segment elevation and Q wave on EKG record; (B) patients with ST segment elevation and no Q wave; and (C) patients with no ST segment elevation and no Q wave. * $p < 0.05$ for 24 and 72 hours compared to 0 hours.

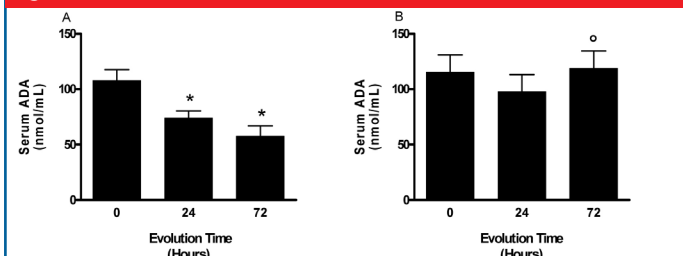
Figure 2

Figure 2. Effect of thrombolytic treatment on the ADA levels in serum of AMI patients. (A) No thrombolytic treatment; (B) thrombolytic treatment. * $p < 0.05$ for 24 and 72 hours compared to 0 hours; $^{\circ}p < 0.05$ for ADA levels at 72 hours for both groups.

ADA activity was positively correlated with the CK activity in patients with no ST segment elevation and in patients that did not receive thrombolytic treatment. On the other hand, in patients with a ST segment elevation that evolved

to Q-wave, no significant correlation was established between ADA and CK (Figure 3 and Table 3). CK-MB and ADA serum activities were correlated with the sera CK and ammonia levels, respectively, for all groups of the patients, validating the lab methodology.

Table III. Correlation of ADA, CK, and CKMB serum activities in ami patients with different ekg profiles

		r ²	Pearson's r	p
CK vs CKMB	STSE-Q+	0.15	0.39	0.01
	STSE-Q-	0.16	0.40	0.04
	No-STSE	0.15	0.38	0.001
ADA vs CK	STSE-Q+	0.006	-0.023	0.89
	STSE-Q-	0.011	-0.1	0.49
	No-STSE	0.11	0.32	0.01
ADA vs CKMB	STSE-Q+	0.003	-0.057	0.75
	STSE-Q-	0.017	0.13	0.38
	No-STSE	0.001	0.033	0.8

STSE means ST segment elevation; Q the presence (+) or absence (-) of Q wave.

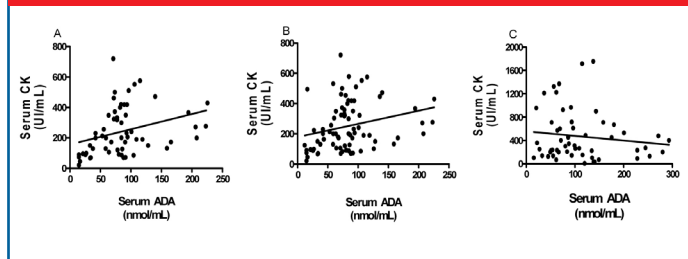
Figure 3

Figure 3. Correlation between ADA and CK serum levels in AMI patients. (A) patients with no ST segment elevation and no Q wave ($r^2 = 0.11$; Pearson's $r = 0.32$; $p = 0.01$). (B) AMI patients receiving no thrombolytic treatment ($r^2 = 0.07$; Pearson's $r = 0.26$; $p = 0.02$). (C) AMI patients receiving thrombolytic treatment ($r^2 = 0.02$; Pearson's $r = -0.13$; $p = 0.34$).

In this study, we found no significant correlations among the ADA and/or CK-MB serum levels and the patients' sex and/or age.

Discussion

In this paper we have presented data demonstrating that ADA serum activity was elevated in patients with an AMI diagnosis at the time of hospital admission; which decreased after 24 and 72 hours of treatment onset. The diminished ADA activity was correlated to the absence of thrombolytic treatment in patients with no ST segment elevation in the EKG; ADA serum activity was positively correlated with serum CK activity.

It has been demonstrated that hypoxic events induce an elevation of endogenous adenosine in synaptic and intercellular spaces⁹, which reflects a high rate of ATP utilization and depressed aerobic ATP production as a result of hypoxia, leading to elevated levels of AMP, which is converted to adenosine by the action of the 5'-nucleotidase enzyme¹⁰. The elevation in the level of ADA in serum of

ischemic patients suggests an adaptive metabolic phenomenon where high levels of adenosine are produced during tissue hypoxia.

Adenosine is a nucleoside that counteracts the deleterious effects of ischemia as it promotes coronary vasodilatation through the activation of A2 receptors¹¹ and decreasing the oxygen consumption through activation of A1 receptors¹². Also, adenosine is able to attenuate cell damage induced by reperfusion¹³, an effect attributed to mechanisms related to the preservation of ATP, since adenosine stimulates glycolysis by increasing glucose uptake¹⁴, inhibits the release of norepinephrine acting on A2 presynaptic receptors^{15,16}, and counteracts adrenergic effects via A1 receptors¹⁷. Furthermore, this nucleoside inhibits the activation and adhesion of neutrophils through A1 and A2 receptors, respectively¹⁸⁻²⁰ and inhibits platelet aggregation by acting on A2 receptors^{21,22}; both effects improve coronary circulation and counteract ischemia and reperfusion damage by inhibiting the production of free radicals.

Elevation of ADA during hypoxic events has been reported by Eltzschig et al., (2006)⁷ in pediatric patients with chronic hypoxia product of a heart congenital disease. The authors, utilizing microarray technology, demonstrated that the endothelial ADA gene expression is induced by hypoxia. Similarly, Kaul et al., (2006)²³ reported that the ADA activity and serum malondialdehyde (MDA) were elevated in patients with AMI undergoing thrombolytic therapy, suggesting that the elevation of ADA is associated with reperfusion injury in these patients. These results are consistent with our data, we observed that serum ADA levels remained elevated after 24 and 72 hours in patients receiving thrombolytic therapy, while decreasing significantly in patients that did not receive such therapy. The decreased ADA levels in no ST segment elevation patients' sera suggest that hypoxic events were completely reversed, with no permanent tissue lesion or necrosis.

ADA can usually be found attached to the endothelial cell membrane interacting with CD26 protein⁷; the ADA-CD26 interaction can be disrupted by thrombolytic enzymes, releasing ADA into the blood and thus increasing its serum levels in those patients receiving thrombolytic treatment.

The correlation between the serum ADA and CK levels in no ST segment elevation patients not received thrombolytic treatment, indicates that the elevation of ADA is not a phenomenon restricted to heart tissue, but reflects a wider occurrence involving other tissues, especially those that would be affected by cardiac dysfunction. In this way, it has been reported that serum levels of adenosine and CK are elevated in patients who had pulmonary edema²⁴; taking together these and our data, we propose that the elevation of ADA reflects a phenomenon involving pulmonary hypoxia associated to ventricular dysfunction.

Finally, our findings suggest that in those patients diagnosed with AMI, their serum's ADA level became elevated as consequence of myocardial and/or pulmonary hypoxia. The level of this enzyme decreased after 24 and 72 hours of the supportive treatment onset in no ST segment el-

evation patients that did not receive thrombolytic therapy. Because AMI patients with EKG signs of myocardium lesion and/or necrosis that received thrombolytic treatment maintained high levels of ADA, this enzyme could be considered a prognostic marker only in those patients with no ST segment elevation EKG and receiving no thrombolytic therapy. The elevation of serum ADA activity in patients receiving thrombolytic treatment could reflect the ADA release from its endothelium attachment by the action of thrombolytic enzymes.

Acknowledgments

This work was funded by a grant from the Consejo de Desarrollo Científico Humanístico y Tecnológico (CDCHT) of Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA), Barquisimeto, Estado Lara, Venezuela; Project number 001-ME-2005. The authors would like to thank Dr. Carla R. Lankford (U.S. Food and Drug Administration) for proof-reading and suggesting improvements to our manuscript.

References

1. Mukherjee D. Acute coronary syndromes: unstable angina/non-ST elevation myocardial infarction. *Crit Care Clin.* 2007;23:709-735.
2. Croce N, Fernández B, Chuky E, Fragachán F, Macías N, Marcano A, et al. Prevalencia de presión arterial elevada y otros factores de riesgo de enfermedad cardiovascular en trabajadores de cafetines de la Universidad Central De Venezuela (Ciudad Universitaria). *Rev Fac Med* 2004;27:142-150.
3. Cave AC, Ingwall JS, Friedrich J, Liao R, Saupe KW, Apstein CS, et al. ATP synthesis during low-flow ischemia: Influence of increased glycolytic substrate. *Circulation.* 2000;101:2090-2096.
4. Wilson RF, Whyche K, Christensen BV, Zimmer S, Laxson DD. Effects of adenosine on human coronary arterial circulation. *Circulation.* 1990;82:1595-1606.
5. Riksen NP, Rongen GA, Yellon D, Smits P. Human in vivo research on the vascular effects of adenosine. *Eur J Pharmacol.* 2008;13:220-227.
6. Gakis C. ADA isoenzymes ADA1 and ADA2: diagnostic and biological role. *J Eur Respir.* 1996;9:632-633.
7. Eltzschig HK, Faigle M, Knapp S, Karhausen J, Ibla J, Rosenberger P, et al. Endothelial catabolism of extracellular adenosine during hypoxia: the role of surface adenosine deaminase and CD26. *Blood* 2006;108:1602-1610.
8. Giusti G, Galanti B. Colorimetric method. In *methods of enzymatic analysis* (Bergmeyer HU, Ed). Weinheim: Verlag Chemie. 1984;315-323.
9. Huang M, Drummond GI. Adenylate cyclase in cerebral microvessels: action of guanine nucleotides, adenosine, and other agonists. *Mol Pharmacol.* 1979;16:462-472.
10. Kitakaze M, Weisman HF, Marban E. Contractile dysfunction and ATP depletion after transient calcium overload in perfused ferret hearts. *Circulation.* 1988;77:685-695.
11. Xu Z, Mueller RA, Park SS, Boysen PG, Cohen MV, Downey JM. Cardioprotection with adenosine A2 receptor activation at reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2005;46:794-802.
12. Micheli A, Chávez-Domínguez R, Iturralde P, Pastelín G, Medrano G. Early and late effects of adenosine in experimental ventricular tachycardia. *Rev Esp Cardiol.* 2005;58:159-166.

13. Takeo S, Tanonaka K, Miyake K, Imago M. Adenine nucleotide metabolites are beneficial for recovery of cardiac contractile force after hypoxia. *J Mol Cell Cardiol.* 1988;20:187-199.
14. Green A, Newsholme EA. Sensitivity of glucose uptake and lipolysis of white adipocytes of the rat to insulin and effects of some metabolites. *Biochem J.* 1979;15:365-370.
15. Wakade AR, Przywara DA, Wakade TD. Intracellular, nonreceptor-mediated signaling by adenosine: induction and prevention of neuronal apoptosis. *Mol Neurobiol.* 2001;23:137-53.
16. Hedqvist P, Fredholm B. Inhibitory effect of adenosine on adrenergic neuroeffector transmission in the rabbit heart. *Acta Physiol Scand.* 1979;105:120-122.
17. Wennmalm M, Fredholm BB, Hedqvist P. Adenosine as a modulator of sympathetic nerve-stimulation-induced release of noradrenaline from the isolated rabbit heart. *Acta Physiol Scand.* 1988;132:487-494.
18. Cronstein BN, Kramer SB, Weissmann G, Hirschhorn R. Adenosine: A physiological modulator of superoxide anion generation by human neutrophils. *J Exp Med.* 1983;158: 1160-1177.
19. Cronstein BN, Levin RI, Belanoff J, Weissmann G, Hirschhorn R. Adenosine: An endogenous inhibitor of neutrophil-mediated injury to endothelial cells. *J Clin Invest* 1986;78:760-770.
20. Jurgensen CH, Huber BE, Zimmerman TP, Wolberg G. 3-deazaadenosine inhibits leukocyte adhesion and ICAM-1 biosynthesis in tumor necrosis factor-stimulated human endothelial cells. *J Immunol.* 1990;15:653-661.
21. Nakamura T, Uchiyama S, Yamazaki M, Iwata M. Synergistic effect of cilostazol and dipyridamole mediated by adenosine on shear-induced platelet aggregation. *Thromb Res.* 2007;119:511-516.
22. Agarwal KC, Zielinski BA, Maitra RS. Significance of plasma adenosine in the antiplatelet activity of forskolin: potentiation by dipyridamole and dilazep. *Thromb Haemost.* 1989;61:106-110.
23. Kaul A, Chandra M, Misra MK. Adenosine deaminase in ischemia reperfusion injury in patients with myocardial infarction. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2006;21:543-546.
24. Ingwall JS, Bittl JA. Regulation of heart creatine kinase. *Basic Res Cardiol.* 1987; 82:93-101.