

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

FACULTAD DE MEDICINA BIENIO 2006-2008

**ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO Y MARCADORES
SANGUÍNEOS ASOCIADOS A ATROSCLEROSIS**

por

Maria Urquizu Padilla

Tesis propuesta como cumplimiento parcial de los
requisitos para el doctorado en

"Medicina Interna"

Barcelona, Diciembre de 2007

DIRECTORES DE LA TESIS

Dr. Josep Ordi-Ros

y

Dr. Miquel Vilardell i Tarrés

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

FACULTAD DE MEDICINA BIENIO 2006-2008



Departamento de Medicina Interna - Servicio de Enfermedades sistémicas

UAB

Universitat Autònoma de Barcelona

Hospital Universitari Vall d'Hebron (Barcelona)

Facultad de Medicina

Departamento de Medicina- Programa de doctorado en Medicina Interna

TABLA DE CONTENIDO

Tabla de contenido	i
Lista de tablas	v
Agradecimientos	vii
Glosario	ix
CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO Y ATROSCLEROSIS	1
1.2 ATROSCLEROSIS COMO PROCESO INFLAMATORIO	13
1.3 MARCADORES SANGUINEOS DE ATROSCLEROSIS.....	20
CAPÍTULO 2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	47
2.1 HIPÓTESIS.....	47
2.2 OBJETIVOS.....	47
CAPÍTULO 3 MATERIAL Y MÉTODOS	49
3.1 PACIENTES.....	49
3.2 RECOGIDA DE MUESTRAS.....	50
3.3 RECOGIDA DE DATOS.....	50
3.4 CRITERIOS GRUPO RIESGO ATROSCLEROSIS.....	53
3.5 DETERMINACIÓN DE BIOMARCADORES SANGUÍNEOS	54
3.6 VALORES CONTROL DEL LOS PARÁMETROS DE PERFIL LIPIDICO Y DE LOS BIOMARCADORES SANGUINEOS.....	60
3.7 VALORES DE NORMALIDAD Y PORCENTAJE ESPERADO EN POBLACIÓN SANA. CONSIDERACIONES.	61
3.8 ESTUDIO ESTADISTICO	61
CAPÍTULO 4 RESULTADOS.....	65
4.1 MUESTRA ESTUDIADA	65
4.2 PERFIL LIPÍDICO. COMPORTAMIENTO EN BROTE Y REMISIÓN.....	72
4.3 BIOMARCADORES SANGUINEOS. COMPORTAMIENTO EN BROTE Y REMISION	82
4.4 GRUPOS ATROSCLEROSIS	96
CAPÍTULO 5 SCD40L.....	125
5.1 VALORES DE sCD40L EN REMISIÓN MAYORES QUE EN BROTE.....	125
5.2 MODELO PREDICTIVO DE sCD40L MAYOR EN REMISIÓN QUE EN BROTE.....	125
5.3 ANALISIS DEL MODELO PREDICTIVO sCD40L MAYOR EN REMISION QUE EN BROTE: REAGRUPACION DE PACIENTES.....	129
CAPÍTULO 6 DISCUSIÓN.....	137
6.1 MUESTRA A ESTUDIO	138
6.2 ANALISIS LIPIDOS	140
6.3 ANALISIS BIOMARCADORES.....	145

6.4 VISIÓN CONJUNTA: PERFIL LIPÍDICO Y BIOMARCADORES EN FUNCIÓN DEL RIESGO VASCULAR.....	153
CAPÍTULO 7 LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	155
CAPÍTULO 8 CONCLUSIONES.....	157
Bibliografía	161

Lista de figuras

Figura 1 Proceso aterosclerótico.....	17
Figura 2 Esquematación de la técnica de ELISA tipo sándwich	56
Figura 3 Valores de cociente CT/cHDL en relación a la actividad de la enfermedad.....	73
Figura 4 Valores de cociente cLDL/cHDL en relación a la actividad de la enfermedad.	73
Figura 5 Frecuencia relativa de pacientes con valores anormales de las diferentes variables que valoran el perfil lipídico.....	78
Figura 6 Valores de sVCAM-1 (ng/mL) y actividad de la enfermedad.	83
Figura 7 Valores de sCD40L (pg/mL) y actividad de la enfermedad.	83
Figura 8 Valores de IL-6 (pg/mL) y actividad de la enfermedad.....	84
Figura 9 Valores de PCR (mg/dL) y actividad de la enfermedad.....	84
Figura 10 Frecuencia relativa de pacientes con “valores elevados” de biomarcadores.....	86
Figura 11 Valores de cLDL en brote en función del grupo de riesgo de aterosclerosis.	108
Figura 12 Valores de cLDL en remisión en función del grupo de riesgo de aterosclerosis.....	108
Figura 13 Frecuencia relativa de pacientes con valores anormales de las diferentes variables que valoran el perfil lipídico para cada grupo de pacientes.	109
Figura 14 Valores de CT en brote en función del grupo de riesgo de aterosclerosis.	110
Figura 15 Valores de CT en remisión en función del grupo de riesgo de aterosclerosis.....	110
Figura 16 Valores de TAG en remisión en función del grupo de riesgo de aterosclerosis.....	111
Figura 17 Valores de TAG en función del grupo de riesgo de aterosclerosis en brote y remisión.	111
Figura 18 Correlación entre valores de TAG y puntuación de SLEDAI en grupo A.	111
Figura 19 Valores de cociente cLDL/cHDL en remisión en función del grupo de riesgo de aterosclerosis.	112
Figura 20 Valores de cociente CT/cHDL en remisión en función del grupo de riesgo de aterosclerosis.	112
Figura 21 . Valores de cociente CT/cHDL en función del grupo de riesgo de aterosclerosis en brote y remisión.....	112
Figura 22 Valores de cHDL en brote en función del grupo de riesgo de aterosclerosis.....	113
Figura 23 Correlación entre valores de cHDL y puntuación de SLEDAI en grupo A.....	113
Figura 24 Frecuencia relativa de pacientes con “valores elevados” de biomarcadores para cada grupo de pacientes.....	115
Figura 25 Valores de sCD40L en función del grupo de riesgo de aterosclerosis en brote y remisión.	116
Figura 26 Valores de sVCAM-1 en función del grupo de riesgo de aterosclerosis en brote y remisión.	116
Figura 27 Valores de PCR en función del grupo de riesgo de aterosclerosis en brote y remisión.	117
Figura 28 Correlación entre sVCAM-1 y ratio anticuerpos anti-DNA en grupo B.	117
Figura 29 Correlación entre sVCAM-1 y niveles de complementemia C3 en grupo B.	118
Figura 30 Valores de sMPO durante el brote en función del grupo de riesgo de aterosclerosis. ...	118
Figura 31 Valores de FvW:Ag en remisión en función del grupo de riesgo de aterosclerosis.	119
Figura 32 Frecuencia relativa de pacientes con valores patológicos de las diferentes variables que valoran el perfil lipídico para cada grupo de pacientes.	120

Figura 33 Frecuencia relativa de pacientes con “valores elevados” de los biomarcadores para cada grupo de pacientes.....	122
Figura 34 Gráfico de diferencia frente a media de la variable sCD40L.....	126
Figura 35 sCD40L diferencias y plaquetas. Número de plaquetas y “sCD40L diferencias”.....	128
Figura 36 Valores de sCD40L y reagrupación.....	131
Figura 37 “sCD40L diferencias” en cada uno de los grupos.....	132
Figura 38 Valores de sCD40L en brote y remisión (pg/mL) para los diferentes grupos en función de puntuación SLEDAI superior a la mediana.	133

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Estudios desarrollados por diferentes autores que nos proporcionan los valores de normalidad aceptados en la presente tesis doctoral.	63
Tabla 2 Características demográficas y clínicas (sin cambios en relación a la actividad de la enfermedad) de los pacientes estudiados.	67
Tabla 3 Características de la aterosclerosis, diferencias entre brote y remisión.	68
Tabla 4 Variables clínicas en relación al LES.	69
Tabla 5 Hallazgos de laboratorio.	69
Tabla 6 Órgano afectado clínica o analíticamente.	70
Tabla 7 Tratamiento en el momento de la extracción de la muestra.	71
Tabla 8 Tratamiento del brote.	72
Tabla 9 Perfil lipídico, valores de los parámetros usados para describirlo y diferencias entre brote y remisión.	73
Tabla 10 Parámetros lipídicos en función de dosis de prednisona en el momento de la extracción analítica del brote y simultaneidad de tratamiento con antipalúdicos.	75
Tabla 11 Porcentaje de valores patológicos de los parámetros bioquímicos de perfil lipídico en relación a diferencias entre brote y remisión.	76
Tabla 12 Biomarcadores sanguíneos analizados y valores obtenidos en brote y remisión.	83
Tabla 13 Porcentaje de “valores elevados” de los biomarcadores en relación a diferencias entre brote y remisión.	85
Tabla 14 Características demográficas y clínicas (sin cambios en relación a la actividad de la enfermedad) de los pacientes estudiados.	98
Tabla 15 Características de la aterosclerosis valoradas en remisión.	99
Tabla 16 . Parámetros analíticos en brote y remisión.	100
Tabla 17 Variables Clínicas en relación al LES.	100
Tabla 18 SLEDAI. Puntuación y órganos afectados.	101
Tabla 19 Tratamiento recibido en el momento de la extracción de la muestra.	102
Tabla 20 Parámetros de perfil lipídico y comportamiento en brote y remisión para cada grupo (A y B).	106
Tabla 21 Biomarcadores y comportamiento en brote y remisión para cada grupo (A y B).	107
Tabla 22 .Valores de sVCAM-1 en brote y remisión en los 2 episodios.	121
Tabla 23 Cambio en sVCAM-1 en función de la variable nefropatía persistente.	124
Tabla 24 Análisis crudo y ajustado para “sCD40L diferencias” con valores negativos (incremento de los valores en remisión).	127

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Josep Ordi-Ros por su capacidad de estudio y de trabajo, así como por la infatigable disponibilidad con los enfermos.

Al Dr. Miquel Vilardell-Tarrés. Para los que hemos trabajado en su servicio continúa siendo un punto de referencia constante en nuestra profesión.

A la Dra. Eva Balada por su ayuda incondicional y su trabajo en la parte técnica del estudio, por las horas de esfuerzo dedicado y por su paciencia en la enseñanza del mundo del laboratorio.

A Eduardo Hermosilla, por su especial colaboración en el estudio estadístico.

A todos los enfermos que de una manera desinteresada contribuyen a la consecución de trabajos como éste.

A mi hermana, por la validísima ayuda logística, a mi marido por su apoyo moral y práctico en todo momento, y a mis padres. Ellos han vivido las angustias y satisfacciones que han sucedido durante la realización de esta ardua tarea. Por sus ánimos incondicionales en todo momento. Especial agradecimiento a nuestro querido y estimado Peque.

Al Ministerio de Sanidad y Consumo (Instituto Carlos III de Madrid), que económicamente ha colaborado en este estudio concediéndome un contrato post-formación sanitaria especializada de personal investigador expediente nº: CM04/00034.

GLOSARIO

- ADMA.** Dimetilarginina asimétrica
- Anticuerpos anti-dsDNA.** Anticuerpos anti-ácido-desoxirribonucleico de doble cadena.
- CD40L.** CD 40 ligando
- Céls.** Células
- cHDL.** Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad
- cLDL.** Colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad
- CT.** Colesterol total
- DE.** Desviación estándar
- ECLAM.** Consenso europeo de medida de la actividad lúpica
- ELISA.** Análisis de inmunoabsorción unida a enzimas
- FvW.** Factor von Willebrand
- FvW:Ag.** Antígeno del FvW
- HTA.** Hipertensión arterial
- ICAM-1.** Molécula de adhesión intercelular tipo 1
- IL.** Interleucina
- IL-6.** interleucina-6
- IF- γ .** Interferón-gamma
- LES.** Lupus eritematoso sistémico
- MPO.** Mieloperoxidasa
- mRNA.** Acido-ribonucleico mensajero
- NO.** Óxido nítrico.
- oxLDL.** Lipoproteínas de baja densidad oxidadas
- PCR.** Proteína-C reactiva
- RIQ.** Rango intercuartílico
- sCD40L.** CD 40 ligando soluble
- sICAM-1.** ICAM-1 soluble
- SLEDAI.** Índice de actividad de enfermedad del lupus eritematoso sistémico.
- SLICC/ACR-DI.** Índice de daño orgánico o de cronicidad del Colegio Americano de Reumatología en colaboración con las clínicas internacionales
- sMPO.** Mieloperoxidasa soluble
- sVCAM-1.** VCAM-1 soluble
- TAG.** Triacilglicéridos
- TNF.** Factor de necrosis tumoral.
- TNF- α .** Factor de necrosis tumoral-alfa.
- Ti.** Tiempo
- VCAM-1.** Molécula de adhesión vascular tipo 1

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO Y ATEROSCLEROSIS

1.1.1 LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO (LES): CONCEPTO

El lupus eritematoso sistémico es una enfermedad crónica, autoinmune, de etiología desconocida, que se caracteriza por un conjunto de manifestaciones clínicas asociadas a la presencia de autoanticuerpos. Es una enfermedad relativamente frecuente y de distribución universal. Datos recientes evidencian una incidencia de 1,5 casos por 100.000 habitantes y una prevalencia de 122 casos por 100.000 habitantes. Es más frecuente en etnias afro americanas, hispanos y asiáticos. Asimismo, esta enfermedad es más grave en estos grupos. El 90% de los casos son mujeres, lo que significa una relación mujer/hombre de 9/1, aunque esta preponderancia disminuye si el LES se presenta en la edad infantil o a partir de los 65 años. Tiene un curso clínico caracterizado por episodios de actividad y remisión, cuyas manifestaciones clínicas son extremadamente variables en los distintos pacientes, incluyendo síntomas constitucionales, serositis, nefritis, manifestaciones hematológicas, manifestaciones del aparato músculoesquelético, manifestaciones cardíacas, manifestaciones pulmonares, gastrointestinales, neuropsiquiátricas y/o dermatológicas. Existen diferentes índices de actividad de la enfermedad (Índice de actividad de enfermedad del lupus eritematoso sistémico (SLEDAI), British Isles Lupus Assessment Group (BILAG)), así como de cronicidad (Índice de daño orgánico o de cronicidad del Colegio Americano de Reumatología en colaboración con las clínicas internacionales (SLICC/ACR-DI)). Los niveles

de anticuerpos anti-ácido desoxiribonucleico de doble cadena (anticuerpos anti-dsDNA) se han descrito como buenos predictores de exacerbación de la enfermedad¹.

Los corticoides e inmunosupresores siguen siendo la base del tratamiento del LES.

1.1.2 LES: ETIOLOGIA

La etiología del LES es hoy por hoy desconocida, aunque existe un componente autoinmune indudable por lo que se considera el paradigma de enfermedad autoinmune no-órgano-específica. No existe una teoría única. A la producción de autoanticuerpos, que puede ser diversa, se le pueden sumar factores genéticos y ambientales que pueden contribuir en la patogénesis. Es muy probable que diferentes agentes patogénicos y etiológicos intervengan en diferentes pacientes; ello explicaría la heterogeneidad clínica y de laboratorio que se observa en estos pacientes.

A continuación se repasan los factores que contribuyen a la patogenia de la enfermedad.

1.1.2.1 *Autoanticuerpos*

La característica principal del LES es la producción de autoanticuerpos.

Éstos, pueden mediar una lesión tisular a través del depósito de inmunocomplejos que comporta una reacción inflamatoria secundaria (glomerulonefritis), o pueden interferir directamente la función celular (citopenias). Los anticuerpos se producen por dos mecanismos distintos: activación policlonal de las células B o estimulación inmune dirigida por autoantígenos. Los modelos animales sugieren que la activación de las células B precede al desarrollo de los autoanticuerpos.

1.1.2.2 *Alteración de los linfocitos B y T*

La activación de las células B no es aleatoria; es decir, no es propiamente policlonal, sino que es selectiva y dirigida contra un número de antígenos determinados (30 aproximadamente).

Las células T pueden ser importantes en la activación de células B. No queda claro si el LES es resultado de un exceso de células T cooperadoras o de un defecto de células T supresoras. Se han caracterizado numerosas alteraciones estructurales y funcionales de los linfocitos T en el LES: anomalías estructurales (de los mecanismos de regulación de la activación/apoptosis celular); hiperactivación de los linfocitos T y aumento de la apoptosis²; alteraciones de las subpoblaciones linfocitarias.

1.1.2.3 *Alteraciones de las citocinas*

En pacientes con LES se ha descrito: producción disminuida de interleucina-1 (IL-1), IL-2³ e Interferón-gamma (IF- γ)³ aunque hay algún artículo en el que describen aumento de los valores sanguíneos respecto a población sana⁴; y producción aumentada de factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α)⁴⁻⁶ (parece que disminuye la producción de la misma por los linfocitos T, sin embargo está aumentada por los monocitos con lo que los niveles sanguíneos se encuentran elevados; se trata de un potente estimulador de los macrófagos y actúa como factor de crecimiento de linfocitos T y B; se ha descrito elevado en pacientes con LES inactivo⁴, aunque también se ha descrito su correlación con índices de actividad de la enfermedad⁶), interleucina-6 (IL-6)^{3, 7, 8, 9, 10} (estimulando la producción de anticuerpos por las células B, asociada en algunos estudios a aumento de actividad de la enfermedad y a valores de Proteína-C reactiva), IL-10^{3, 9, 11} (aumento en LES, no asociado a actividad de la enfermedad), IL-12 (en relación a actividad de la enfermedad)⁴.

El LES, aunque clásicamente se ha definido como una patología en la que domina la respuesta Th2, estudios practicados sugieren diversos patrones de citocinas sanguíneas en diferentes momentos de la enfermedad dominando en según qué ocasiones el patrón Th1^{4, 12}.

1.1.2.4 *Alteración de los monocitos*

En los pacientes con LES se ha comprobado que los monocitos/macrófagos (es el nombre de los monocitos en los tejidos) presentan una inadecuada regulación de la producción de citocinas. Estas células también presentan una inadecuada capacidad de presentación antigénica a los linfocitos T¹³.

1.1.2.5 *Factores genéticos*

La concordancia del LES en gemelos monocigóticos es 10 veces mayor de lo esperado. Asimismo, existe una mayor prevalencia de LES entre familiares de pacientes que en la población normal, y a ello hay que añadir una mayor incidencia de alelos comunes que en un grupo control. Los estudios del sistema de histocompatibilidad ponen de manifiesto una asociación con el HLA-B8, HLA-DR3 y HLA-DR2. Se cree que los factores ambientales son muy importantes para el desarrollo del LES sobre un terreno genético apropiado.

1.1.2.6 *Factores hormonales*

La influencia hormonal queda clara por una mayor prevalencia en mujeres, así como en individuos con síndrome de Klinefelter. Asimismo, la menor frecuencia de aparición de la enfermedad antes de la menarquia o después de la menopausia, y las agudizaciones en el puerperio o con la administración de anticonceptivos orales, sugiere una influencia hormonal. En modelos animales, la enfermedad se modifica con estímulos estrogénicos. La administración de estrógenos en el lupus murino produce nefritis.

1.1.2.7 *Apoptosis*

La apoptosis puede tener un papel en la etiología del LES. La expresión anormal de los genes que regulan la apoptosis (mayor expresión del gen Bcl-2 o defectos en el gen Fas) se ha asociado con el desarrollo de enfermedades parecidas al LES en animales. De igual modo, la expresión aumentada del gen Bcl-2 ha sido comunicada en pacientes con LES, aunque no queda claro si este aumento de expresión es un efecto primario, o sólo refleja la activación celular. Además, en pacientes con LES se ha encontrado una forma soluble de la proteína Fas alterada, en la que falta el dominio transmembrana. La inyección de esta proteína alterada en ratones normales produjo inhibición de la apoptosis y aparición de signos de enfermedad autoinmune.

1.1.2.8 *Factores ambientales*

La participación de agentes externos como factores inductores del LES es importante. La luz ultravioleta, que desencadena agudizaciones del LES o nuevas lesiones cutáneas, es un factor a tener en cuenta. Se ha sugerido que la luz ultravioleta altera la estructura del ácido-desoxirribonucleico (ADN) y aumenta su antigenicidad. Asimismo, puede inducir apoptosis de los queratinocitos, que liberaría gran cantidad de antígenos. Los virus y en particular los retrovirus pueden contribuir al proceso autoinmune. Por último, los fármacos que inhiben la metilación del ADN inducen la formación de anticuerpos. Se han descrito más de 70 fármacos inductores de LES, entre otros hidralazina, procainamida, isoniacida, metildopa, clorpromacina y minociclina. Suelen ser cuadros clínicos más leves que raramente cursan con afectación renal o neurológica.

1.1.3 LES: DIAGNOSTICO

El diagnóstico del LES se realiza a partir de unas manifestaciones clínicas unidas a unas pruebas de laboratorio muy sugestivas. Los criterios clasificatorios del LES fueron acuñados

por la Sociedad Americana de Reumatología en 1982, y revisados en 1997¹⁴. La especificidad y la sensibilidad alcanzan el 96%. A pesar de ser criterios clasificatorios se utilizan para el diagnóstico, para el que se requiere la presencia de 4 de ellos.

1.1.4 LES: PRONOSTICO

El LES es una de las enfermedades reumáticas con mayor mortalidad, supone un 14,5% de todas las muertes por enfermedad reumática - existiendo más de 100 tipos de las mismas - y representa un 44% de las muertes por enfermedad reumática en las personas de <45 años (National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (CDC) 1997, datos no publicados). Supone una mortalidad prematura (1/3 de las muertes ocurre entre personas <45 años) aunque la supervivencia en el LES ha aumentado en las últimas décadas¹⁵. Los primeros estudios en 1955 informaban de una supervivencia inferior al 50% a los 5 años¹⁶, y en cambio, en la actualidad es aproximadamente de un 90 % a los 10 años¹⁷.

Urowitz et al¹⁸ describieron el patrón de mortalidad bimodal del LES basado en la observación de once pacientes fallecidos; seis de ellos fallecieron durante el primer año del diagnóstico por actividad del LES o de una sepsis y los otros cinco sufrieron un infarto agudo de miocardio, que motivó la muerte en cuatro de ellos. Otros estudios posteriores han confirmado este patrón bimodal de mortalidad en esta enfermedad.

1.1.5 LES Y ATEROSCLEROSIS

El LES representa el modelo clásico de enfermedad inflamatoria crónica de los vasos sanguíneos mediada por inmunocomplejos.

La prevalencia de infarto de miocardio, angina y enfermedad vascular periférica en diferentes cohortes de pacientes americanos¹⁹⁻²² se cifra en torno al 8%. Si consideramos sólo el riesgo de enfermedad coronaria, los pacientes con LES tienen de 5 a 10 veces más riesgo que la población general^{21, 22}. En particular Manzi et al²¹ encontraron que las mujeres entre 14 y 44 años de edad con LES tenían 50 veces más riesgo de presentar un infarto agudo de miocardio que las mujeres sanas. Con la idea de determinar en pacientes con LES el riesgo absoluto de desarrollar enfermedad coronaria, 2 estudios han tratado el tema. Bruce et al²³ describieron que tras un seguimiento medio de 12,4 años, un 13,4% de los pacientes con LES desarrollaban un nuevo evento coronario agudo. De forma similar, Esdaile et al²⁴ en 2 cohortes retrospectivas de pacientes con LES encontraron que tras un seguimiento medio de 8,6 años, el 12,9% desarrollaban enfermedad coronaria aguda. En todas estas cohortes la edad media en que se produjo el primer evento coronario fue a los 48-49 años, afectando por tanto con mucha frecuencia a mujeres perimenopáusicas. El riesgo a 10 años de eventos

coronarios en LES es consecuentemente de entre un 13 y un 15%²³ (datos relativos a la población de Canadá). Considerando que el riesgo de presentar un infarto agudo de miocardio a los 7 años en un estudio practicado en población finlandesa²⁵ resultó ser para personas sanas del 3,5%; para pacientes que habían presentado un evento coronario agudo previo del 18,8%; para pacientes diabéticos sin infarto previo del 20,2% y para pacientes diabéticos con infarto agudo de miocardio previo del 45%, entenderemos que a raíz de estos resultados la diabetes mellitus tipo 2 sea considerada en las guías de la ATP III²⁶ como condición equivalente a enfermedad coronaria de cara a prevención cardiovascular. Hay por esta razón autores que abogan por considerar también el LES como una condición equivalente a enfermedad coronaria²⁷. Los estudios autópsicos¹⁹ también evidencian que la patogénesis de la enfermedad vascular en el LES es de origen aterosclerótico. Estas observaciones sugieren que la aterosclerosis en los pacientes con LES es más prevalente y anticipada que en la población general. No obstante, el mecanismo puede ser complejo; por ello se plantean varias hipótesis. Una se basaría en suponer que estos enfermos tienen los mismos factores de riesgo de aterosclerosis que la población general, pudiendo estar modificados por la propia enfermedad, por el daño visceral o por los tratamientos. Otra posibilidad sería que la propia patogenia del lupus esté implicada en la aterosclerosis. Finalmente existe una postura intermedia que consideraría la aterosclerosis en el lupus como un mecanismo mixto entre ambas hipótesis.

En los pacientes con LES puede pensarse que presentan mayor aterosclerosis por acumular más factores de riesgo que la población general. En personas jóvenes es donde los factores de riesgo vascular clásicos tienen más peso en la estratificación de riesgo coronario²⁸. De hecho, los pacientes con LES presentan un mayor número de factores de riesgo identificables que los controles macheados por sexo y edad^{20, 29, 30}. Rahman et al³¹ analizaron pacientes con LES y afectos de enfermedad coronaria prematura, valorando los factores de riesgo clásicos que presentaban y los compararon con pacientes sin LES pero también con enfermedad coronaria prematura (grupo control). Las mujeres con LES presentaron como número medio de factores de riesgo clásicos $2,00 \pm 0,77$ versus $2,90 \pm 1,19$ para el grupo control ($p < 0,001$). Los hombres con LES presentaron como número medio de factores de riesgo clásicos $1,87 \pm 0,83$ versus $2,73 \pm 0,99$ para el grupo control ($p = 0,016$). Los autores concluyeron que los pacientes con LES que habían presentado un evento coronario agudo prematuro tuvieron menos factores de riesgo tradicionales que aquellos pacientes sin LES con evento coronario agudo prematuro, por lo que los factores de riesgo clásico por sí solos no explicaban toda la enfermedad coronaria prematura en el LES. A destacar, sin embargo que los pacientes con LES en el momento del evento cardiovascular presentaron por lo menos un factor de riesgo vascular clásico. Otro estudio, llevado a cabo en la cohorte LUMINA³² objetivó un mayor número de factores de riesgo clásicos en los pacientes que

presentaron evento vascular agudo respecto a aquéllos que no lo presentaron. Por tanto, parece que los factores de riesgo tradicionales interactúan con los factores relacionados con la enfermedad predisponiendo a los pacientes con LES a desarrollar enfermedad vascular aterosclerosa. Posteriormente, Esdaile et al²⁴ determinaron los factores de riesgo clásicos de Framingham en una cohorte de pacientes con LES. Compararon los eventos esperados, a partir del perfil de factor de riesgo calculado tras aplicar el modelo de regresión logística múltiple de Framingham y la ocurrencia de infartos e ictus. Tras anular el efecto de los factores de riesgo clásicos, el riesgo relativo de los eventos permanecía aumentado, resultando de 7,5 (95% IC 5,1-10,4) para el infarto de miocardio y de 7,9 para el ictus (95% IC 4-13,6). Los pacientes con LES que presentan aterosclerosis coronaria (diagnosticada por tomografía computerizada por haz de electrones) presentan valores más elevados en la puntuación de Framingham que las pacientes sin aterosclerosis coronaria, aunque los pacientes con aterosclerosis no llegan a presentar un riesgo ni moderado ni elevado a los 10 años³³. Por lo tanto, parece que el LES por sí mismo condiciona el mayor factor de riesgo cardiovascular para los pacientes que lo padecen.

Hipercolesterolemia^{20, 21, 23, 34, 35}, hipertensión arterial (HTA)^{20, 35} y obesidad^{20, 35} son tres de los factores clásicos de riesgo cardiovascular, que de forma repetitiva se han asociado a coronariopatía clínica en el LES. En cuanto al patrón lipídico proaterogénico, estudios llevados a cabo en pacientes con LES sin tratamiento previo y sin nefropatía muestran el llamado 'patrón de lupus': pacientes inactivos muestran triacilglicéridos (TAG) y cVLDL mayores al grupo control y colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) menor al grupo control³⁶; los pacientes activos muestran mayor intensificación del 'patrón de lupus'^{36, 37}. En los pacientes activos no tratados, con nefropatía, se ha descrito el mismo 'patrón de lupus' presentando también niveles de colesterol total (CT) más elevados que los del grupo control³⁸. Borba et al³⁶ describieron correlación con SLEDAI y todas las fracciones lipídicas. El mecanismo de dicho patrón lipídico en LES ha sido postulado por Reichlin M et al³⁹ como resultado de autoanticuerpos anti-lipoprotein lipasa (enzima cuya actividad lleva a la eliminación del torrente sanguíneo de los TAG), que conllevarían a la típica hipertrigliceridemia. A su vez ésta, provocaría disminución de los niveles de cHDL por un aumento de eliminación plasmática de las partículas cHDL, pues al ir cargadas de triglicéridos, son rápidamente eliminadas del torrente circulatorio. La hipertrigliceridemia comporta un aumento de cVLDL, que es la lipoproteína principalmente encargada de llevar los triglicéridos circulantes. Por otro lado, los pacientes con síndrome nefrótico, presentan hiperlipoproteinemia que promueve un aumento de niveles de CT y de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL)⁴⁰ y en fases más avanzadas también de TAG. Otros factores de riesgo asociados a la coronariopatía clínica en el LES son una edad mayor en el momento del diagnóstico de la enfermedad^{20, 21, 23} y una larga duración de la misma^{20, 21, 32, 41}.

Que la larga duración de la enfermedad se haya vinculado a eventos cardiovasculares en el LES sugiere que probablemente contribuyan a la aterosclerosis mecanismos específicos de la enfermedad. También se ha descrito una relación entre eventos aterotrombóticos en el LES y niveles elevados de homocisteína⁴². La nefropatía, que en algún momento de la enfermedad sufren el 50% de los pacientes, es un factor de riesgo de aterosclerosis^{43, 44}. Puede condicionar una alteración del perfil lipídico (como ya se ha comentado en líneas previas), aumento del fibrinógeno e hipertensión arterial⁴³.

Entre todos los factores que se han asociado en pacientes con LES a enfermedad coronaria (presentes de forma significativa en aquellos pacientes con lupus que han presentado enfermedad coronaria versus lupus sin enfermedad coronaria), aquéllos que de forma consistente se repiten en los diferentes estudios son la hipercolesterolemia y la mayor edad en el momento del diagnóstico⁴⁵.

La patogenia inflamatoria de la ateromatosis es otra de las más recientes hipótesis⁴⁶. El LES representa una enfermedad crónica inflamatoria de los vasos sanguíneos. Existe un ambiente pro-oxidante^{30, 47} en el que las moléculas LDL sufren rápida oxidación favoreciendo la aterogénesis. Además, la habilidad de las partículas HDL para prevenir la oxidación de las LDL aisladas de los pacientes con LES es inferior a la de los controles. En un estudio practicado, incluso presentaron un efecto proinflamatorio, aumentando la oxidación de las LDL (un 44% de los pacientes con LES versus 4% de los controles tuvieron HDL proinflamatoria)⁴⁸. Modelos experimentales sugieren una sinergia entre la inflamación de los vasos sanguíneos y la hiperlipemia. En un modelo *in vitro*, Kabakov et al⁴⁹, incubando músculo liso de aorta humana con suero de pacientes de LES, objetivaban una incorporación de colesterol de 1,5 a 6 veces mayor que si se incubaban con un suero normal. Se pudo conseguir el mismo efecto aislando inmunocomplejos de suero de pacientes con LES, y este incremento en la incorporación se correlacionó con el contenido de LDL de los inmunocomplejos⁴⁹. En el estudio de Manzi et al²⁹, los pacientes de LES con placas de ateroma presentaban niveles elevados de fibrinógeno, proteína-C reactiva y puntuaciones bajas en escalas de actividad de la enfermedad y elevadas en escalas de daño acumulado. Sin embargo, en los estudios recientes de Roman et al⁵⁰ y Asanuma et al⁵¹, que utilizaron grupo control, no se encontró correlación entre marcadores de inflamación sistémica y aterosclerosis iconográfica. Sí describieron asociación a puntuación elevada en índices de daño (SLICC/ACR)⁵⁰. No obstante, ambos fueron estudios transversales y la mayoría de los datos cuantificados lo fueron de una sola muestra. Posteriormente Selzer et al⁵² tampoco detectaron relación con el engrosamiento de la íntima-media ni con la presencia de placas, pero sí que asociaron variables específicas a la rigidez de la pared. Dichas variables se hallaron en relación a la desregulación inmunológica del LES y fueron

leucopenia, presencia de anticuerpos anti-dsDNA y niveles elevados de C3. Por otro lado, el LES es un estado de hipercoagulación, en particular cuando están presentes los anticuerpos antifosfolipídicos, y por lo tanto la trombosis arterial puede ocurrir, presumiblemente, en vasos sanos. Además, los factores procoagulantes podrían incrementar el riesgo de trombosis en vasos con aterosclerosis e incluso podríamos hipotetizar que por sí mismos estarían implicados en el proceso aterogénico. Se ha conseguido activar células endoteliales en cultivo por anticuerpos antifosfolipídicos⁵³ y por ello se les ha considerado como marcadores de enfermedad cardiovascular⁵⁴. Sin embargo, muchos otros estudios no han permitido confirmar una asociación entre anticuerpos antifosfolipídicos y aterogénesis^{29, 30, 55, 56}. Otro factor a considerar es el papel que pueden jugar los autoanticuerpos contra las lipoproteínas de baja densidad (LDL) oxidadas y anti-malondialdehído LDL³⁰ así como los anti-endoteliales y anti-HDL, los inmunocomplejos circulantes y la activación de productos del complemento⁵⁷. Los inmunocomplejos pueden estimular en las células endoteliales la expresión de VCAM-1⁵⁸. Por otro lado, como ya hemos descrito previamente, la incorporación aumentada de colesterol en la pared vascular descrita por Kabakov et al⁴⁹, incubando músculo liso de aorta humana con suero de pacientes de LES, se pudo conseguir aislando inmunocomplejos de suero de pacientes con LES. Este incremento en la incorporación correlacionó con el contenido de LDL de los inmunocomplejos⁴⁹. Por último, los inmunocomplejos unidos a C1q han demostrado inhibir el enzima 27-hidroxilasa del colesterol, que se expresa en el endotelio arterial y en monocitos/macrófagos, y cuyo papel es catalizar la hidroxilación de colesterol a 27-hidroxicolesterol, que es más soluble en agua y con mayor facilidad se elimina de la pared arterial, contribuyendo a la protección del acúmulo lipídico⁵⁹.

La duración prolongada de tratamiento esteroideo (valorada como dosis acumulada de prednisona o como años de duración del tratamiento esteroideo) se ha descrito como un factor de riesgo de coronariopatía clínica o aterosclerosis subclínica en el LES^{20, 21, 23, 30, 41, 52, 60, 61}. Los corticoides no parece que actúen directamente dañando la pared vascular (de hecho existe un estudio in vivo en el que tras 2 horas de administración de 100 mg de hidrocortisona endovenosa se objetivó prevención de la disfunción endotelial provocada por citocinas⁶²), sino que se cree que aumentan los factores de riesgo clásicos, como hipertensión, diabetes y dislipemia. Sin embargo, en el estudio de Doria et al⁶¹ en el que se halló significación estadística entre la dosis acumulada de corticoides y la presencia de placa (aterosclerosis subclínica medida por Eco-doppler en modo B), esta significación se mantenía pese al ajuste por los factores de riesgo clásicos. Los autores sugirieron que tal vez las dosis acumuladas elevadas de corticoides en realidad traducían una enfermedad más agresiva y/o con mayor duración. Doria et al⁶¹ identificaron, como predictores de aterosclerosis en pacientes con LES, hallazgos que traducían una enfermedad clínica más

severa: dosis acumulada de prednisona y enfermedad renal. El tratamiento con prednisona *per se* provocaría un aumento de TAG e hipercolesterolemia, sobretodo con aumento de los niveles de cLDL. Un estudio llevado a cabo con 46 mujeres con LES y 30 controles⁶³, objetivó que los pacientes con LES en tratamiento corticoideo presentaban mayores valores de TAG, CT y cLDL que el grupo sin tratamiento corticoideo; y éste último a su vez frente al grupo control sólo mostraba niveles menores de cHDL. MacGregor et al practicaron otro estudio⁶⁴ en el que se valoró el perfil lipídico de 64 pacientes con LES comparados con un grupo control. Se formaron 3 grupos en función del tratamiento corticoideo recibido en los últimos 6 meses: 22 pacientes no habían recibido corticoides, 28 habían recibido dosis equivalentes inferiores o menores a 10 mg/día y 14 habían recibido dosis superiores de 10 mg/día. Sólo encontraron valores mayores de TAG y apoproteína B en el grupo que había recibido dosis superiores a 10 mg/día. Dado que la corticoterapia se usa para suprimir la actividad de la enfermedad, se ha postulado que bajas dosis de esteroides podrían compensar los cambios asociados con la enfermedad propiamente y que sólo altas dosis de esteroides producirían el perfil lipídico adverso. Sin embargo en los estudios de Roman et al⁵⁰ y Asanuma et al⁵¹ no se describió asociación entre dosis acumulada de prednisona y mayor riesgo de aterosclerosis; a considerar que en el estudio de Roman et al⁵⁰ sólo midieron la dosis de prednisona tomada en los 5 años previos al estudio y que el de Asanuma⁵¹ se realizó sobre un pequeño número de pacientes. La creciente evidencia que los mecanismos inflamatorios implicados en el LES también contribuyen a la aterosclerosis, sugiere que la dosis elevada acumulada de glucocorticoides sea la traducción de una enfermedad lúpica más severa, precisando mayores dosis de corticoides y durante más tiempo.

En cuanto a los agentes antimaláricos, muy usados en el tratamiento del lupus, existe una creciente evidencia de que además de los efectos que producen en el control de la actividad de la enfermedad, presentan beneficios en el perfil lipídico y glucémico⁶⁵ de los pacientes con LES. Así, éstos reducen significativamente los niveles de triglicéridos totales y de sus subfracciones así como de cVLDL⁶⁶. Cuando se coadministran con corticoterapia compensan el perfil adverso de la misma^{67, 68}.

En cuanto a los fármacos inmunosupresores, se han descrito efectos proaterogénicos de: leflunomida (puede causar hipertensión) y ciclosporina (puede causar hipertensión arterial y desarrollo de perfil lipídico adverso (aumento de cLDL y de cVLDL), aunque en estudios *in vitro*, ciclosporina es el único fármaco inmunosupresor del que se ha descrito efecto antiaterosclerótico⁶⁹). No se halló asociación entre inmunosupresión (ciclofosfamida, azatioprina, metotrexato, ciclosporina o tacrolimus) y presencia o no de placas en el estudio de Selzer et al⁵². Sin embargo el uso de ciclofosfamida se asoció a menor presencia de

placas en el estudio de Roman et al⁵⁰. Estos autores desarrollaron la hipótesis de dos tipos de LES: el menos activo, que se trata con poca intensidad y que se asocia a aterosclerosis, y el LES más agresivo y con mayor uso de tratamiento inmunosupresor. Este segundo presenta un menor, aunque aún elevado, riesgo de aterosclerosis, pues tratando los brotes no se llega a controlar de forma suficiente el ambiente aterogénico de la inflamación crónica. Así, a la luz de estos resultados, la supresión de la inflamación protegería de la aterosclerosis en pacientes con LES.

Dado que los factores de riesgo cardiovascular no son útiles para detectar aquellos pacientes con LES con riesgo de presentar enfermedad clínica, es necesario en estos pacientes detectar la disfunción endotelial y la aterosclerosis subclínica.

Varios estudios realizados en pacientes con LES han demostrado que éstos tienen mayor disfunción endotelial que los controles (valorada por dilatación mediada por flujo)^{70, 71}. El número de células endoteliales apoptóticas circulantes se objetivó aumentado en pacientes con LES y correlacionó con la disfunción endotelial⁷¹. En estudios *in vitro* se ha inducido apoptosis de endotelio al exponerlo a anticuerpos anti-dsDNA⁷², así como a anticoagulante lúpico⁷³. Por otro lado, estudios *in vitro* han demostrado que los anticuerpos anti-dsDNA pueden inducir la metilación de la arginina para formar dimetilarginina asimétrica (ADMA)⁷⁴. ADMA es un inhibidor endógeno del óxido nítrico (NO). Niveles elevados de ADMA se han asociado a disfunción endotelial y elevado riesgo de eventos coronarios agudos⁷⁵. De hecho, un estudio reciente practicado en pacientes con LES describe la correlación entre los niveles de ADMA con los títulos de anticuerpos anti-dsDNA y, a su vez, la asociación con la ocurrencia de eventos cardiovasculares⁷⁶.

Un método utilizado en la población general para detectar aterosclerosis subclínica es la práctica de ecografía carotídea en modo B. Aunque esta técnica no mide la aterosclerosis en las arterias coronarias, la presencia de anomalías se asocia con la prevalencia de enfermedad arterial coronaria⁷⁷ y con el desarrollo de un futuro infarto de miocardio⁷⁸. La ultrasonografía carotídea puede detectar los cambios en el engrosamiento de la íntima-media que parecen preceder al desarrollo de las típicas placas focales⁷⁸, así como detectar las placas ya formadas. Sin embargo, hay autores que han detectado una débil correlación entre engrosamiento de la íntima-media y enfermedad coronaria severa (apuntan que cuando se calcula el engrosamiento de la íntima-media, éste es 80% media y sólo 20% íntima, mientras que la aterosclerosis es un proceso que ocurre en la íntima)⁷⁹. De hecho, O'Leary et al⁸⁰ demostraron que el engrosamiento de la íntima-media es un predictor más potente de ictus que de infartos de miocardio; ello tal vez sea debido a que el engrosamiento de la íntima-media correlacionó con hipertensión y edad. Varios estudios han objetivado una mejor correlación entre eventos ateroscleróticos coronarios y presencia de placa que entre

éstos y engrosamiento de la íntima-media⁸¹. La presencia de placa carotídea se ha mostrado como un predictor más potente de eventos coronarios agudos que de ictus, que no siempre son secundarios a placas complicadas⁸².

Manzi et al²⁹ estudiaron 175 mujeres con LES de la cohorte de Pittsburg y encontraron un 40% con placa focal: en las mujeres por debajo de 35 años la prevalencia de placa era del 19,4%, era del 24,4% en aquéllas de 35 a 44 años, y del 47,6% en las perimenopáusicas por encima de los 45 años. En los grupos de mayor edad la prevalencia era del 71%. Las mujeres con LES presentaban un riesgo relativo de aterosclerosis de 5 comparándolas con la población general, mientras que en las menores de 45 años, el riesgo ascendía hasta 50.

Dos estudios recientes sobre arteriosclerosis en enfermos de lupus han sido publicados por Roman et al⁵⁰ y Asanuma et al⁵¹. En ambos existe un grupo control de población general emparejado por edad, sexo y raza con el grupo LES. El primero utilizó ultrasonografía en modo B sobre arteria carótida para identificar placas, mientras que el segundo usó tomografía computerizada por haz de electrones para detectar calcificación en arterias coronarias. Destaca frente a lo descrito hasta el momento en cuanto al grosor de la íntima-media (considerado como marcador temprano de aterosclerosis)⁸⁰ que los pacientes con LES respecto a los controles presentaron menor grosor. Ambos estudios encontraron una prevalencia elevada de aterosclerosis con un OR de 4,8 en el estudio de Roman et al⁵⁰ y de 9,8 en el estudio de Asanuma et al⁵¹.

Recientemente Selzer et al⁵² han publicado un estudio en el que, utilizando ultrasonografía, además de medir el grosor de la íntima-media y las placas calcularon la rigidez de la pared vascular de la arteria aorta; proceso que consideraron previo a la aparición de los cambios morfológicos de la pared.

Existen otros estudios^{52, 61} que han utilizado la técnica doppler para valorar aterosclerosis subclínica, con resultados dispares respecto al de Roman et al⁵⁰, existiendo claras diferencias en cuanto a las características de los grupos estudiados (edad, raza, inclusión o no de pacientes con enfermedad clínica aterosclerosa, inclusión o no de pacientes con factores de riesgo vascular) así como en los criterios ecocardiográficas.

El procedimiento no invasivo más idóneo para detectar y medir la aterosclerosis no está definido, aunque la ultrasonografía carotídea en modo B ha sido la más empleada. Ésta constituye - junto a la tomografía computerizada por haz de electrones - una de las técnicas con mejor soporte en base a datos poblacionales. Ambas han sido validadas por estudios transversales, intervencionistas y prospectivos. Se ha sugerido que tanto el engrosamiento

de la íntima-media, como la presencia de placas carotídeas,⁸³ así como la calcificación coronaria⁸⁴ podrían ayudar a predecir la probabilidad de eventos coronarios.

Por la evidencia científica de que disponemos hasta el momento, muchas otras enfermedades reumáticas inflamatorias (entre ellas, artritis reumatoide, espondilitis anquilopoyética, vasculitis ANCA positivas) se asocian a un riesgo incrementado de aterosclerosis⁸⁵.

Los resultados de los diversos estudios hasta ahora publicados permiten afirmar que los pacientes con LES presentan aterosclerosis con mayor prevalencia y precocidad (pacientes más jóvenes) que la población general. La importancia de tratar los factores de riesgo clásicos parece obvia.

Además, pese a los avances en el tratamiento del LES, caracterizados por la mejoría en la efectividad de la inmunosupresión minimizando efectos secundarios, la incidencia de enfermedad cardiovascular no ha disminuido⁴¹. Tal vez esto sugeriría que la supresión de la actividad general de la enfermedad no es suficiente para normalizar el riesgo de enfermedad cardiovascular en pacientes con LES, aunque existe por lo menos un estudio que sugiere asociación entre terapia inmunosupresora intensiva y la ausencia de placas ateroscleróticas⁵⁰. Por ahora no hay suficiente certeza científica para afirmar que, tratando más agresivamente el LES, controlemos el componente del mismo que contribuye a aterosclerosis.

1.2 ATEROSCLEROSIS COMO PROCESO INFLAMATORIO

La aterosclerosis, causa subyacente a la manifestación de los síndromes aterotrombóticos, es una enfermedad vascular que afecta la capa íntima de las arterias de mediano y gran calibre. Ocurre con mayor frecuencia en las zonas vasculares que soportan mayor presión. Se caracteriza por la acumulación de material lipídico, elementos del tejido conectivo, y elementos celulares, sobre todo macrófagos y células musculares lisas, así como detritos.

La enfermedad cardiovascular y sus secuelas clínicas constituyen la principal causa de mortalidad y morbilidad en hombres y mujeres de mediana edad de todos los grupos raciales en Europa y en Estados Unidos⁸⁶. Los factores de riesgo convencionales siguen siendo una importante herramienta para predecir el riesgo de desarrollar una enfermedad cardiovascular, aunque es desaconsejable confiar sólo en ellos para estimar el riesgo del paciente. Se han diseñado múltiples estudios epidemiológicos con la finalidad de establecer el cálculo global de riesgo cardiovascular de un individuo dado; sin embargo, la especificidad y la sensibilidad de todas las fórmulas empleadas es relativamente baja, cercanas al 50%⁸⁷.

En el año 2003 se evaluaron 122.458 pacientes inscritos en 14 ensayos internacionales con el fin de subrayar la importancia de los factores de riesgo convencionales, objetivando que de cada 5 hombres con enfermedad coronaria, 1 de ellos (n=87.869) no presentaba ninguno de los 4 factores de riesgo convencionales analizados: tabaco, hipertensión, diabetes y dislipemia. Sólo el 34% de los hombres presentaba dislipemia. En 1996 se aventuraron a predecir que la terapia con estatinas eliminaría los infartos hacia el año 2000. Pese a la abrumadora efectividad de los inhibidores de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa) (estatinas) en el descenso lipídico, continúan ocurriendo de un 60 a un 70% de eventos cardiovasculares estando en tratamiento efectivo con los mismos⁸⁸. Es por todo ello que la teoría inicial de la placa aterosclerosa como un problema meramente del metabolismo lipídico ha sido revalorada y reorientada.

Estudios epidemiológicos y científicos han desarrollado la teoría frente a la visión del simple acúmulo de lípidos en la pared vascular, que la aterogénesis es esencialmente una respuesta inflamatoria a una variedad de factores de riesgo (que actúan lesionando la pared) y las consecuencias de esta respuesta llevan al desarrollo de formación de placas que en fases avanzadas pueden ocluir las arterias provocando síndromes agudos coronarios y cerebrovasculares. En la actualidad la hipótesis más aceptada es la de la aterosclerosis como proceso inflamatorio crónico.

En los últimos años, ha quedado establecido que la inflamación juega un papel fundamental en todos las fases de la aterogénesis^{46, 89}. Desde un punto de vista patológico, todos los estadios (inicio, crecimiento y complicación de la placa) deberían ser considerados una respuesta inflamatoria^{90, 91} a un daño: implica células inflamatorias (células T, monocitos, macrófagos), proteínas inflamatorias (citocinas y quimiocinas) y respuestas inflamatorias de las células vasculares (expresión endotelial de moléculas de adhesión). Las células del sistema inmune forman las lesiones aterosclerosas más tempranas, sus moléculas efectoras aceleran la progresión de las lesiones, y la activación de la inflamación puede provocar síndromes coronarios agudos.

La inflamación tiene lugar en los vasos como una respuesta a diferentes formas de daño, incluyendo entre ellas: niveles elevados y modificados de cLDL (peroxidación lipídica); radicales libres (que reducen la formación de óxido nítrico) causados por tabaco, hipertensión, hiperglicemia; alteraciones genéticas (hiperhomocisteinemia congénita); estrés de flujo; infecciones virales y bacterianas, y reacciones inmunes; y combinaciones de estos factores.

La primera fase de la aterosclerosis es la disfunción endotelial.

La aterosclerosis estructural se manifiesta típicamente en tres etapas conocidas como lesión temprana (estrías grasas), lesión intermedia (placas fibrosas) y lesión madura (necrótica)⁹².

La disfunción endotelial precede a la aterosclerosis estructural. También la disfunción del endotelio arterial es importante en los últimos estadios de la aterosclerosis, predisponiendo a vasoconstricción y/o trombosis. El endotelio durante muchos años fue considerado como una barrera inerte que separaba el torrente circulatorio de los tejidos subyacentes. Los avances en el conocimiento del mismo han descubierto su implicación de forma crítica en el mantenimiento de la hemostasia vascular⁹³. La función correcta del endotelio depende principalmente en la capacidad del mismo de producir óxido nítrico (NO). El NO, además de tener una función vasodilatadora, tiene efectos protectores de la pared vascular pues limita la adhesión leucocitaria, la expresión de citocinas, la migración del músculo liso, así como reduce la agregación plaquetar⁹³. La disminución de NO derivado del endotelio (bien sea por aumento de inactivación del mismo por los radicales libres superóxido o por mieloperoxidasa⁹⁴ - caso más frecuente - o por disminución de la producción) constituye un estado de disfunción endotelial, en que los vasos están predispuestos a vasoconstricción, adhesión leucocitaria y plaquetar, expresión endotelial de mediadores protrombóticos y proinflamatorios que inducen a nivel hepático la síntesis de una gran variedad de proteínas de fase aguda: como fibrinógeno, proteína-C reactiva, etc. La mayoría de los factores de riesgo conocidos (incluyendo tabaquismo activo o pasivo, hipertensión arterial, hipercolesterolemia y diabetes⁹⁵) conducen a una disminución de la fabricación de NO al aumentar el estrés oxidativo, facilitando por tanto la infiltración por células inflamatorias, y permitiendo el depósito en la íntima arterial de proteínas aterogénicas plasmáticas (sobretudo cLDL), donde son modificadas químicamente por radicales libres⁹⁶ y también por procesos derivativos (glicosilación, malonaldehidización, etc.). Recientemente se ha descrito un inhibidor endógeno de la NO sintasa y por tanto del NO, el ADMA, producido tras la metilación de la arginina que se asocia a disfunción endotelial y a mayor riesgo de eventos coronarios agudos⁷⁵. La función endotelial puede ser valorada en las arterias coronarias y en las periféricas midiendo la función vasomotora (dilatación arterial por método ecográfico) tras un aumento de flujo arterial, que causa dilatación endotelio-dependiente. La disfunción endotelial medida con este método (una dilatación insuficiente tras un aumento de flujo) correlaciona con los tests invasivos que comprueban la función endotelial coronaria tras la infusión intra-arterial de sustancias farmacológicas que aumentan la liberación por el endotelio de NO, presentando un poder predictivo de disfunción endotelial coronaria del 95%⁹⁷, así como con la severidad y la extensión de la aterosclerosis coronaria⁹⁵.

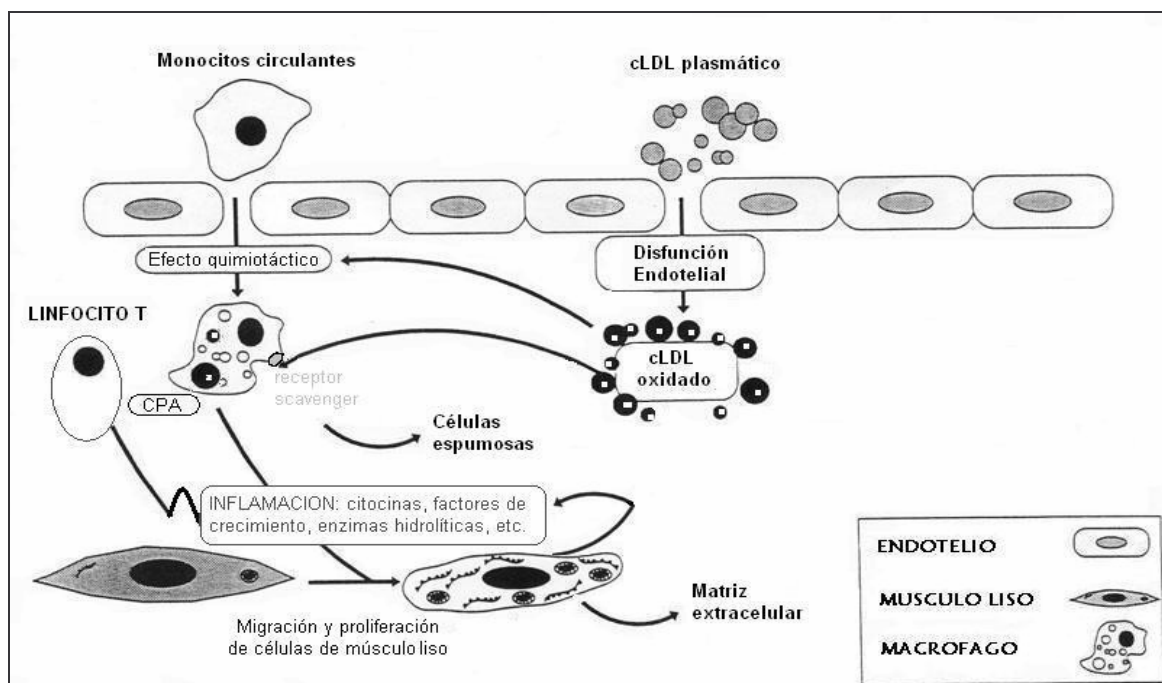
En respuesta a factores de riesgo vascular conocidos, se ha descrito la apoptosis de células endoteliales arteriales⁹⁸. Esta apoptosis ocurre preferentemente en lugares susceptibles a

aterosclerosis (zonas de flujo turbulento o bajo flujo)⁹⁹, pues el flujo laminar constituye uno de los factores endógenos anti-aterosclerosis más potentes que existe estimulando la expresión de genes anti-apoptóticos⁹⁸. La apoptosis de las células endoteliales se ha postulado como un paso inicial en el desarrollo de las lesiones ateroscleróticas (pues la apoptosis de células endoteliales ocurre con mayor frecuencia en las zonas en las que se localizan las lesiones ateroscleróticas)⁹⁸ así como un determinante mayor de erosión de la placa y trombosis⁹⁹. Estudios *in vitro* han demostrado que las células endoteliales apoptóticas tienen propiedades protrombóticas¹⁰⁰. El reemplazo de células endoteliales tras la apoptosis no ocurre sólo por un mecanismo local de división celular sino que también juega un papel importante el reclutamiento de progenitores celulares circulantes derivados de la médula ósea^{101, 102}. La movilización de estas células desde la médula ósea parece ser dependiente de NO, y se halla reducida en individuos con disfunción endotelial^{101, 102}.

La acumulación de colesterol en la pared arterial tiene un efecto citotóxico e inflamatorio, que estimula la migración e internalización de monocitos circulantes. Se cree que la transformación de monocitos en macrófagos (al migrar a través del endotelio hacia la capa íntima) y la captación por los macrófagos de cLDL oxidado (que se ha depositado previamente en la íntima), es el mecanismo que inicia la estría grasa, donde también se identifican algunas células T. Estas células T en esta fase temprana secretan principalmente la citocina interferon gamma (IF- γ)¹⁰³. Las lipoproteínas modificadas son susceptibles de ser captadas por los macrófagos a través de un receptor scavenger, proceso en que a diferencia del fisiológico aclaramiento de cLDL via receptor de cLDL en los macrófagos, la captación de cLDL no viene regulada por las concentraciones intracelulares de colesterol. Así pues, via receptor scavenger los macrófagos fagocitan colesterol de forma no restringida, formando células espumosas. La activación constante de los macrófagos conlleva la elaboración de mediadores inflamatorios. En estudios experimentales se ha objetivado que el cLDL oxidado en el interior de los macrófagos promueve la síntesis por los macrófagos de ésteres de colesterol y el acúmulo de los mismos formando células espumosas¹⁰⁴. Las estrías grasas son prevalentes en gente joven, nunca ocasionan síntomas, y pueden desaparecer o progresar a ateroma.

Si la respuesta inflamatoria no neutraliza o limpia los agentes ofensivos, puede continuar indefinidamente. El principal antígeno contra el que se produce la respuesta inflamatoria es contra las lipoproteínas de baja densidad oxidadas (oxLDL)¹⁰³. La respuesta inflamatoria (secreción de IL-1, IF- γ , TNF- α e IL-6) estimula la migración desde la capa media a la íntima y proliferación de células de músculo liso que llegan a estar entremezcladas con el área de inflamación, produciendo matriz extracelular, para formar una lesión intermedia. Esta lesión intermedia o placa fibrosa se caracteriza por presentar una cubierta fibromuscular

denominada “caparazón”, formada por matriz extracelular, células musculares lisas y colágeno. Estímulos dañinos posteriores continúan la atracción y acúmulo de macrófagos, células mastocitarias, y células T activadas conllevando el crecimiento de la lesión aterosclerótica. Así pues, ciclos de acúmulo de células mononucleares, migración y proliferación de células de músculo liso y formación de tejido fibroso (especialmente constituido por colágeno fabricado por las células del músculo liso), conducen a un engrosamiento y reestructuración de la lesión. La activación de estas células lleva a la liberación de enzimas hidrolíticas, citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento, que pueden inducir mayor daño y conducir eventualmente a la necrosis focal. Existen por tanto estímulos proliferativos y de muerte celular, de síntesis y de degradación así como de procesos protrombóticos y antitrombóticos. En el momento en que se produce la necrosis de las células espumosas, queda configurada una lesión compleja con núcleo necrótico, cubierta de una capa fibrosa que recubre un corazón lipídico y tejido necrótico⁴⁶. La siguiente figura pretende esquematizar el proceso aterosclerótico.



CPA: célula presentadora de antígeno.

Figura 1 Proceso aterosclerótico.

La ateromatosis puede condicionar obstrucción del vaso distal (y por tanto clínica) por dos mecanismos: oclusión directa del vaso por crecimiento de la lesión o bien disrupción de la placa con trombosis secundaria.

La disrupción de la placa depende de un equilibrio entre el sustrato anatómico (que confiere o no las características de una lesión estable versus vulnerable) y las fuerzas biomecánicas que soporta el ateroma. Se ha acumulado muchísima evidencia de que la mayoría de los

episodios clínicos ocurren en las lesiones coronarias ligeras o moderadas que abruptamente progresan a obstrucción severa⁸⁷.

Lesión estable es aquella con capa fibrosa gruesa y escaso núcleo lipídico mientras que la lesión inestable o vulnerable se caracterizaría por presentar un gran corazón central lipídico (que constituye >40% del total del área de la lesión) y una capa fibrosa adelgazada (aproximadamente de 65 a 150 μm)¹⁰⁵.

Las lipoproteínas oxidadas de baja densidad constituyen, entre otros, uno de los factores que contribuyen a la pérdida de células musculares lisas al producir la apoptosis de la capa fibrosa de la placa aterosclerótica, y la secreción por los macrófagos activados de metaloproteinasas y otros enzimas del tejido conectivo que rompen el colágeno de la capa fibrosa, debilitando la capa fibrosa y haciéndola más propensa a la ruptura. También mediadores de la inflamación como tumor necrosis factor- α (TNF- α) e IL-1, estimulan la síntesis y la expresión de metaloproteinasa de los macrófagos¹⁰⁶ (esta interacción podría representar una unión patogénica entre activación persistente del sistema inmune y el desarrollo de la ruptura de la placa), mientras que interferon- γ (IF- γ) la inhibe¹⁰⁶. La disrupción de la placa aterosclerótica expone el corazón ateronecrótico a la sangre arterial, induciéndose la trombosis.

Esta visión fisiopatológica provee dianas potenciales para evaluar como medio para identificar y monitorizar el proceso inflamatorio en curso, a saber: factores de riesgo proinflamatorios (lipoproteínas de baja densidad oxidadas), citocinas proinflamatorias (interleucina-1, factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α)), moléculas de adhesión (molécula de adhesión intercelular-1, selectinas), estímulo inflamatorio con efectos hepáticos (por ejemplo, IL-6), o los productos del estímulo hepático (por ejemplo, amiloide A sérica, proteína-C reactiva, y un montón de otros reactantes de fase aguda) y otros indicadores de respuesta celular a la inflamación como el contaje elevado de leucocitos. Hay que tener en consideración que esta cascada inflamatoria puede tener otra fuente a parte de la aterosclerosis de la arteria coronaria, incluyendo aterosclerosis en otras arterias, así como inflamación sistémica (por ejemplo, enfermedades del tejido conectivo) e infecciones locales (por ejemplo, gingivitis, prostatitis, bronquitis, infecciones del tracto urinario, gastritis). Estos procesos inflamatorios sistémicos pueden resultar en niveles elevados de los marcadores inflamatorios que pueden ser atribuidos incorrectamente a la enfermedad cardiovascular aterosclerótica. Estas dianas pueden ser usadas como indicadores de aterogénesis o como predictores de complicaciones ateroscleróticas.

1.2.1 INFLAMACIÓN SISTÉMICA E INFLAMACIÓN DE LA PLACA

Existen observaciones que sugieren que tras un episodio de infección aguda o de inflamación sistémica aguda (intervención quirúrgica¹⁰⁷), está aumentado el riesgo de evento cardiovascular agudo¹⁰⁸. Los posibles mecanismos por los que esto ocurre se vinculan a una alteración de la función endotelial, por los propios gérmenes en el caso de la infección, o por las sustancias circulantes que forman parte de la agresión (toxinas) o de la respuesta (por ejemplo, citocinas como TNF- α)¹⁰⁸. Esta disfunción endotelial en sujetos sanos se ha objetivado que puede durar durante varios días pese a que la exposición haya sido breve¹⁰⁹. Estudios *in vivo* han demostrado que el TNF- α , afecta a la función endotelial provocando disfunción endotelial⁶². Estudios *in vitro* han demostrado que el TNF- α reduce la vida media de mRNA que codifica para sintasa del óxido nítrico¹¹⁰.

Por otro lado, las concentraciones de TNF- α elevadas (en el LES son más elevadas en estado inactivo) podrían inducir una expresión endotelial de ICAM-1, VCAM-1 (como se ha demostrado *in vitro*).

En el caso de infección sistémica se ha hipotetizado que los marcadores inflamatorios sistémicos que fluyen por el torrente sanguíneo, como citocinas o endotoxinas, podrían provocar en las células de la placa ateromatosa la producción local de citocinas^{111, 112}. Soportes experimentales de esta noción se derivan de estudios en ratones alimentados con una dieta inductora de ateroma, en las que se ha administrado endotoxinas sistémicas, objetivándose producción de expresión genética de citocinas en ateromas preexistentes¹¹². Estudios en humanos objetivan disfunción endotelial temporal tras la administración de la vacuna de Salmonella Typhi como estímulo agudo inflamatorio que provoca leucocitosis, así como aumento de IL-6¹¹³. De esta manera, episodios de infección sistémica podrían llevar a una crisis en la evolución de la lesión ateromatosa. De hecho, existen estudios angiográficos seriados que indican la progresión no lineal en el tiempo del crecimiento de las placas¹¹⁴.

Las infecciones agudas podrían alterar las variables biomecánicas que condicionan la ruptura de la placa. Por ejemplo, la taquicardia y el aumento de flujo sanguíneo que acompaña a muchos estados febriles pueden incrementar el stress de la pared de placas ateromatosas y condicionar su ruptura¹¹⁵.

Además, los efectos aterogénicos de factores de riesgo convencionales se ven magnificados por la presencia de inflamación. También es conocido que los procesos inflamatorios actúan en la activación plaquetar y afectan la cascada de la coagulación¹¹⁶.

1.2.2 RESPUESTAS TH1 Y TH2

En las lesiones ateroscleróticas, tanto macrófagos como células dendríticas activan células T, induciendo predominantemente una respuesta Th1¹¹⁷. Las citocinas de Th2 (entre ellas IL-10) pueden promover reacciones inmunológicas antiateroscleróticas¹¹⁸. Existen estudios experimentales en ratones en los que tras la inhibición de IL-10 se objetivó un agravamiento de la aterosclerosis, y mejoría de la misma al administrar IL-10¹¹⁹. Sin embargo, pese a estas evidencias, no necesariamente una predominancia de la respuesta Th2 conduce a una reducción de la enfermedad vascular. En el caso del LES aparentemente IL-10 no presenta efectos protectores, pues se han estudiado casos de LES con un polimorfismo de la IL-10 que resulta en menores niveles de IL-10; y los LES con este defecto presentan menor incidencia de enfermedad cardiovascular¹²⁰.

Por otro lado, se ha descrito que las células B productoras de anticuerpos contribuyen a la actividad antiaterosclerótica¹¹⁷.

En el LES parece que, aunque clásicamente se ha definido como una patología en la que domina la respuesta Th2, estudios practicados sugieren diversos patrones de citocinas sanguíneas en diferentes momentos de la enfermedad; dominando en según qué ocasiones el patrón Th1^{4, 12}.

1.3 MARCADORES SANGUINEOS DE ATEROSCLEROSIS

La mitad de los infartos cardiacos ocurren en personas con niveles lipídicos plasmáticos normales¹²¹, por lo que existe un gran esfuerzo por identificar pacientes de alto riesgo para presentar eventos cardiovasculares. Numerosos marcadores sanguíneos han sido propuestos para uso como '*screening*'. La sangre es accesible, y por ello es un material biológico idóneo para analizar lo que ocurre en el organismo; sin embargo, es difícil la traducción sistémica de fenómenos locales.

Podemos definir el término "marcador" como cualquier variable medible que permite reflejar procesos fisiopatológicos, predecir eventos cardiovasculares futuros, indicar daño orgánico, indicar enfermedad o monitorizar la respuesta a un tratamiento, y además puede ser un factor causal¹²².

Entendiendo la aterosclerosis como un proceso de inflamación local inespecífico, que se acompaña de una respuesta sistémica de bajo-grado, se han realizado numerosos estudios para evaluar potenciales herramientas para predecir riesgo cardiovascular buscando una asociación entre concentraciones elevadas de marcadores de inflamación sistémica y eventos cardiovasculares.

Dado que los reactantes de fase aguda pueden venir inducidos por el daño al endotelio vascular causado por los procesos ateroscleróticos, los niveles sanguíneos de los marcadores pueden simplemente representar la extensión de la enfermedad aterosclerótica. Sin embargo, el incremento de inflamación local o sistémica debido a infecciones crónicas, enfermedades inflamatorias crónicas, tabaco, obesidad y/o intolerancia a la glucosa, puede preceder o influir en la progresión de la aterosclerosis. Es difícil conocer la dirección de la asociación entre mediadores de inflamación y aterosclerosis¹²³.

Entre estos marcadores, hay marcadores de inflamación sistémica producidos en el hígado como proteína-C reactiva (PCR); citocinas como interleucina-6 (IL-6); receptores de citocinas de la familia del receptor del factor de necrosis tumoral (TNFR) como CD 40 ligando (CD40L) y moléculas de adhesión celular como molécula de adhesión vascular tipo 1 (VCAM-1) y molécula de adhesión intercelular tipo 1 (ICAM-1). Los marcadores nombrados han sido objeto del presente estudio.

Puesto que la ruptura de la placa y la posterior formación de trombo se han descrito como el mecanismo más común del infarto agudo de miocardio, también han sido motivo de estudio los enzimas catalíticos y los componentes del sistema hemostático.

Entre los enzimas catalíticos que contribuirían a la ruptura de la placa, cabe destacar el enzima mieloperoxidasa .

Entre los componentes del sistema hemostático, ha sido estudiado el factor von Willebrand (FvW).

En la mayoría de estudios que determinan marcadores, la medida de los mismos se realiza sólo en una ocasión. Para entender mejor la historia natural de la aterosclerosis a lo largo del tiempo sería conveniente tener mediciones seriadas, pues tal vez un determinado biomarcador sea más útil en una fase muy temprana del proceso aterosclerótico pero no en una fase más tardía o viceversa¹¹⁶.

Los parámetros descritos a continuación se han vinculado a diferentes etapas del proceso aterosclerótico. Los valores elevados de los mismos en sujetos de estudio se han asociado a mayor riesgo cardiovascular. Todos se han aislado en la placa aterosclerosa.

1.3.1 MOLECULAS DE ADHESION CELULAR: MOLECULA DE ADHESION VASCULAR-1 (VCAM-1)

1.3.1.1 *Concepto*

Molécula de adhesión celular, que refleja inflamación vascular subyacente (activación o daño endotelial), y que colabora tanto en el inicio de la lesión aterosclerótica al permitir la adhesión al endotelio de los leucocitos mononucleares circulantes, como en las fases avanzadas de la aterosclerosis, facilitando la migración de monocitos.

En los estudios, se observan valores elevados de VCAM-1 soluble (sVCAM-1) en pacientes con elevado riesgo vascular o con enfermedad vascular manifiesta, por lo que el poder predictivo de sVCAM-1 se vería limitado a aquellas personas con aterosclerosis más avanzada en el momento de la medición¹²⁴ (por tanto, en prevención secundaria).

En LES se han detectado niveles de sVCAM más elevados que en controles (sin agruparlos por actividad o no de la enfermedad), que correlacionaron con la actividad de la enfermedad en algunos estudios, mostrando en otros disminución en relación a la terapia inmunosupresora independientemente de la actividad de la enfermedad. Los estudios se han centrado en su relación con nefropatía lúpica.

1.3.1.2 *Función*

Juega un papel en la fijación y migración a través del endotelio de los leucocitos¹²⁵. VCAM-1 interacciona con células que expresan la cadena β del antígeno de activación muy tardío (VLA-4) como epitelio parietal renal y leucocitos mononucleares (macrófagos, linfocitos, eosinófilos, basófilos, no neutrófilos) puesto que sus ligandos (dos integrinas: $\alpha_4\beta_1$ y $\alpha_4\beta_7$), no se expresan en neutrófilos¹²⁶.

1.3.1.3 *Células productoras*

VCAM-1 es una glicoproteína de membrana que se expresa en la superficie de células endoteliales vasculares en respuesta a citocinas. No se expresa o lo hace sólo mínimamente en el endotelio no estimulado¹²⁶. Así pues, parece razonable asumir VCAM-1 como un marcador de activación o daño endotelial. También se expresa en células del músculo liso, macrófagos, fibroblastos y células epiteliales.

1.3.1.4 *Origen de los niveles circulantes*

Los orígenes de los niveles circulantes de VCAM-1 no son claros, aunque se supone que deben provenir de la liberación (se ha descrito que la fragmentación de RNA mensajero de VCAM-1 resulta en la producción y secreción del fragmento extracelular) y/o proteólisis desde las células endoteliales^{125, 127}, que aunque como ya se ha comentado no son las únicas células que lo expresan, dada la extensión del endotelio vascular es muy probable que éste sea la principal fuente de VCAM-1 circulante¹²⁸. Asimismo los valores solubles de VCAM-1 correlacionaron con la expresión de mRNA de VCAM-1 en aortas ateroscleróticas humanas¹²⁹. Los niveles solubles de VCAM-1 reflejan la expresión en la membrana endotelial y el proceso inflamatorio de la pared vascular¹²⁷.

1.3.1.5 *Factores que influyen en los niveles solubles*

sVCAM se eleva progresivamente con la edad, independientemente del riesgo vascular¹³⁰.

1.3.1.6 *Estudios en placa aterosclerótica.*

En un modelo de ratón con déficit homocigoto de apolipoproteína-E (ApoE^{-/-}) que desarrolla lesiones de aterosclerosis complejas similares a las que se presentan en humanos, se objetivó una regulación al alza de la expresión de VCAM sobre células endoteliales en zonas no propensas a la lesión aterosclerótica¹³¹, expresión que aparentemente correlacionó con los niveles sanguíneos de colesterol.

Estudios en arterias coronarias humanas han objetivado que en arterias sanas no se expresa VCAM-1¹³². VCAM-1 se expresa en la superficie endotelial del 39% de las placas fibrosas y del 20% de las placas con alto contenido lípidico¹³². Se localiza en la placa predominantemente en las zonas de neovascularización¹³². También se expresa en los macrófagos y en las células del músculo liso que constituyen la placa^{133, 134}.

Ni en el estudio de Hwang¹²⁵, ni en el de van der Meer¹²³, ni en el de Rodhe¹³⁵ ni en el de Hulthe et al¹³⁶ se encontró asociación significativa entre los niveles de sVCAM-1 y aterosclerosis carotídea versus controles sanos.

1.3.1.7 *Estudios en prevención primaria*

En estudios prospectivos de población sana, no se ha encontrado asociación significativa entre los niveles plasmáticos de VCAM-1 e incidencia de enfermedad coronaria^{125, 137}. Sin

embargo, en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, valores basales más elevados de sVCAM-1 se asociaron a mayor mortalidad cardiovascular¹³⁸.

1.3.1.8 Estudios en pacientes con enfermedad isquémica clínica establecida.

En pacientes que han sufrido un evento coronario agudo se encuentran niveles solubles más elevados de sVCAM-1 que en pacientes control¹³⁹. De Caterina R et al¹²⁸ mostraron valores más elevados de sVCAM-1 en pacientes con enfermedad arterial periférica que en pacientes sanos. En un estudio practicado en pacientes con enfermedad arterial periférica, se evaluó la extensión de la aterosclerosis mediante angiografía en vasos desde la aorta distal hasta las arterias poplíteas. sVCAM-1 correlacionó con la extensión de la aterosclerosis (no así sICAM-1, que también fue evaluada)¹⁴⁰.

1.3.1.9 Síndrome coronario agudo

En pacientes con angina inestable o con infarto agudo de miocardio no Q, se obtuvo plasma en el momento de la presentación de la clínica, a los 3 meses, 6 y 12 meses. Respecto al grupo control, los pacientes presentaron valores plasmáticos más elevados de VCAM-1 hasta el sexto mes¹⁴¹.

1.3.1.10 Estudios en prevención secundaria

En pacientes afectados de enfermedad arterial coronaria confirmada por angiografía, valores elevados de sVCAM-1 se asociaron a eventos cardiovasculares fatales futuros¹⁴², añadiendo incluso poder predictivo a factores de riesgo clásicos y PCR.

1.3.1.11 Modificación farmacológica

Estudios *in vitro* han demostrado que las tiozolidinedionas inhiben la expresión de VCAM-1 en las células endoteliales activadas y reducen significativamente la introducción de monocitos/macrófagos en las placas ateroscleróticas¹⁴³.

1.3.1.12 Estudios en LES

En pacientes con LES se han descrito niveles más elevados de sVCAM-1 que los detectados en controles¹⁴⁴⁻¹⁴⁶. Estos niveles de sVCAM-1 en el estudio de Ikeda et al¹⁴⁵ mostraron una correlación positiva con la puntuación de SLEDAI y los títulos de anticuerpos anti-dsDNA y negativa con los valores de complemento (CH50, C3 y C4). Los pacientes con glomerulonefritis lúpica presentaron niveles de sVCAM-1 más elevados que los controles sanos¹⁴⁵. Ikeda et al¹⁴⁵ siguieron longitudinalmente durante un periodo máximo de 6 meses a

11 pacientes con glomerulonefritis lúpica, en los que observaron en relación a disminución de SLEDAI una tendencia a disminuir sVCAM llegando a presentar 9 de ellos valores comprendidos dentro de la normalidad. Spronk et al¹⁴⁷ realizaron un estudio prospectivo en el que valoraban durante un periodo de 6 meses el suero de pacientes previo al brote, objetivando correlación positiva entre sVCAM-1 y SLEDAI, y negativa entre sVCAM-1 y fracción C3 del complemento. Los pacientes con afectación renal presentaban valores de sVCAM-1 mayores que los que no tenían nefropatía. Este último estudio favorece la hipótesis de que la formación de depósitos de inmunocomplejos activa la cascada del complemento y las células endoteliales, que al exponer VCAM-1 en su superficie facilitan la trasmigración de células inflamatorias activadas induciendo daño tisular. En otro estudio en el que se incluyeron 50 pacientes con nefropatía lúpica, éstos mostraron valores más elevados de sVCAM-1 que los controles, y estos valores eran diferentes en actividad y inactividad¹⁴⁸. Otro estudio objetivó correlación entre los niveles de sVCAM-1 y la actividad del LES valorada con la puntuación British Isles Lupus Assessment Group (BILAG), de forma que resultaron más elevados a mayor actividad de la enfermedad lúpica, normalizándose en la remisión clínica⁵⁸. Belmont et al¹⁴⁹ quisieron contrastar la hipótesis de que durante las exacerbaciones del LES, las células endoteliales se activaban, incrementando la expresión de moléculas de adhesión, para lo que practicaron biopsias cutáneas y cuantificaron por inmunohistoquímica las moléculas. La expresión de VCAM estaba elevada en LES respecto a controles, así como en pacientes con enfermedad activa respecto a inactiva¹⁴⁹. Estudios *in vitro*, han demostrado que, tras someter células humanas endoteliales de vena umbilical a anticuerpos anti-dsDNA purificados de pacientes con LES, se objetiva una hiperexpresión endotelial de VCAM-1^{150, 151} así como mayor detección de sVCAM-1 en el sobrenadante¹⁵⁰. Un estudio llevado a cabo para evaluar la utilidad clínica de diversos parámetros en la actividad de la enfermedad de pacientes con LES, midió niveles de sVCAM-1 en 52 pacientes seguidos durante 6 meses tomando 3 determinaciones sanguíneas durante ese periodo y valorando índice de actividad de la enfermedad con ECLAM (consenso europeo de medida de la actividad lúpica) en cada uno de los momentos, objetivando que independientemente de si la actividad medida por ECLAM estaba estable, aumentaba o disminuía, los valores de sVCAM-1 disminuían de forma estadísticamente significativa. Los autores sugieren que dicha disminución se debe a una respuesta a la terapia inmunosupresora sobre las células endoteliales¹⁵².

1.3.2 MOLECULA DE ADHESION CELULAR: MOLECULA DE ADHESION INTERCELULAR-1 (ICAM-1)

1.3.2.1 *Concepto*

Molécula de adhesión celular, que refleja inflamación vascular subyacente (activación endotelial), y que colabora en el inicio de la lesión aterosclerótica al permitir la adhesión al endotelio de los leucocitos circulantes.

Su determinación es útil sobretodo en pacientes sanos, pues valores elevados de ICAM-1 soluble (sICAM-1) en esta población se asocian a presencia de placa aterosclerosa y a mayor probabilidad de presentar episodios clínicos de enfermedad cardiovascular¹²⁴.

En el LES en general parece que sICAM-1 no presenta valores más elevados que en población sana (sólo se han descrito en un tipo de nefropatía lúpica) ni guardan relación dichos niveles con los cambios de actividad lúpica.

1.3.2.2 *Función*

Juega, como VCAM-1, un papel en la fijación y migración a través del endotelio de los leucocitos¹²⁵ pero a diferencia de ella, una también polimorfonucleares¹²⁶ y otras moléculas, se regula por distintas citocinas, se expresa en diferentes lugares y se une a diferentes integrinas (los ligandos más importantes que presenta son: LFA-1 y Mac-1).

1.3.2.3 *Células productoras*

ICAM es miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas, y está constitutivamente presente en las células endoteliales. La expresión en dichas células se puede ver aumentada por una variedad de mediadores inflamatorios, incluyendo tumor necrosis factor (TNF), interleucina-1, IF- γ y endotoxinas. Se expresa también en fibroblastos, células linfoides y células hematopoyéticas¹⁵³. Se fabrica en tejidos diferentes que VCAM¹²⁶. En un modelo animal, Walpola et al¹⁵⁴ observaron a bajos flujos una regulación hacia arriba de VCAM-1 y hacia abajo de ICAM-1, mientras que a flujos elevados sucedía la regulación hacia arriba de ambas moléculas.

1.3.2.4 *Origen de los niveles circulantes*

Los orígenes de los niveles circulantes de ICAM-1 no son claros, aunque se supone que deben provenir de la liberación y/o proteólisis desde las células endoteliales^{125, 127}, que

aunque como ya se ha comentado no son las únicas células que lo expresan, dada la extensión del endotelio vascular es muy probable que éste sea la principal fuente de ICAM-1 circulante¹²⁸.

1.3.2.5 Factores que influyen en los niveles solubles

Se han descrito niveles más elevados de sICAM-1 en fumadores respecto a no fumadores¹²⁵, y en mujeres con índice de masa corporal en la categoría de obesidad o sobrepeso (niveles más elevados en obesas que en sobrepeso)¹⁵⁵. En personas sanas se ha descrito correlación entre niveles de sICAM-1 y valores de IL-6 y PCR¹³⁶.

1.3.2.6 Estudios en placa aterosclerótica

Estudios en un modelo de ratón con déficit homocigoto de apolipoproteína-E (ApoE^{-/-}) que desarrolla lesiones de aterosclerosis complejas similares a las que se presentan en humanos, objetivaron una regulación al alza de la expresión de ICAM sobre células endoteliales en zonas propensas a la lesión aterosclerótica¹³¹, siendo su expresión independiente de los niveles de colesterol sanguíneos.

Estudios en arterias coronarias humanas han objetivado que segmentos focales de arterias sanas expresan ICAM-1¹³². ICAM-1 se expresa en el endotelio de todo tipo de placas y en los macrófagos¹³². Se ha hallado niveles más elevados en pacientes con aterosclerosis carotídea, (diagnosticada por Eco-doppler en modo B) que en pacientes sanos^{123, 125, 135, 136}, especialmente en pacientes con placas carotídeas¹²³. Existe un estudio practicado por Hashimoto et al¹⁵⁶ en el que describen una elevación gradual de sICAM-1 paralela al grado de lesión aterosclerosa carotídea independientemente de los factores de riesgo clásicos.

1.3.2.7 Estudios en prevención primaria

Pacientes que desarrollaron enfermedad coronaria tenían niveles basales más elevados que aquellas personas que no la desarrollaron y dicho riesgo se mantenía en el análisis multivariante^{125, 157}, aumentando a medida que la población inicialmente sana se seguía durante más tiempo¹⁵⁷.

1.3.2.8 Estudios en pacientes con enfermedad isquémica clínica

Se han hallado niveles en suero más elevados en pacientes con enfermedad coronaria y con enfermedad arterial periférica (mucho más elevados que en enfermedad coronaria) que en pacientes sanos¹⁵⁸. En un estudio con pacientes que presentaban angina estable, angina inestable e infarto agudo de miocardio no se objetivaron diferencias entre los tres grupos de

pacientes y los valores de sICAM-1, pero sí fueron superiores a los valores de los controles sanos¹⁵⁹. Existe algún estudio en pacientes con enfermedad coronaria en los que no se han objetivado niveles más elevados de sICAM-1 que en controles sanos, aunque sí de sVCAM-1¹³⁹.

1.3.2.9 *Síndrome coronario agudo*

En pacientes con angina inestable o con infarto agudo de miocardio no Q, se obtuvo plasma en el momento de la presentación de la clínica, a los 3 meses, 6 y 12 meses. Respecto al grupo control los pacientes presentaron valores plasmáticos más elevados de ICAM-1 hasta el sexto mes¹⁴¹. En un estudio con pacientes que presentaban angina estable, angina inestable e infarto agudo de miocardio no se objetivaron diferencias entre los tres grupos de pacientes y los valores de sICAM-1 pero sí fueron superiores a los valores de los controles sanos¹⁵⁹.

1.3.2.10 *Estudios en prevención secundaria*

En pacientes afectados de enfermedad arterial coronaria confirmada por angiografía, valores elevados de sICAM-1 se asociaron a eventos cardiovasculares fatales futuros¹⁴². Otro estudio practicado en pacientes con enfermedad crónica coronaria objetivó que los niveles de sICAM-1 basales fueron más elevados en aquellos pacientes que experimentaron eventos coronarios agudos futuros que en aquéllos que no los presentaron. Esta relación se mantenía incluso después del análisis multivariante que incluía otros factores de riesgo cardiovasculares¹⁴².

1.3.2.11 *Modificación farmacológica*

Estudios *in vitro* han demostrado que las tiozolidinedionas inhiben la expresión de ICAM-1 en las células endoteliales activadas y reducen significativamente la introducción de monocitos/macrófagos en las placas ateroscleróticas¹⁴³.

1.3.2.12 *Estudios en LES*

En pacientes con LES, Nyberg et al¹⁴⁴ describieron niveles más elevados de sICAM-1 que los detectados en controles¹⁴⁴; sin embargo, Ikeda et al¹⁴⁵ no hallaron diferencias estadísticas entre los valores de los controles y de los pacientes con LES, pero al analizar sólo aquellos pacientes con nefropatía lúpica clasificados de acuerdo con la World Health Organization (WHO) en las clases III y IV sí observaron valores más elevados que en los controles sanos (sin embargo aquéllos clasificados como WHO I y II no presentaron diferencias estadísticamente significativas respecto a los controles). En el seguimiento prospectivo de 11

pacientes con nefropatía lúpica durante un periodo máximo de 6 meses, no observaron diferencias significativas entre los valores de sICAM-1 en el inicio y al final del seguimiento pese a disminución de SLEDAI¹⁴⁵. Belmont¹⁴⁹ et al quisieron contrastar la hipótesis de que durante las exacerbaciones del LES las células endoteliales se activaban, incrementando la expresión de moléculas de adhesión, para lo que practicaron biopsias cutáneas y cuantificaron por inmunohistoquímica las moléculas. La expresión de ICAM estaba elevada en LES respecto a controles, así como en pacientes con enfermedad activa respecto a inactiva¹⁴⁹. Mrowka et al¹⁴⁸ realizaron un estudio comparando pacientes con nefropatía lúpica activos y no activos versus controles sanos, en los que no objetivaron diferencias en los valores de sICAM-1 detectados, ni en cuanto a modificación en actividad/inactividad, ni al comparar valores de LES versus controles sanos. En estudios en los que se valoraba actividad del LES y modificación de los valores de sICAM-1, no se objetivó significación estadística^{58, 147, 160}. Estudios *in vitro* han demostrado que, tras someter células humanas endoteliales de vena umbilical a anticuerpos anti-dsDNA purificados de pacientes con LES, se objetiva una hiperexpresión endotelial de ICAM-1, así como mayor detección de sICAM-1 en el sobrenadante¹⁵⁰.

1.3.3 MIELOPEROXIDASA (MPO)

1.3.3.1 *Concepto*

MPO es una hemoproteína derivada de los leucocitos activados. Presenta importantes propiedades aterogénicas.

Niveles circulantes elevados de MPO se han asociado a disfunción endotelial. Útil en estratificación de riesgo coronario entre los pacientes que han presentado dolor torácico.

En pacientes con LES existen muy pocos estudios en los que se incluyan la determinación de MPO. Éstos estudian un número de pacientes pequeño, y describen valores de MPO disminuidos en LES respecto a controles sanos.

1.3.3.2 *Función*

MPO cataliza la formación de varios oxidantes, entre los que destaca el ácido hipocloroso. El ácido hipocloroso es fabricado sólo en el cuerpo humano gracias a la acción de MPO, y es un potente oxidante derivado del ión cloro y del peróxido de hidrógeno. Inicialmente considerado como un enzima microbicida, se le han atribuido potentes propiedades aterogénicas. La MPO se ha relacionado con la oxidación de las lipoproteínas LDL^{161, 162}, contribuyendo a la formación de células espumosas; con la producción de lípidos citotóxicos y trombogénicos¹⁶³; con el consumo de óxido nítrico, comportando propiedades

proinflamatorias y vasoconstricción⁹⁴; y con la activación de cascadas de proteasas (que por ejemplo activan metaloproteinasas) que afectan a la estabilidad y trombogenicidad de la placa^{164, 165}.

1.3.3.3 Células productoras

La síntesis de mieloperoxidasa ocurre durante la diferenciación mieloide en la médula ósea y se completa previa a la entrada en circulación de los leucocitos. MPO se almacena en los granos azurófilos de neutrófilos y monocitos (macrófagos en los tejidos), que liberan MPO degranulándose cuando se activan¹⁶¹.

1.3.3.4 Origen de los niveles circulantes

Los niveles circulantes se supone que provienen de la degranulación de los leucocitos circulantes.

1.3.3.5 Estudios en placa aterosclerótica

Estudios inmunohistoquímicos han demostrado la presencia de MPO en lesiones humanas ateroscleróticas¹⁶⁶. Las lesiones ateromatosas humanas¹⁶⁷ avanzadas, sobretodo aquellas que han evolucionado a la ruptura o erosión, presentan macrófagos que contienen grandes cantidades de MPO que producen especies pro-oxidantes (como el ácido hipocloroso)¹⁶¹. En cambio, los macrófagos de la estría grasa presentan un contenido nulo o escaso de MPO¹⁶¹. La MPO favorece la oxidación de las partículas cLDL, promoviendo la captación por los macrófagos^{104, 162, 168}, así como la de otros lípidos¹⁶³, consumiendo NO⁹⁴. Actúa en la oxidación de las proteínas en las lesiones avanzadas, favoreciendo la inestabilidad de la placa¹⁶². Estudios *in vitro* han demostrado que tanto el CD40L como los cristales de colesterol, entre otros, pueden provocar la degranulación de los macrófagos liberando MPO¹⁶². También se ha demostrado que la MPO del torrente sanguíneo puede ser acumulada en el espacio subendotelial a través de la célula endotelial por un proceso transcitótico¹⁶⁹. Los niveles elevados de MPO se han asociado a disfunción endotelial valorada por dilatación de la arteria braquial dependiente de NO mediada por flujo, incluso tras ajuste por factores de riesgo clásicos, PCR y prevalencia de enfermedad cardiovascular¹⁷⁰. Los niveles elevados de MPO se han asociado a progresión de aterosclerosis carotídea en pacientes con cHDL menores a 49 mg/dL¹⁷¹.

1.3.3.6 Estudios en prevención primaria

En un estudio practicado en pacientes que acudieron a un servicio de urgencias por dolor torácico y en los que se determinó mieloperoxidasa, se objetivó que los valores plasmáticos

elevados se asociaron a mayor probabilidad de diagnóstico de infarto agudo de miocardio en aquel momento. También se predijeron eventos cardíacos adversos que ocurrieron entre los 30 días y hasta los siguientes 6 meses¹⁷².

1.3.3.7 *Estudios en pacientes con enfermedad isquémica clínica*

Los pacientes con enfermedad cardiovascular presentan niveles más elevados de MPO intraleucocitaria y sanguínea que los controles sanos, manteniendo la significación estadística tras un ajuste por los factores de riesgo cardiovasculares clásicos¹⁷³.

1.3.3.8 *Síndrome coronario agudo*

En pacientes con síndromes coronarios agudos se ha objetivado degranulación incrementada de neutrófilos circulantes en la circulación coronaria¹⁷⁴. En pacientes con síndrome coronario agudo no se ha objetivado significación estadística entre valores elevados de MPO y presencia de infarto agudo de miocardio en ese momento, aunque sí niveles elevados se asocian a mayor probabilidad de infarto o muerte de causa cardíaca a partir de las 72 horas¹⁷⁵.

1.3.3.9 *Estudios en prevención secundaria*

En pacientes con angina inestable, la determinación de niveles elevados de MPO en suero predicen riesgo de presentar infarto agudo de miocardio o muerte de causa cardíaca entre las 72 horas y los 6 meses siguientes¹⁷⁵, añadiendo valor predictivo a troponina T, PCR y a CD40L.

1.3.3.10 *Estudios en LES*

Hasta la actualidad sólo existen 2 estudios en los que se haya valorado MPO en pacientes con LES. Morgan et al¹⁷⁶, determinaron los niveles séricos de MPO (sMPO) en 19 mujeres con LES de edad media $42,5 \pm 15,0$ y con SLEDAI medio de $3,6 \pm 2,9$ y los compararon con 11 mujeres controles. Concluyeron que las pacientes con LES presentaban valores inferiores a los controles (86 ± 46 ng/mL versus 140 ± 84 ng/mL; $p=0,028$). Describieron una tendencia no significativa estadísticamente entre niveles más bajos de MPO y mayor actividad de la enfermedad (valorada por mayor puntuación de SLEDAI y elevación de anticuerpos anti-dsDNA). Sería criticable en este estudio la no determinación de anticuerpos anti-mieloperoxidasa; el uso de tests paramétricos estadísticos pese al número pequeño de pacientes y la evidencia de diferencia racial entre LES y controles (en grupo control 9% asiáticos versus 42% en LES). Minota et al¹⁷⁷ realizaron un estudio previo en el que incluían pacientes con vasculitis y los comparaban con pacientes que presentaban enfermedades

autoinmunes asociadas a vasculitis, incluyendo 30 pacientes con LES. Describieron niveles disminuidos de MPO en los pacientes con LES comparados con los controles, aunque no se realizó estudio estadístico.

1.3.4 CD 40 LIGANDO (CD40L)

1.3.4.1 *Concepto*

Es una glicoproteína transmembrana primordial cuyo receptor es el CD40, de la interacción de ambos depende la inmunidad humoral timo-dependiente y la respuesta inmune mediada por células. Se expresa sólo en células activadas. Se halla sobreexpresada en las células de la placa aterosclerótica jugando un papel princeps en la formación de una placa inestable.

Útil como predictor de riesgo vascular en prevención primaria y en secundaria.

En los pacientes con LES se han descrito niveles de CD40L soluble (sCD40L) más elevados que en controles sanos, y dichos niveles en algunos estudios son más elevados a mayor índice de actividad de la enfermedad. En cuanto a la expresión en linfocitos existe controversia entre los diferentes trabajos publicados.

1.3.4.2 *Función*

La interacción entre CD40L y CD40 es crítica en el control de la inmunidad humoral timo-dependiente y de la respuesta inmune mediada por células. Juega un papel importante en la inmunidad adaptativa y en la inflamación. Se trata por tanto de un potente inmunomodulador que actúa como resorte de la expresión de múltiples mediadores pro-inflamatorios. CD40L es el componente más importante de la señalización de contacto que dirige la activación y diferenciación de las células B, rescatándolas de la apoptosis. CD40L estimula las células B para la secreción de isotipos de inmunoglobulinas en presencia de citocinas. La pérdida de interacción entre CD40 y CD40L resulta en discapacidad de las funciones de linfocitos T, macrófagos y diferenciación de células B¹⁷⁸.

1.3.4.3 *Células productoras*

CD40L es una glicoproteína transmembrana miembro de la familia TNF. Se expresa primariamente en células T CD4+ activadas; sin embargo, también la expresan otras células leucocitarias (linfocitos T y B en general, monocitos/macrófagos/células dendríticas, basófilos/mastocitos, eosinófilos) y células no leucocitarias (células endoteliales, células epiteliales, células del músculo liso, plaquetas y fibroblastos). Por lo tanto, CD40L se halla ampliamente distribuido en las células de la vasculatura al igual que CD40 (su receptor) y en contraste con éste, no se presenta de forma quiescente en la membrana celular sino sólo en

las células activadas¹⁷⁸. El estímulo de determinadas citocinas (por ejemplo: IL-1 beta, TNF- α o IFN- γ) puede aumentar los niveles en la membrana de CD40L, así como la producción *de novo* en determinados tipos celulares.

1.3.4.4 Origen de los niveles circulantes

Las formas solubles se producen probablemente por proteólisis de la proteína de membrana (por ejemplo 15-18 kDa). La forma soluble de 18-kDa pierde la región transmembrana y una porción del dominio extracelular, pero mantiene la región biológicamente funcional (como lo demuestran estudios *in vitro*¹⁷⁹), por lo que es también activa. Existen otras formas solubles monoméricas, diméricas y triméricas que tienen menor potencia biológica comparada con la forma de 18-Kda¹⁷⁸.

Aparentemente, las plaquetas activadas son las células que mayormente contribuyen a los niveles elevados de sCD40L en pacientes con angina inestable^{180, 181}.

1.3.4.5 Factores que influyen en los niveles solubles

Se han descrito niveles solubles elevados respecto a la población sana en pacientes con patologías que implican activación de las células T, incluyendo hepatitis B crónica entre otras condiciones inflamatorias crónicas¹⁸².

1.3.4.6 Estudios en placa aterosclerótica.

Tanto CD40L como su receptor, CD40, se hayan sobreexpresados en las lesiones de aterosclerosis, proveyendo evidencias de la actividad inmune en las lesiones⁴⁶. Se ha hallado abundante expresión de CD40L y CD40 en las lesiones ateroscleróticas humanas pero no en arterias y venas sanas¹⁸³. En estudios *in vitro*, el tratamiento de células humanas endoteliales, células del músculo liso y células mononucleares fagocíticas con oxLDL aumenta la expresión basal de CD40 y CD40L¹⁸⁴. En estudios *in vitro*, la interacción CD40L-CD40 en monocitos, células endoteliales y células del músculo liso vasculares (el tipo celular más numeroso en las arterias) aumenta respectivamente, la producción por los monocitos/macrófagos de citocinas (IL-6, IL-8 e TNF- α)¹⁸⁵, de enzimas de degradación de la matriz extracelular (metaloproteinasa-1 (MMP-1) y MMP-3) y de factor tisular que inicia la trombosis; en las células endoteliales¹⁸⁶ aumenta la expresión de citocinas y de moléculas de adhesión leucocitaria (VCAM e ICAM entre otras) y promueve la expresión por células del músculo liso vascular de enzimas de degradación de la matriz extracelular: MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9¹⁸⁷ y de factor tisular¹⁸⁸. Es decir, promueve la placa inestable. Además, en ratones hipercolesterolémicos, la interrupción de la señalización de CD40L disminuye la formación y la progresión de las placas ateroscleróticas^{189, 190}. De mayor relevancia clínica,

cabe mencionar que la interferencia de la señalización de CD40L promueve cambios en la composición de la placa que se asocian en humanos a mayor estabilidad de la misma: aumentan el contenido de células del músculo liso y de fibrillas de colágeno y disminuyen la acumulación de macrófagos y de lípidos¹⁹¹. Los niveles de sCD40L no se han asociado a aterosclerosis subclínica (medida por tomografía computerizada por haz de electrones sobre la calcificación de las arterias coronarias y medición de la placa aórtica por resonancia magnética) a la mayoría de factores de riesgo cardiovascular clásicos¹⁹². Sin embargo, un estudio que valoró la aterosclerosis subclínica por eco-doppler objetivó valores más elevados de sCD40L en los pacientes con estenosis carotídea que en pacientes que no la presentaban¹⁸¹.

1.3.4.7 Estudios en prevención primaria

Aparentemente, mujeres sanas con niveles elevados plasmáticos de sCD40L han mostrado tener mayor riesgo para eventos cardiovasculares¹⁹³. Otro estudio mostró también que los niveles elevados de sCD40L eran predictores independientes de eventos cardiovasculares¹⁸¹.

1.3.4.8 Estudios en pacientes con enfermedad isquémica clínica.

Pacientes con enfermedad coronaria estable tienen niveles de sCD40L más elevados que la población sana¹⁹⁴. Estos niveles no correlacionaron con la gravedad de la lesión coronaria¹⁹⁴.

1.3.4.9 Síndrome coronario agudo

En pacientes con angina inestable^{181, 195} e infarto¹⁹⁵ se han determinado niveles más elevados de sCD40L que en pacientes con angina estable y que los valores de los controles, lo que sugiere un papel patogénico en el proceso aterosclerótico.

1.3.4.10 Estudios en prevención secundaria

Otro estudio realizado en pacientes con angina inestable, demuestra que niveles elevados de sCD40L identifican a pacientes con elevado riesgo de eventos cardíacos en los siguientes 6 meses¹⁸⁰.

1.3.4.11 Modificación farmacológica

Las estatinas provocan disminución de los niveles plasmáticos de sCD40L^{184, 196}, sugiriendo que la disminución de la inflamación puede contribuir a la disminución de los eventos cardiovasculares que se objetiva con estos fármacos. Otro estudio practicado en pacientes

diabéticos tipo 2 a los que se les suministró tiazolidinedionas objetivó, tras 12 semanas, disminución de los niveles de sCD40L¹⁹⁷.

1.3.4.12 Estudios en LES

El LES es la enfermedad autoinmune mejor caracterizada en términos de desregulación de CD40L. Bajo condiciones normales, el sistema inmune permite sólo expresión transitoria de CD40L. Sin embargo, los pacientes con LES (con LES activo y no en remisión de larga duración) expresan niveles elevados anormales de CD40L tanto en células T como en B y el número total de células CD40L positivas está aumentado^{198, 199}. Tras la estimulación *in vitro* de linfocitos T de pacientes con LES (activos o en remisión de larga duración), se objetiva hiperexpresión de CD40L¹⁹⁸ y durante mucho más tiempo²⁰⁰ que lo que ocurre en linfocitos de sujetos sanos. Esta expresión incrementada de CD40L en las células T de pacientes con LES demostró *in vitro* capacidad para inducir la producción de anticuerpos antinucleares patogénicos¹⁹⁸. Parece que esta expresión aberrante de CD40L contribuye a la secreción de autoanticuerpos a través de la activación de linfocitos B circulantes, incluyendo células que han estado expuestas a autoantígenos; es decir, que esta expresión contribuye a la patogenia de la enfermedad. El bloqueo de la interacción CD40-CD40L en modelos de ratones lúpicos ha demostrado disminuir la actividad de la enfermedad, mientras que los ensayos en humanos con LES han resultado un fracaso tanto por la falta de eficacia del tratamiento²⁰¹ como por el aumento descrito de efectos adversos incluyendo eventos trombóticos²⁰². Un estudio posterior de Bijl et al²⁰³ en el que los linfocitos T y B no fueron manipulados ni estimulados previos al estudio *in vitro*, no describió mayor expresión de CD40L en la membrana de los linfocitos T en los pacientes con lupus estable versus controles sanos, ni tampoco objetivó mayor expresión en los pacientes con lupus activo.

En pacientes con LES se han descrito niveles séricos elevados respecto a la población sana^{146, 182, 204-206}. Los niveles elevados de sCD40L demostraron ser funcionales pues la exposición *in vitro* a los mismos incrementó la expresión de moléculas accesorias en células B^{182, 205}. En el estudio de Kato et al²⁰⁵ los niveles de sCD40L correlacionaron con los títulos de anticuerpos anti-dsDNA. También se describió asociación entre niveles de sCD40L y mayor puntuación en índices de actividad de la enfermedad^{204, 205}. Vakkilanka et al¹⁸² encontraron niveles más elevados de sCD40L en pacientes con enfermedad severa (afectación de sistema nervioso central, neuritis, o proteinuria >1 g/día) comparados con los pacientes con enfermedad moderada (proteinuria <1g/día o serositis) o con enfermedad ligera. Existe un artículo²⁰⁶, recientemente publicado, en el que no se describió correlación entre niveles de sCD40L con índices de actividad de la enfermedad, y se reportaron niveles de sCD40L menores en enfermedad activa que en inactiva. En todos estos estudios sólo se ha seguido de forma prospectiva a un paciente²⁰⁵.

1.3.5 INTERLEUCINA-6 (IL-6)

1.3.5.1 *Concepto*

Citocina que juega un papel primordial como amplificador del estado proinflamatorio. Juega un papel clave en diversos mecanismos que contribuyen al desarrollo de enfermedad coronaria.

Se ha descrito correlación con la extensión de la enfermedad coronaria. Útil en la predicción de la evolución de la enfermedad coronaria establecida.

En LES es una citocina que se halla hiperexpresada, existiendo resultados contradictorios en cuanto a niveles más elevados en relación a mayor actividad de la enfermedad.

1.3.5.2 *Función*

Se trata de una citocina producida en la respuesta inmune innata y, junto con la IL-1, son las principales inductoras de la síntesis de proteínas de fase aguda, sobretodo de fibrinógeno, siendo un determinante primario de la producción hepática de PCR. Además de su efecto en la inflamación, se ha observado que promueve la diferenciación de linfocitos B hacia células plasmáticas, induciendo la producción de inmunoglobulinas. También puede aumentar el desarrollo de precursores hematopoyéticos de todas las series sanguíneas.

La elevación crónica de IL-6 promueve la aterogénesis directamente a través de efectos en la pared vascular (incrementando la liberación de moléculas de adhesión celular) e indirectamente via resistencia a insulina y produciendo efectos procoagulantes sobre las plaquetas.

1.3.5.3 *Células productoras*

Se produce principalmente por monocitos/macrófagos, aunque también se produce en fibroblastos, células endoteliales, linfocitos T y células del estroma de la médula ósea. Se fabrica como respuesta a muchos factores, incluidos: infección, IL-1, IF- γ y TNF.

1.3.5.4 *Factores que influyen en los niveles solubles*

Las concentraciones de IL-6 aumentan con el almacenamiento de tejido graso²⁰⁷. En mujeres se ha descrito una correlación negativa entre IL-6 y cHDL²⁰⁸. La vida media de IL-6 plasmática es inferior a 6 horas, existiendo aumentos diurnos de los niveles de IL-6 en relación a secreción de catecolaminas y glucocorticoides.

1.3.5.5 *Estudios en placa aterosclerótica*

En estudios de placas ateroscleróticas humanas se han determinado depósitos celulares y extracelulares de IL-6 en el tejido conectivo matricial. En la placa fibrosa es donde se encuentran los niveles más elevados²⁰⁹. Se ha identificado mRNA de IL-6 en placas ateromatosas humanas²¹⁰. En un estudio practicado en Francia, los niveles elevados de IL-6 se asociaron a aterosclerosis subclínica (valorada por engrosamiento de la íntima-media y por la presencia de placas ateroscleróticas)²¹¹.

1.3.5.6 *Estudios en prevención primaria*

En varones sanos con edad media de $59 \pm 8,8$ años²¹², personas mayores de 65²¹³ y 70 años²¹⁴, así como en estudios de mujeres posmenopáusicas 69 años $\pm 6,6$ ²¹⁵, valores elevados de IL-6 se han asociado a mayor riesgo de presentar enfermedad coronaria, incluso tras ajuste por perfil lipídico. Otro estudio en el que se evaluaron tanto hombres como mujeres sanas (aunque con edad media más joven que en los 2 últimos estudios presentados), objetivó que los valores basales de IL-6 se asociaban a un aumento de riesgo de presentar enfermedad coronaria. Sin embargo al ajustar por valores lipídicos, este efecto significativo quedaba atenuado²¹⁶. Tal vez, la explicación del porqué de esta atenuación por otros factores de riesgo vascular conocidos venga dada por tratarse de una población más joven que la que se estudiaba en los 2 trabajos previos, ya que el valor predictivo de los factores de riesgo clásicos disminuye al incrementarse la edad²¹⁷. En cuanto a por qué se obtiene un resultado dispar con el estudio de Ridker²¹², tal vez sea debido a la variabilidad interna de determinación de IL-6.

1.3.5.7 *Estudios en pacientes con enfermedad isquémica clínica*

Un estudio objetivó valores de IL-6 más elevados en aquellos pacientes con enfermedad coronaria (objetivada por angiografía) y sin afección vascular periférica que en aquéllos que no la presentaban. Además, los niveles correlacionaban con la extensión de la aterosclerosis coronaria²¹⁸. Cuando evaluaban aquéllos que presentaban tanto enfermedad coronaria como vascular periférica frente a los que sólo tenían enfermedad coronaria, los primeros tenían valores de IL-6 más elevados que los segundos²¹⁸.

1.3.5.8 *Síndrome coronario agudo*

Un estudio demostró valores más elevados de IL-6 en angina inestable que en pacientes con angina estable y que en los controles respectivamente²¹⁹.

Otro estudio, llevado a cabo en pacientes ingresados en unidad coronaria por angina inestable a los que se extrajo muestra sanguínea en el momento de admisión y a las 48 horas de la misma, objetivó que los pacientes que experimentaron mayor riesgo de eventos coronarios agudos durante el ingreso fueron aquéllos que presentaron un aumento de los niveles de IL-6 a las 48 horas, pacientes que a su vez presentaban valores más altos de IL-6 en el momento del ingreso²²⁰.

1.3.5.9 *Estudios en prevención secundaria*

Los valores elevados de IL-6 en angina inestable se han asociado a peor pronóstico^{219, 221}.

1.3.5.10 *Estudios en LES*

IL-6 es una de las citocinas hiperexpresadas en LES. Estudios *in vitro* han objetivado hiperproducción de IL-6 en cultivos de linfocitos de pacientes con LES³. Los niveles de IL-6 en el LES se han descrito elevados respecto a los controles⁹, correlacionando con PCR, y con actividad de la enfermedad^{8, 10}, así como con el índice de masa corporal; presentando correlación inversa con los niveles de cHDL²²². Creando un modelo corregido por diversos factores de riesgo vascular, la IL-6 se asoció a la calcificación coronaria determinada por tomografía computerizada por haz de electrones²²². En otros estudios no se observó correlación entre niveles de IL-6 y PCR⁹ ni con actividad de la enfermedad⁶.

1.3.6 PROTEINA-C REACTIVA (PCR)

1.3.6.1 *Concepto*

Es el biomarcador inflamatorio más utilizado en riesgo cardiovascular¹¹⁶. Juega un papel clave en la respuesta inmune innata amplificando el estado proinflamatorio y en la aterogénesis (tanto en la iniciación, como en la progresión y en la complicación de la placa aterosclerótica).

Útil como predictor de evento coronario agudo tanto en personas sanas (resultando un predictor de riesgo más potente que cLDL y complementario al mismo), como en pacientes

con enfermedad coronaria conocida, presentando los valores correlación con el grado de afección coronaria.

En LES se han descrito niveles ligeramente más elevados que entre la población sana. En el estudio LUMINA los valores de PCR resultaron predictores independientes de episodios clínicos cardiovasculares³².

1.3.6.2 Función

La PCR juega un papel clave en la respuesta inmune innata. Como participante en la respuesta inmune innata, PCR se une a ligandos que resultan de la activación de la vía clásica del complemento. Se cree que además de ser un marcador de inflamación, PCR juega un papel como parte integral en el proceso inflamatorio de la aterosclerosis, considerándose hoy en día mediador y marcador de la enfermedad aterotrombótica. Los niveles ligeramente elevados, aunque convencionalmente considerados como normales, reflejan un estado de bajo grado de inflamación crónica y representan un predictor independiente de mortalidad cardiovascular entre sujetos sanos y entre aquéllos con enfermedad aterotrombótica clínica. El test de PCR tradicional, usa un anticuerpo policlonal y tiene un límite inferior de detección de 3 mg/L. Este prueba no es suficiente sensible para medir los niveles asociados a inflamación crónica subclínica presente en la aterosclerosis, por lo que se desarrolló el test de alta sensibilidad de PCR (hs-PCR), con anticuerpo monoclonal, pudiendo detectar valores por debajo de 0,1 mg/L⁹¹.

1.3.6.3 Células productoras y origen de los niveles circulantes

Es un reactante de fase aguda producido por los hepatocitos en situaciones de inflamación o infección, teniendo como principal estímulo la IL-6²²³. También se produce a nivel local en las células musculares lisas de vasos dañados, en respuesta a IL-1-beta, IL-6 y TNF- α .

1.3.6.4 Factores que influyen en los niveles solubles

Los niveles de PCR son estables a lo largo de mucho tiempo (no presentan ritmo circadiano)²²⁴ y no se modifican con la ingesta²²⁵. Sus niveles en sangre aumentan en los procesos infecciosos e inflamatorios tanto agudos como crónicos, en las enfermedades neoplásicas, pero también en la hipertensión, obesidad¹⁵⁵, síndrome metabólico, hiperglicemia, tabaquismo y dislipemia. Sus niveles disminuyen con el consumo moderado de alcohol, ejercicio, pérdida de peso, suspensión del hábito tabáquico y ciertos fármacos como estatinas y fibratos. Tiene una vida media sanguínea elevada (de 18 a 20 horas).

1.3.6.5 Estudios en placa aterosclerótica

En estudios inmunohistoquímicos de lesiones ateroscleróticas tempranas se han hallado depósitos de PCR en la íntima (en relación a elementos activados de la vía clásica del complemento) y en contacto con células espumosas²²⁶, pues PCR une cLDL y aumenta la habilidad de los macrófagos para fagocitarla a través del receptor CD32 de la PCR²²⁷. Se han detectado concentraciones elevadas de mRNA de PCR en la placa aterosclerótica²²⁸. En estudios en ratones se ha objetivado un papel aterogénico²²⁹. La PCR estimula a varias células incluyendo a las células endoteliales a elaborar quimiocinas (MCP-1), citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, TNF- α), moléculas de adhesión (ICAM-1 y VCAM-1)²³⁰ que atraerán a los monocitos al lugar del daño. A su vez se cree que la PCR tiene *per se* funciones quimiotácticas para monocitos²³¹. La PCR activa a los macrófagos a secretar factor tisular, un potente procoagulante²³², y esta activación se incrementa con la edad a igual concentración de PCR. También afecta a la función endotelial con disminución de la producción de óxido nítrico⁹³.

En el estudio de Rotterdam se hallaron niveles más elevados en personas con engrosamiento de la íntima-media que en personas sanas y, tras análisis multivariado, el único parámetro que mantenía significación estadística para engrosamiento de la íntima-media era la PCR¹²³. PCR también se asocia a la presencia de placas carotídeas¹²³. Sin embargo, otro estudio americano no objetivó asociación entre niveles de PCR y engrosamiento de la íntima-media²³³. No se han objetivado niveles elevados de PCR en presencia de placas calcificadas, por lo que se sugiere que la inflamación en este tipo de placas ya no juega un papel primordial^{123, 234}.

1.3.6.6 Estudios en prevención primaria

Hay muchos estudios epidemiológicos prospectivos, hasta la actualidad unos 18 en total, en los que se confirma el papel de la PCR en la patogénesis de la aterosclerosis y en la capacidad de predecir eventos clínicos (aterotrombosis); es decir, en el poder predictivo de futuros eventos cardiovasculares en personas previamente sanas. Dos de ellos fueron realizados en grandes cohortes: el *Physician's Health Study* (PHS) compuesto por hombres sanos²³⁵; y el *Women's Health Study* (WHS)²³⁶ en el que se estudiaron 28.263 mujeres, demostrando que la PCR es un marcador predictor de eventos cardiovasculares independiente de los niveles de cLDL, de la presencia de síndrome metabólico y de la tensión arterial. Resultados similares se han obtenido también en el estudio de Framingham en el que se recogen 3.037 pacientes de ambos sexos²³⁶. La PCR añade un valor predictivo

a la puntuación del estudio Framingham, ya que si estratificamos a los sujetos en función de su nivel de PCR, la predicción de riesgo cardiovascular con la ecuación de Framingham mejora²³⁷. Hay un estudio que demuestra que la PCR es un predictor de riesgo más potente que el cLDL²³⁷. En el estudio de Ridker et al²³⁶, de todos los parámetros analizados, la PCR en el estudio univariante resultó el predictor más potente de riesgo vascular y tras el ajuste por factores de riesgo tradicionales, los únicos predictores que mantuvieron significación estadística fueron PCR y cociente CT/cHDL. Los valores de PCR correlacionaron muy poco con los niveles lipídicos²³⁷. Así pues, la determinación de PCR no suplanta la evaluación lipídica, pero deben ser considerados como una determinación adjunta.

Una evaluación del estudio ARIC²³⁸ (*atherosclerosis risk in communities*) describe la escasa aportación de los nuevos marcadores sanguíneos, entre ellos PCR, a la predicción de riesgo vascular en la población general si se consideran los factores de riesgo vascular clásicos.

1.3.6.7 *Estudios en pacientes con enfermedad isquémica clínica*

Otro estudio, en el que se trabajó con pacientes de ambos sexos, objetivó valores de PCR más elevados en aquellos pacientes con enfermedad coronaria y sin afección vascular periférica que en aquéllos que no presentaban ninguna de las dos patologías. Además los niveles correlacionaban con la extensión de la aterosclerosis coronaria²¹⁸.

1.3.6.8 *Síndrome coronario agudo*

En pacientes con angina inestable, se observan valores más elevados de PCR que en pacientes con angina estable^{239, 240}. En un estudio en el que se evaluaron 929 varones que habían sufrido un evento coronario agudo se objetivó que los niveles de PCR eran más elevados en aquellos pacientes con enfermedad coronaria diagnosticada y enfermedad vascular periférica²⁴¹.

1.3.6.9 *Estudios en prevención secundaria*

La PCR es un predictor independiente de nuevos accidentes isquémicos cerebrales o coronarios o muerte súbita en sujetos que previamente habían tenido un evento cerebrovascular²⁴². Niveles elevados de PCR en pacientes con angina inestable, confieren un peor pronóstico²³⁹. Otro estudio en los que se siguieron durante 2 años pacientes con angina estable y con angina inestable, y en los que se determinaron basalmente los niveles de PCR, objetivó que la elevación de la PCR actúa como predictor de evento coronario²⁴³. Otro estudio llevado a cabo con 3.043 pacientes que presentaban angina estable, objetivó correlación directa con la incidencia de eventos coronarios agudos²⁴⁴.

1.3.6.10 Modificación farmacológica

Se ha objetivado disminución de niveles de PCR tras iniciar tratamiento con estatinas²⁴⁵, fibratos, así como tras tiazolidinedionas²⁴⁶

En análisis *a posteriori* se aprecia que la disminución de la placa de ateroma se relaciona con los descensos importantes de los niveles de la PCR²⁴⁷. Hay un estudio en la actualidad que verifica de forma prospectiva que la reducción farmacológica de los niveles de PCR se acompaña de una disminución en el riesgo de eventos cardiovasculares²⁴⁸.

Con todas estas evidencias disponibles, la Asociación Americana del Corazón (AHA) publicó en 2003⁹¹ unas recomendaciones que podemos resumir en los cuatro puntos siguientes: el mejor marcador disponible de inflamación en el proceso aterosclerótico es la PCR de alta sensibilidad (presentándose como predictor más potente de eventos cardiovasculares que el cLDL); la PCR se debe cuantificar mediante técnicas de alta sensibilidad, debiéndose descartar procesos infecciosos o inflamatorios si los niveles son superiores a 10 mg/L; los puntos de corte que definen bajo, medio y alto riesgo son <1mg/L, 1 a 3 mg/L y >3 mg/L; y la mayor evidencia (tipo B) de su utilidad es en sujetos de riesgo intermedio cardiovascular (del 10% al 20% en 10 años) en prevención primaria. Las guías de las Sociedades Europeas de Hipertensión y Cardiología (ESC/ESH) (2003) y la de la Sociedad Española de Hipertensión-Liga Española para la Lucha contra la Hipertensión Arterial (SEH-LELHA) (2005) consideran los niveles de PCR >1 mg/L como factor de riesgo cardiovascular a tener en cuenta en la estratificación del riesgo.

1.3.6.11 Estudios en LES

La producción de PCR está aumentada en el LES, aunque de forma ligera si lo comparamos con el aumento descrito en otras enfermedades autoinmunes. Históricamente, los valores de PCR elevados durante el brote en pacientes con LES sugerían infección sobreañadida²⁴⁹. Puesto que en estudios practicados en pacientes con LES se ha objetivado que el riesgo a 10 años de enfermedad coronaria está entre 10 y 20%²³, podría ser un buen marcador de riesgo vascular. En pacientes con LES, un estudio practicado determinando los valores de PCR describe que los niveles de PCR se asocian con factores de riesgo vascular (tales como peso corporal, HTA y apolipoproteína A-1)²⁵⁰, presentando correlación inversa con uso de fármacos antimaláricos²⁵⁰ y no se asocian a la actividad de la enfermedad²⁵⁰ ni a la afección de un órgano en concreto²⁵⁰. Karadag et al²⁵¹ valoraron a 22 mujeres con LES inactivo (SLEDAI <4) sin ningún factor de riesgo vascular tradicional y las compararon con 22 mujeres sanas. Encontraron que de todos los factores de riesgo valorados, los 2 grupos sólo se diferenciaron por valores de PCR más elevados en los pacientes con LES, que también

presentaron menor dilatación arterial mediada por flujo que el grupo control. Por otro lado, en diversos estudios practicados en pacientes con LES^{29, 52}, los niveles de PCR se asociaron a la presencia de placa focal carotídea. Sin embargo existe controversia, pues en otros estudios, entre ellos los de Doria et al⁶¹, Asanuma et al⁵¹ y Roman et al⁵⁰ no se encontró asociación entre aterosclerosis subclínica y valores de PCR, aunque presentaron valores mayores los pacientes con patología. Posiblemente se deba a que los grupos analizados presentaban características que neutralizaban los efectos (diferentes estados de actividad de la enfermedad intragrupo). En el estudio LUMINA, cuyo objetivo fue determinar los factores de riesgo basales en pacientes con LES asociados a presentar en el seguimiento prospectivo evento vascular agudo, los valores de PCR resultaron predictores independientes de episodio clínico cardiovascular³².

1.3.7 FACTOR VON WILLEBRAND (FvW)

1.3.7.1 *Concepto*

Es una glicoproteína de elevado peso molecular, producida por la pared vascular y por las plaquetas, útil como marcador de disfunción/daño endotelial difuso, en relación al desarrollo de evento agudo a través de incrementar la adhesión y agregación plaquetar.

Útil como predictor de evento coronario agudo tanto en personas sanas, como en pacientes con enfermedad coronaria conocida.

En pacientes con LES se han descrito valores más elevados que en personas sanas sin hallar clara relación con factores de la enfermedad.

1.3.7.2 *Función*

En el plasma el factor von Willebrand forma un complejo con el factor VIII de la coagulación, unión no covalente, esencial para la supervivencia del factor VIII, que permite la estabilización en el torrente circulatorio protegiéndolo de la inactivación proteolítica y potenciando su actividad como cofactor en la formación del coágulo. La otra función del factor von Willebrand en la fisiología de la hemostasia radica en la formación del tapón plaquetario en los sitios de daño endotelial (primer paso de la formación del trombo), donde la proteína unida al subendotelio expuesto forma un puente entre esta superficie y las plaquetas²⁵². El factor von Willebrand tiene receptores para el colágeno, plaquetas y actividad de ristocetina así como para los determinantes antigénicos inmunológicos. Su función radica en la adhesión de las plaquetas al colágeno y en la formación del coágulo hemostático. Parece ser un marcador de disfunción endotelial^{252, 253}, o de actividad endotelial (sin que esta sea secundaria a disfunción endotelial)²⁵⁴.

1.3.7.3 *Células productoras y origen de los niveles circulantes*

El FvW es producido principalmente por las células del endotelio vascular y también está contenido en las plaquetas²⁵². La proteína se secreta desde las células endoteliales de dos maneras: directamente a la luz endotelial y depositándose en el subendotelio vascular. El endotelio vascular es la principal fuente de factor von Willebrand plasmático, aunque en condiciones patológicas de activación plaquetar, las plaquetas pueden contribuir de forma significativa a los niveles de factor von Willebrand plasmáticos²⁵².

1.3.7.4 *Factores que influyen en los niveles solubles*

Se han determinado valores más elevados en pacientes con cirrosis, neoplasias, insuficiencia renal y diabetes²⁵². Los valores plasmáticos de factor Von Willebrand no se correlacionaron con parámetros lípidos, glicémicos ni antropométricos²⁵⁵.

1.3.7.5 *Estudios en placa aterosclerótica*

En aterogénesis experimental llevada a cabo en ratones, se ha objetivado que los depósitos subendoteliales de factor von Willebrand cuya síntesis se incrementa tras daño vascular, promueven la adhesión plaquetaria a la pared vascular²⁵⁶.

Los valores de factor von Willebrand no se han asociado a aterosclerosis subclínica²⁵⁷.

1.3.7.6 *Estudios en prevención primaria.*

Un estudio prospectivo objetivó niveles séricos de factor von Willebrand más elevados en aquellos pacientes que posteriormente presentaron un evento coronario agudo (625 hombres) que en aquéllos que no lo presentaron, manteniendo significación estadística tras ajuste por variables confusoras²⁵⁸. Estudios previos, no habían hallado asociación significativa tras el ajuste por variables confusoras, aunque sí en el análisis univariante^{259, 260}.

1.3.7.7 *Estudios en pacientes con enfermedad isquémica clínica*

Se han hallado niveles en plasma más elevados en pacientes con antecedentes de enfermedad coronaria y con enfermedad arterial periférica que en pacientes sanos¹⁵⁸. Cortellaro et al²⁶¹ sólo hallaron asociación con niveles plasmáticos más elevados de factor von Willebrand entre pacientes con infarto agudo de miocardio previo y angor previo, y no en pacientes con enfermedad arterial periférica. Folsom et al²⁶², en el estudio ARIC (*Atherosclerosis Risk in Communities*) observaron en 15.000 hombres y mujeres de entre 45 y 64 años que aquéllos con enfermedad cardiovascular presentaban niveles más

elevados de factor von Willebrand plasmáticos que los que no tenían enfermedad cardiovascular manifiesta.

1.3.7.8 *Síndrome coronario agudo*

Los síndromes coronarios agudos se asocian a un aumento de FvW, presentando un pico a los 3 ó 4 días después de un infarto agudo de miocardio y disminuyendo en el periodo postinfarto como parte del proceso de curación²⁶³.

1.3.7.9 *Estudios en prevención secundaria*

Jansson et al²⁶⁴ estudiaron a 123 pacientes supervivientes de un infarto agudo de miocardio, en los que determinaron valores plasmáticos de factor von Willebrand, y encontraron asociación independiente entre niveles elevados del mismo y reinfarcto. Otra cohorte de 1.212 pacientes mostró resultados similares²⁶⁵. En pacientes con angor pectoris, los niveles basales de factor von Willebrand son predictores independientes de síndromes coronarios agudos²⁴⁴.

1.3.7.10 *Estudios en LES*

Se han descrito niveles plasmáticos más elevados en la mayoría de enfermedades del tejido conectivo²⁶⁶. Estudios en pacientes con LES muestran valores más elevados de antígeno del factor von Willebrand (FvW:Ag) que en controles sanos²⁶⁷⁻²⁶⁹, sin hallar una clara asociación con actividad de enfermedad, parámetros de inflamación ni toma de corticoides²⁶⁷. Se han practicado estudios *in vitro* sometiendo células endoteliales a anticuerpos anti-dsDNA y objetivando liberación de factor von Willebrand²⁷⁰.

CAPÍTULO 2

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 HIPÓTESIS

El LES contribuye a acelerar el proceso aterosclerótico, por lo tanto los pacientes con aterosclerosis en fase de actividad lúpica presentan mayor actividad de la lesión aterosclerótica que durante la remisión.

2.2 OBJETIVOS

1. Cuantificar la actividad aterosclerótica mediante marcadores sanguíneos de aterosclerosis (perfil lipídico: colesterol total (CT), colesterol HDL (cHDL), colesterol LDL (cLDL), triglicéridos (TAG), cociente CT/cHDL y cociente cLDL/cHDL; y biomarcadores seleccionados: sVCAM-1, sICAM-1, sMPO, sCD40L, IL-6, PCR y FvW:Ag) en un mismo paciente, en dos estados diferentes de actividad de la enfermedad lúpica (brote y remisión).
2. Analizar si existen diferencias estadísticamente significativas de los valores de los marcadores sanguíneos seleccionados entre ambos estados de actividad de la enfermedad. Calcular el porcentaje de valores patológicos de los parámetros bioquímicos usados y evaluar diferencias estadísticas entre brote y remisión, y diferencias respecto a población sana.
3. Clasificar los pacientes en 2 grupos en función del riesgo de aterosclerosis coronaria.

4. Valorar los cambios ocurridos en los diferentes marcadores sanguíneos (valores absolutos y porcentaje de valores patológicos) entre el brote y la remisión en cada uno de los grupos de riesgo de aterosclerosis coronaria. Analizar si el comportamiento de los marcadores sanguíneos diverge en función del riesgo de aterosclerosis coronaria.

CAPÍTULO 3

MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 PACIENTES

De una serie de 510 pacientes diagnosticados de LES en el Servicio de Medicina Interna del Hospital General Vall d'Hebron, se han estudiado 54 pacientes (7 hombres y 47 mujeres) de forma consecutiva. El primer paciente fue reclutado el 26 de enero 2000 y el último el 25 de abril de 2007.

Todos ellos presentaron una situación de brote de la enfermedad y posteriormente consiguieron entrar en remisión; habiendo cumplido cuatro o más criterios para la clasificación de LES según el Colegio Americano de Reumatología de 1997¹⁴. Para calcular el índice de actividad de la enfermedad utilizamos el índice de SLEDAI²⁷², añadiendo una pequeña modificación que nuestro grupo aplica de forma sistemática: aquellos pacientes con recuento linfocitario inferior a $1.500 \times 10^6/L$, puntuaron 1 punto en la cuantificación de SLEDAI.

El brote fue definido como cualquier evento clínico directamente atribuible a la actividad de la enfermedad que requirió un cambio terapéutico (si dicho cambio terapéutico no había ocurrido todavía en cuanto a terapia inmunosupresora se refiere), consiguiendo puntuación de SLEDAI mayor o igual a 6²⁷³. En el momento del brote se extrajo muestra sanguínea para enviar para enviar al laboratorio de rutina de nuestro hospital así como para procesar en nuestro laboratorio.

Todos los pacientes de los que se llegó a disponer de muestra de brote fueron seguidos de forma periódica para detectar el estado de remisión. Cuando se detectó la remisión clínica, se extrajo muestra de sangre para enviar al laboratorio de rutina de nuestro hospital así como para procesar en nuestro laboratorio. Con los datos obtenidos, se calculó de nuevo el índice de SLEDAI. Consideramos que la muestra obtenida era la de remisión si la puntuación de SLEDAI era inferior o igual a 6 y a su vez dicha puntuación representaba por lo menos en 50% de disminución respecto a la puntuación obtenida en el brote.

Entonces, se procedió a la recogida de datos de la historia del paciente.

El consentimiento informado de los sujetos fue obtenido de acuerdo con la Declaración de Helsinki²⁷¹. El estudio fue aprobado por el Comité Ético del Instituto de Investigación Hospital Vall d'Hebron, Barcelona.

3.2 RECOGIDA DE MUESTRAS

Las muestras fueron obtenidas tras ayuno de por lo menos 6 horas. Se recogieron muestras por venopunción en tubos sin aditivos para obtención de suero y en tubos con EDTA como anticoagulante para obtención de plasma (Vacutainer). Los tubos fueron transportados a nuestro laboratorio con la mayor celeridad posible tras la extracción y centrifugados a 3.000 revoluciones por minuto durante 20 minutos a 21 grados centígrados, obteniéndose aproximadamente 10 mL de suero y 10 mL de plasma. Se alicuotaron tras centrifugación en tubos de plástico tipo eppendorf siendo conservados a -40 grados centígrados hasta su utilización.

3.3 RECOGIDA DE DATOS

Se procedió sistemáticamente a la revisión de la historia de cada uno de los pacientes y en alguna de las visitas se completó de forma específica la recogida de datos:

Datos epidemiológicos: sexo, fecha nacimiento, nivel de estudios, raza.

Factores de riesgo cardiovascular:

- **considerados no variables del brote a la remisión:** índice de masa corporal (a partir de peso y talla, aplicando la fórmula de Quetelet) y subclasificando a los pacientes en función del valor obtenido: <20: bajo peso,

≥20 y <25: normopeso, ≥25 y <30: sobrepeso, >30: obeso; valoración de la actividad física mediante el cuestionario de actividad física de Paffenbarger, considerando como vida sedentaria si <2000 Kcal/semana; estudio de hormonas tiroideas; nefropatía alguna vez en la vida. Tabaco alguna vez en la vida.

- **Valorados en brote y remisión:** edad (cálculo de la edad media de brote y remisión); hipertensión arterial (HTA), considerada si toma de fármacos hipotensores o presencia de cifras tensionales sistólicas ≥140 mmHg y/o diastólicas ≥90 mmHg; tabaquismo activo; diabetes mellitus, considerada si toma de antidiabéticos orales o cifras de glicemia en ayunas ≥126 mg/dL en por lo menos 2 ocasiones; cifras de colesterol total (CT) considerando patológico si >220 mg/dL y evaluando si >200 mg/dL; colesterol HDL (cHDL) considerando patológico si <40 mg/dL; colesterol LDL (cLDL) considerando patológico si >130 mg/dL; y triglicéridos (TAG) considerando patológicos si >200 mg/dL, también se ha considerado en un análisis valores >160 mg/dL. Se calculó el cociente colesterol total/cHDL, siendo patológico para hombres si >5 y para mujeres si >4,5 (este cociente tiene un poder predictivo de riesgo vascular mayor en las mujeres que en los hombres respecto al cociente cLDL/cHDL; varios estudios han señalado que este cociente colesterol total/cHDL es el parámetro lipídico con mayor poder predictivo de la presencia, gravedad y extensión de aterosclerosis coronaria en la mujer²⁷⁴). También calculamos el cociente colesterol cLDL/cHDL siendo patológico para hombres si >3,5 y para mujeres si >3. Se ha constatado que los valores altos de los cocientes se asocian a inflamación e inestabilidad de las placas de ateroma²⁷⁵ y que poseen un alto valor como predictores de cardiopatía isquémica en estudios epidemiológicos²⁷⁶. Cálculo del riesgo cardiovascular a partir de los datos obtenidos y aplicando el modelo Framingham-Regicor²⁷⁷ y el modelo Dorica²⁷⁸. Ambas son escalas de riesgo de Framingham calibradas para población de Gerona y para la población española respectivamente, donde se calcula el riesgo de presentar evento coronario agudo en los próximos 10 años en función del sexo, presencia de diabetes mellitus, edad, tabaco actual, valores sanguíneos de colesterol total, cifras de tensión arterial, reajustando por el valor de HDL; se estratifican los individuos en las categorías de bajo, ligero, moderado, alto y muy alto riesgo aquéllos con <5%, 5-9%, 10-19%, 20-29% y >30% respectivamente. Cálculo de función renal mediante la fórmula “*Modification of Diet in Renal Disease: MDRD*” en situación de remisión, considerándose insuficiencia renal a partir de MDRD

<60 mL/min/1,73m². Aquellos pacientes que ya presentaban desde hacía por lo menos 3 meses MDRD <60 mL/min/1,73m² se consideró que cumplían criterios de insuficiencia renal crónica. Menopausia o embarazo reciente (<3 meses).

Variables en relación al LES:

- **Generales:** fecha de diagnóstico del LES (cálculo de la edad, así como de la proporción de pacientes con edad de diagnóstico mayor a 34 años); positividad para anticuerpos anti-Sm, anti-RNP, anti-Ro, anti-La, anti-coagulante lúpico, anti-cardiolipina (si alguno de los 2 previos o los 2 resultaron positivos, consideramos paciente con anticuerpos antifosfolipídicos positivos); síndrome antifosfolipídico secundario; recibidas dosis de prednisona superiores a 10 mg/día durante más de 2 meses.
- **Recogidas para cada paciente en el brote y en la remisión:** fecha de extracción de la muestra sanguínea; cálculo de puntuación total de SLEDAI y puntuación por órganos afectados: neurológico, mucocutáneo (aftas, rash, vasculitis cutánea), aparato músculoesquelético (artritis, miositis), serositis (pleuritis, pericarditis), renal (creamos la variable nefropatía persistente: considerando a todos aquellos pacientes que habían presentado brote renal y que en el momento de la remisión presentaban proteinuria >1.000 mg/24 horas y/o aclaramiento de creatinina <60 mL/min/1,73 m²), vasculitis órganos internos, hallazgos analíticos y fiebre (considerándose si temperatura >38°C); cálculo de la variable: disminución SLEDAI <80% como variable dicotómica en cuanto a puntuación SLEDAI en remisión menor al 80% de la puntuación de SLEDAI obtenida durante el brote; parámetros de laboratorio: ratio de anticuerpos anti-dsDNA (valor de anti-dsDNA dividido entre el valor superior de la normalidad según el laboratorio), considerándolo patológico si superior a 1; leucocitos, células (céls) por litro, considerando leucopenia (de acuerdo con SLEDAI) si <3.000 x10⁶/L; linfocitos céls por litro, considerando linfopenia si <1.500 x10⁶/L; plaquetas, céls por litro, considerando plaquetopenia (de acuerdo con SLEDAI) si ≤100.000 x10⁶/L; valor de complemento C3, C4 y CH50, considerando hipocomplementemia para C3 si <85 mg/dL, para C4 si <10 mg/dL y para CH50 si <34 mg/dL; fibrinógeno, g/L, considerando como patológico valores >3,17 g/L; creatinina en mg/dL, siendo patológica en varones si >1,3 mg/dL y en mujeres si >1,1 mg/dL; proteinuria en mg/24horas, considerando como patológica si >500 mg/24 horas; fármacos en el momento de la extracción analítica: dosis de prednisona (mg/día), valorando si se había

indicado aumento de dosis de prednisona durante los días previos a la extracción de la muestra como inicio del tratamiento del brote (especificando haber o no recibido bolos de metilprednisolona); dosis acumulada de prednisona (mg totales) desde el diagnóstico del LES; tiempo total (en años) de uso de corticoides; cálculo de dosis media de prednisona a partir de los datos previamente recogidos (dosis acumulada/tiempo de uso de corticoides); fármacos inmunosupresores especificando las dosis de los mismos (cabe detallar que, aunque los corticoides son fármacos inmunosupresores, cuando en la presente tesis nos referimos a 'fármacos inmunosupresores' no incluimos los corticoides); antipalúdicos; cuantificación del índice de daño corporal de la SLICC/ACR.

- **Recogidas sólo en el brote:** fecha de diagnóstico clínico del brote, calculando el tiempo en días transcurrido entre ésta y la fecha de recogida de la muestra; tiempo de evolución (años) transcurrido desde el diagnóstico de la enfermedad y hasta la recogida de la muestra; número de brotes con SLEDAI mayor o igual a 6 (incluido el propio brote a estudio); clasificación del brote en severo (si clínica neurológica, vasculitis y/o proteinuria >1.000 mg/24h), moderado (si serositis, aparato músculoesquelético y/o proteinuria entre 500 y 1.000 mg/24h) o leve (afección mucocutánea, hallazgos analíticos o fiebre); tratamiento recibido durante el brote y hasta su estabilización.
- **Calculada sólo en remisión:** tiempo de evolución (días) transcurrido desde la extracción del brote y hasta la extracción de la muestra de remisión (se calculó el número de pacientes con tiempo superior a 550 días: año y medio).

3.4 CRITERIOS GRUPO RIESGO ATEROSCLEROSIS

Tras valorar todas las posibilidades de clasificación, finalmente optamos por aplicar como criterios de riesgo de aterosclerosis los dos identificados de forma consistente como diferenciales en la mayoría de estudios llevados a cabo en pacientes con LES en los que se comparaban factores de riesgo presentes en pacientes con coronariopatía clínica versus LES sin coronariopatía^{20, 21, 34, 45}. Estos dos factores de riesgo son hipercolesterolemia y mayor edad en el momento del diagnóstico. En los estudios previos, los criterios para considerar hipercolesterolemia no son homogéneos, siendo el valor menor considerado como punto de corte 200 mg/dL²⁰. En cuanto a la mayor edad en el momento del diagnóstico, en el estudio de Petri et al²⁰ describen 37,1 años en los pacientes con coronariopatía clínica versus 28,9 años en los pacientes sin ella; en el estudio de Manzi et

al²¹ reportan 39 años en los pacientes con coronariopatía clínica versus 34 años en los pacientes sin ella.

Consideramos hipercolesterolemia aquellos valores superiores a 200 mg/dL en remisión. Decidimos 200 mg/dL, en base a que era el valor inferior descrito en los estudios previamente mencionados y a que en un estudio prospectivo²³ valores de colesterol total persistentes superiores a 200 mg/dL predijeron futuros eventos cardiovasculares. En cuanto a la edad de diagnóstico, se tomó aquellos pacientes por encima del percentil 75 (equivalentes a >34 años) como criterio de mayor edad en el momento del diagnóstico.

Tuvimos en consideración, sin embargo otras alternativas que se exponen a continuación y que fuimos descartando de forma razonable:

Criterios clínicos: haber presentado o no un evento cardiovascular clínico. Descartado, pues ninguno de los 54 pacientes incluidos en el estudio sufrió dicho evento (finalización del seguimiento: 16 de julio de 2007).

Exploraciones complementarias para detectar aterosclerosis subclínica. Practicamos paralelamente un estudio valorando índice tobillo-brazo en pacientes con LES, observando en el grupo de pacientes con edad similar a nuestros pacientes de estudio ($31,1 \pm 12,4$ años) e incluyendo aquéllos a 2 desviaciones estándar (DE), resultados patológicos en sólo 2 pacientes de 62 estudiados (3,2%). Ante estos hallazgos, descartamos dicha determinación ante la baja probabilidad de encontrar sujetos patológicos y la dificultad que comportaría para el análisis estadístico.

Escalas de riesgo vascular: Regidor y Dorica. En nuestra población principalmente barcelonesa la escala que mejor se adaptaría sería el Regidor, pero no disponemos de estudios que validen que dicha escala sea útil para valorar aterosclerosis en pacientes con LES.

3.5 DETERMINACIÓN DE BIOMARCADORES SANGUÍNEOS

Todas las determinaciones, excepto la cuantificación de la proteína-C reactiva (PCR), se determinaron utilizando kits comerciales de ELISA (*Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay*). La PCR se determinó mediante test inmunturbidimétrico mediado por látex.

3.5.1 TECNICA DE ELISA

La técnica ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto (por ejemplo, un colorante) puede ser medido espectrofotométricamente. Este principio tiene muchas de las propiedades de un inmunoensayo ideal: es versátil, robusto, simple en su realización, emplea reactivos económicos y consigue, mediante el uso de la fase sólida, una separación fácil entre la fracción retenida y la fracción libre.

Existen diversos tipos de ensayos ELISA, siendo los más conocidos: ELISA directo (ensayo simple de 2 capas: antígeno y anticuerpo marcado contra antígeno); ELISA indirecto (3 capas: antígeno, anticuerpo contra antígeno (primario), y anticuerpo marcado (secundario) contra el anticuerpo primario), que tiene mayor sensibilidad; ELISA sándwich (3 capas: anticuerpo contra antígeno, antígeno, y anticuerpo marcado contra antígeno) que presenta mayor especificidad y sensibilidad.

Se han desarrollado múltiples variantes de ensayos ELISA que permiten desde la cuantificación de un antígeno en solución, la detección de un anticuerpo en una solución (por ej. en el clonaje de anticuerpos monoclonales), o incluso la determinación de la subclase (idiotipo) de un anticuerpo.

Además se han propuesto y desarrollado diferentes métodos de amplificación de la señal (luminiscentes, cascadas enzimáticas,...) que han permitido elevar la sensibilidad de algunos ELISA con respecto a la obtenida por radioinmunoensayo (RIA) hormonal.

3.5.1.1 ELISA SÁNDWICH

Los ELISA utilizados en la presente tesis doctoral se basaron en el test tipo sándwich. Se trata de un ensayo muy empleado en el que se recubre el pocillo con un primer anticuerpo que reconoce el antígeno que deseamos detectar (la unión de tal anticuerpo se lleva a cabo con facilidad sobre la superficie de plásticos tratados que tienen gran afinidad por proteínas). Después de lavar el exceso de anticuerpo no adherido al pocillo se aplica la muestra problema en la que se encuentra el antígeno, que será retenido en el pocillo al ser reconocido por el primer anticuerpo. Después de un segundo lavado que elimina el material no retenido se aplica una solución con un segundo anticuerpo marcado (conjugado generalmente con un enzima: peroxidasa, fosfatasa alcalina, etc.) y que reconoce al antígeno. Así pues, cada molécula de antígeno estará unida a un anticuerpo en la base que

lo retiene y a un segundo anticuerpo, al menos, que permitirá su detección. Seguidamente, se procede al revelado de la reacción enzimática. Después de un lavado para eliminar todas las moléculas marcadas no fijadas en forma de inmunocomplejos se añade el sustrato enzimático en solución. Se deja reaccionar y se lee la densidad óptica (D.O.) mediante espectrofotometría. Podemos entender este procedimiento con mayor claridad en la siguiente figura.

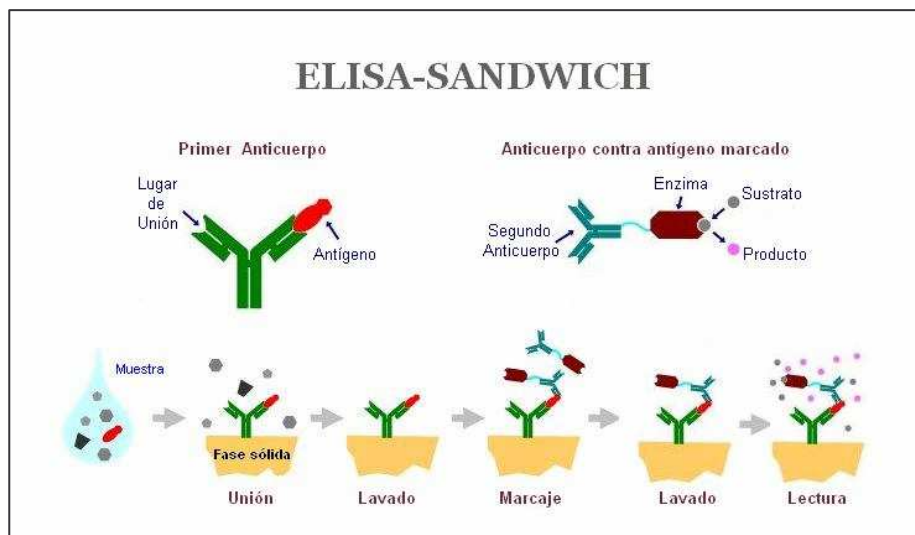


Figura 2 Esquematación de la técnica de ELISA tipo sándwich

Este ensayo tiene una gran especificidad, así como una alta sensibilidad debido a la amplificación de señal que permite el segundo anticuerpo. Es necesario incluir controles negativos, es decir, muestras en las que se tenga la certeza de la ausencia del antígeno buscado. Asimismo, se incluyen controles positivos (soluciones donde se encuentra el antígeno buscado, o bien a las que se les ha añadido) de concentraciones conocidas crecientes. Gracias a la curva efectuada con concentraciones del antígeno conocidas, las densidades ópticas se convierten en unidades de concentración.

3.5.1.2 DETERMINACION DE LOS DISTINTOS BIOMARCADORES

Para la determinación, fueron seguidas meticulosamente las instrucciones de la casa comercial, para cada uno de los kits.

Como fase sólida usamos microplacas de 96 pocillos de plástico tratado para aumentar la capacidad de absorción de moléculas y con fondos de pocillo ópticamente claros para poder realizar las medidas de densidad óptica en el lector de ELISA (Labsystems iEMS reader MF, Barcelona, España).

3.5.1.2.1 MOLECULA DE ADHESION VASCULAR-1 (VCAM-1)

Se determinó en suero la forma soluble de VCAM-1: sVCAM-1.

Kit comercial utilizado: 'Human sVCAM' suministrado por R&D systems (Minneapolis, Estados Unidos de América).

Tipo de ensayo: sándwich

Precisión del ensayo:

- Coeficiente de variación intra-ensayo: 3,1%
- Coeficiente de variación inter-ensayo: 7,0%
- Sensibilidad (dosis mínima detectable): 0,17-1,26 ng/mL (media= 0,6 ng/mL).

3.5.1.2.2 MOLECULA DE ADHESION INTERCELULAR-1 (ICAM-1)

Se determinó en suero la forma soluble de ICAM-1: sICAM-1.

Kit comercial utilizado: 'Human sICAM' suministrado por R&D systems (Minneapolis, Estados Unidos de América).

Tipo de ensayo: sándwich

Precisión del ensayo:

- Coeficiente de variación intra-ensayo: 4,4%
- Coeficiente de variación inter-ensayo: 7,4%
- Sensibilidad (dosis mínima detectable): 0,35 ng/mL

3.5.1.2.3 MIELOPEROXIDASA (MPO)

Se determinó en plasma la forma soluble de MPO: sMPO.

Kit utilizado: 'Myeloperoxidase ELISA Kit' de Calbiochem suministrado por VWR International EuroLab, SL.

Tipo de ensayo: sándwich

Precisión del ensayo:

- Coeficiente de variación intra-ensayo: 2,4%

- Coeficiente de variación inter-ensayo: <5%
- Sensibilidad (dosis mínima detectable): 1,5 ng/mL

Para validar el resultado de los niveles plasmáticos de mieloperoxidasa fue preciso comprobar la negatividad de anticuerpos antimieloperoxidasa en suero, pues según consta en las instrucciones del kit, la presencia de tales anticuerpos anti-MPO podría dar lugar a una sobreestimación de los valores de MPO.

Para la determinación de los anticuerpos antimieloperoxidasa se usó el kit 'MPO antibodies ELISA kit', de Genesis, diagnostics (Littleport, England). En este caso, se trataba de un ELISA directo.

3.5.1.2.4 CD 40 LIGANDO (CD40L): CD40L

Se determinó en suero la forma soluble de CD40L: sCD40L.

Kit comercial utilizado: 'Human sCD40 Ligand' suministrado por R&D systems (Minneapolis, Estados Unidos de América).

Tipo de ensayo: sándwich

Precisión del ensayo:

- Coeficiente de variación intra-ensayo: 5,0%
- Coeficiente de variación inter-ensayo: 6,2%
- Sensibilidad (dosis mínima detectable): 4,2 pg/mL

3.5.1.2.5 INTERLEUCINA-6 (IL-6)

Se determinó en suero.

Kit comercial utilizado: 'Human IL-6 Immunoassay' suministrado por R&D systems (Minneapolis, Estados Unidos de América).

Tipo de ensayo: sándwich

Precisión del ensayo:

- Coeficiente de variación intra-ensayo: 7,4%

- Coeficiente de variación inter-ensayo: 7,8%
- Sensibilidad (dosis mínima detectable): 0,016-0,110 pg/mL (media= 0,039 pg/mL).

3.5.1.2.6 ANTIGENO DEL FACTOR VON WILLEBRAND (FvW:Ag)

Se determinó en plasma recogido en un tubo EDTA como anticoagulante. El kit comercial utilizado especificaba el uso de citrato como anticoagulante. Para validar los resultados independientemente del anticoagulante utilizado testamos 11 pacientes sin encontrar diferencias entre las mismas muestras procesadas con los 2 anticoagulantes (coeficiente de variación 5%).

Kit comercial utilizado: 'von Willebrand Factor Antigen Assay' suministrado por Gradipore Ltd (Frenchs Forest NSW, Australia).

Tipo de ensayo: sándwich

Precisión del ensayo:

- Coeficiente de variación intra-ensayo: 11,0%
- Sensibilidad (dosis mínima detectable): 0,016-0,110 pg/mL (media= 0,039 pg/mL).

3.5.2 METODO INMUNOTURBIDIMÉTRICO CON LÁTEX

Para determinar la concentración de PCR se utilizó un test de inmunoturbidimetría procesado con látex y medido por un analizador automático (Olympus, AU5400, Alemania).

Cuando se pone en contacto la muestra con el látex al que se han fijado anticuerpos anti-PCR humanos, se produce la unión antígeno-anticuerpo, dando lugar a la formación de agregados insolubles. La absorbancia de estos agregados es proporcional a la concentración de PCR en la muestra. Se obtiene una curva de absorbancia-aglutinación y concentración de proteína a dosis conocidas y se extrapolan los resultados.

3.5.2.1.1 PROTEÍNA-C REACTIVA (PCR)

Se determinó en suero. Se utilizó un método comercial de inmunoturbidimetría procesado con látex y suministrado por Olympus (Alemania), en un analizador Olympus. Dicha técnica permite detectar tanto valores elevados como aquellos detectados con PCR de alta sensibilidad. Se trata de un método que permite una cuantificación de PCR de rango completo (0,2 a 480 mg/L).

3.6 VALORES CONTROL DEL LOS PARÁMETROS DE PERFIL LIPIDICO Y DE LOS BIOMARCADORES SANGUINEOS

3.6.1 PERFIL LIPIDICO

Adoptamos como valores normales en población sana los mismos límites utilizados por nuestro laboratorio, ya especificados en el apartado Recogida de datos de este mismo capítulo, y que repetimos para más claridad:

CT: ≤ 220 mg/dL

cHDL: ≥ 40 mg/dL

cLDL: < 130 mg/dL

TAG: ≤ 200 mg/dL

Con respecto a los valores de cocientes patológicos, aplicamos los propuestos por los propios autores del estudio de Framingham, redondeando las cifras²⁷⁹:

Cociente CT/cHDL: ≤ 5 en varones y $\leq 4,5$ en mujeres.

Cociente cLDL/cHDL; $\leq 3,5$ en varones y ≤ 3 en mujeres.

3.6.2 BIOMARCADORES SANGUINEOS

De todos los biomarcadores sanguíneos seleccionados en el presente estudio, solamente la determinación de PCR ha sido estandarizada de forma universal, existiendo y aceptándose valores de normalidad. Los puntos de corte que definen un bajo, medio y alto riesgo cardiovascular son: < 1 mg/L, 1 a 3 mg/L y > 3 mg/L respectivamente; y la mayor evidencia (tipo B) de su utilidad es en sujetos de riesgo intermedio cardiovascular (del 10% al 20% en 10 años) en prevención primaria. Las guías de las Sociedades Europeas de Hipertensión y Cardiología (ESC/ESH) (2003) y la de la Sociedad Española de Hipertensión y la Liga Española para la Lucha contra la Hipertensión Arterial (SEH-LELHA) (2005) consideran niveles de PCR > 1 mg/L como factor de riesgo cardiovascular. Así pues, en al presente tesis doctoral se consideraron como claramente patológicos aquellos valores de PCR > 3 mg/L, equivalente a 0,3mg/dL (unidades utilizadas en nuestras determinaciones).

Para el resto de biomarcadores no existe dicha estandarización por lo que para averiguar los valores de referencia se efectuó una revisión de la bibliografía publicada hasta el momento. Nuestra búsqueda se centró en estudios llevados a cabo con los mismos kits y con la misma muestra sanguínea (suero o plasma), en los que se hubieran obtenido muestras control de

personas sanas. Nuestra prioridad fue que el grupo control fuera de raza caucásica y de un país con riesgo vascular similar al de la población española. Para los kits de sMPO y FvW:Ag no fue posible encontrar ningún estudio realizado en un país con riesgo vascular similar al nuestro, por lo que aceptamos los resultados obtenidos con otros kits tras confirmar que los materiales aportados por los kits de las otras marcas comerciales eran idénticos a los que aportaba el kit utilizado en nuestro estudio. En la Tabla 1 se resumen los estudios desarrollados por diferentes autores que nos proporcionan los valores de normalidad aceptados en la presente tesis doctoral. Los valores fuera del rango de normalidad, en cuanto a biomarcadores sanguíneos se refiere, se han considerado no como valores patológicos sino como “valores elevados”.

3.7 VALORES DE NORMALIDAD Y PORCENTAJE ESPERADO EN POBLACIÓN SANA. CONSIDERACIONES.

Se ha considerado que la frecuencia relativa de aparición en población sana de los valores patológicos (de los que disponemos en las variables del perfil lipídico) y de los “valores elevados” en aquellos biomarcadores informados como media \pm DE es del 0,05 (suponemos error $\alpha = 0,05$ unilateral), mientras que para los “valores elevados” informados como mediana (RIQ) es del 0,25 (por encima del percentil 75 se encuentra un 25% de la población sana). Para sCD40L dispusimos sólo del percentil 97,5, por lo que un 0,025 de los valores en población sana estarán por encima de dicho percentil.

3.8 ESTUDIO ESTADISTICO

Las variables cualitativas se han expresado como números y porcentajes, y las variables cuantitativas como media \pm desviación estándar (DE) o, ante datos con distribución no normal, como medianas y entre paréntesis el rango intercuartílico (RIQ); bien sea indicando los valores de los percentiles 25 y 75 respectivamente, o el resultado de la operación percentil 75 menos percentil 25.

Para valorar diferencias entre los dos estados de la enfermedad (brote y remisión) usamos: para las variables cualitativas, prueba de McNemar; para evaluar variables continuas con distribución normal usamos la prueba t de Student para datos apareados y para las variables con distribución no normal la prueba de Wilcoxon para muestras apareadas.

Para el resto de comparaciones (muestras no apareadas), para valorar diferencias entre variables cualitativas se usó la prueba χ^2 y el test exacto de Fisher cuando ha sido apropiado; para las variables cuantitativas se usó la prueba de Student para muestras independientes (para las variables normales) y la prueba de Mann-Whitney (para las

variables no normales). Cuando se han comparado más de dos grupos en variables no normales se ha utilizado la prueba de Kruskal-Wallis y en variables normales ANOVA de un factor.

Para examinar la relación entre dos variables cuantitativas se usó la correlación de Spearman (si $n < 30$ o variables no normales) o correlación de Pearson ($n > 30$ y variables ambas normales). La correlación numérica estadística se ha confirmado visualmente mediante una gráfica.

En el estudio comparativo con la población sana (del perfil lipídico y de los biomarcadores) se ha calculado la frecuencia relativa de valores patológicos (perfil lipídico) y “valores elevados” (biomarcadores) para cada variable investigada con el IC 95% calculado mediante una tabla de distribución binomial en función del número de ensayos/número de aciertos. Si el IC 95% se ha localizado dentro de la frecuencia relativa esperada en población sana, se ha asumido igualdad de proporciones a la población sana para ese parámetro.

Para el estudio de sCD40L se realizó una regresión logística por pasos (método Forward:LR) para detectar aquellas variables que explicaban la variable dependiente “sCD40L en remisión mayor a brote”, incluyendo como covariables todas aquellas que habían resultado significativas en el análisis univariante.

La representación gráfica de los datos, en el capítulo 4, se ha llevado a cabo mediante boxplots o diagramas de caja en las variables de distribución no normal y scatterplot o diagrama de dispersión (con superposición de la barra de error de la media en algunas gráficas) en las variables de distribución normal.

Se consideraron significativos estadísticamente valores de p inferiores a 0,05 (bilateral). El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*), versión 12.0.

Tabla 1 Estudios desarrollados por diferentes autores que nos proporcionan los valores de normalidad aceptados en la presente tesis doctoral.

	Kit usado	Población	individuos (hombres/ mujeres)	Edad (años)	Valores de normalidad	Referencia bibliográfica
sVCAM-1	ELISA kit (R&D, Minneapolis, Minn., USA)	Trabajadores del Hospital Universitario Puerto del Mar (Cádiz, España)	25 (18/7)	55 (51-59)	570 (433-684) ng/mL	Girón-González J.A. et al ²⁸⁰
sICAM-1	ELISA kit (R&D, Minneapolis, Minn., USA)	Trabajadores del Hospital Universitario Puerto del Mar (Cádiz, España)	25 (18/7)	55 (51-59)	376 (254-459) ng/mL	Girón-González J.A. et al ²⁸⁰
sMPO	ELISA kit (Byoxitech® Oxis International, Inc.)**	Voluntarios del campus universitario de Atlanta (EEUU) todos de raza caucásica	30 (15/15)	27,3 ± 5,9	1,3 ± 0,4 ng/mL *	Shern-Brewer R. et al ²⁸¹
sCD40L	ELISA kit (R&D Systems)	Individuos que acudieron a urgencias de la Universidad de Hamburgo (Alemania) por dolor torácico sin evidencia de enfermedad cardiaca.	199 (¿?) [†]	¿? [†]	1.570 (4.700) pg/mL	Heeschen C. et al ¹⁸⁰
IL-6	ELISA kit (R&D Systems, Minneapolis, USA)	Controles sanos, sin factores de riesgo vascular, reclutados del departamento de medicina interna de la Universidad de Ulm (Alemania)	10 (10/0) ^{††}	34,7 ± 5,9	0,8 (0,3-1,5) pg/mL	Hetzel J. et al ²⁸²
FvW:Ag	Kit de ELISA de Movaco-Grifols DG-EIA vWF.)**	Sujetos sanos españoles	100		98,7 ± 22,2 UI/dL	Eduardo Arellano (departamento de hemostasia especial del Hospital Vall d'Hebron)

* Las medianas se han expresado como valor y entre paréntesis se expresa el rango intercuarílico; las medias como valor ± DE; a excepción del valor de normalidad de sCD40L que se expresa como media (percentil 97.5).

* Límite inferior/superior de normalidad (media ± 1,699 (α=0,05 unilateral con g.l.=29) x 0,4): 0,62/1,98 ng/mL.

**Este kit contiene los mismos reactivos que el kit ELISA usado en nuestro estudio; además tiene la misma sensibilidad, y los mismos rangos de normalidad por lo que lo podemos considerar equivalente.

† En la publicación sólo disponemos de los datos del total de pacientes que acudieron con dolor torácico, 626 pacientes: 465hombres/161mujeres, edad (años) 62 ± 12 años (hemos intentado contactar con los autores, sin conseguirlo). †† Cabe citar que no se han descrito diferencias en los valores de IL-6 en relación al sexo.²⁸³

CAPÍTULO 4

RESULTADOS

4.1 MUESTRA ESTUDIADA

De los 54 pacientes del estudio, se dispuso de muestra de suero en brote y remisión en 53 de ellos y de muestra de plasma en brote y remisión en 41.

A destacar que los 2 grupos de muestras (grupo suero constituido por 53 pacientes y grupo plasma constituido por 41 pacientes) no mostraron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los parámetros valorados, considerándose muestras homogéneas, exceptuando:

- relación entre los valores medios de los cocientes de CT/cHDL en situación de brote y remisión: en ambas muestras los valores en brote fueron mayores que en remisión, sin embargo sólo presentaron significación estadística en la muestra suero ($4,6 \pm 1,5$ versus $4,0 \pm 1,0$ $p=0,007$), no así en la muestra plasma ($4,4 \pm 1,5$ versus $4,0 \pm 1,1$ $p=0,079$).
- relación entre los valores de trigliceridemia brote y remisión; en ambas muestras los valores en brote resultaron mayores que en remisión, sin embargo sólo alcanzaron significación estadística los valores de la muestra suero (160,1 (93,3) versus 130,7 (65,4) mg/dL $p=0,040$), no así en la muestra plasma (157,1 (101,1) versus 133,0 (68,6) mg/dL $p=0,151$).

- los pacientes de la muestra plasma estaban tomando menos antipalúdicos en la situación de remisión que durante el brote (13 (31,7%) versus 22 (53,7%) pacientes $p=0,012$), no así los pacientes de la muestra suero (21 (39,6%) versus 26 (49,1%) pacientes $p=0,302$). Sin embargo, al valorar si en realidad en la situación de remisión las 2 muestras eran diferentes en cuanto a toma de antipalúdicos observamos que no existían diferencias estadísticamente significativas ($p=0,428$).

De un paciente se tomaron muestras en 2 brotes diferentes, ambos brotes renales, separados un año.

A continuación describimos los resultados con datos de la muestra suero (como ya se ha mencionado previamente, ambas muestras fueron homogéneas). Las características demográficas, clínicas y biológicas de la muestra suero se describen de forma detallada en las siguientes tablas:

- Tabla 2, resume las características demográficas y clínicas de los individuos (que no cambian en relación a la actividad de la enfermedad).
- Tabla 3, resume las características de la aterosclerosis determinadas en brote y remisión. No se ha especificado el parámetro diabetes mellitus, pues ningún paciente presentó diabetes mellitus.
- Tabla 4, tabla 5, Tabla 6, Tabla 7 y Tabla 8 resumen las variables en relación a la enfermedad lúpica.

En cuanto a la raza, la mayoría de ellos eran caucásicos (46), siendo el resto: latinoamericanos (5), gitano (1) y árabe (1). Ninguno de ellos tenía historia de enfermedad aterosclerótica clínica (angor pectoris, infarto agudo de miocardio, enfermedad arterial periférica ni ictus) ni la presentó durante el seguimiento.

En la Tabla 2 observamos que se trató de una muestra mayoritariamente femenina, con una relación mujer/hombre que se acerca a la proporción de afección por LES en la población 9/1. La raza predominante fue la caucásica. En cuanto al nivel de estudios, un 37,7% de los pacientes tenía sólo educación general básica, el 34% había cursado título formativo de grado medio y el 28,3 restante, título formativo de grado superior. Con edad media entre brote y remisión de 31,1 años, edad de diagnóstico de la enfermedad alrededor de los 25 años (observando en un 24,5% edad en el diagnóstico >34 años). La mayor proporción de pacientes (35,8%) presentaban normopeso y sólo un 24,5% eran sedentarios. Un 41,5% habían fumado alguna vez en la vida. Un 11,3% de los pacientes eran hipotiroideos y un

13% de las mujeres eran menopáusicas. Un gran porcentaje de pacientes (75,5%) habían recibido alguna vez en su vida dosis de prednisona superiores a 10 mg/día durante más de dos meses. Sólo un 11,3% de los pacientes tenía anticuerpos anti-La mientras que un 20,8% los tenía anti-Ro y un 22,6% anti-Sm y antifosfolipídicos. Sólo dos pacientes presentaron síndrome antifosfolipídico (3,7%). El 6,4% presentaba anticuerpos anti-RNP.

Tabla 2 Características demográficas y clínicas (sin cambios en relación a la actividad de la enfermedad) de los pacientes estudiados.

PARÁMETROS	
Sexo femenino, n (%)	46 (87,1)
Raza caucásica, n (%)	46 (87,1)
Nivel de estudios, n (%)	
Educación general básica	20 (37,7)
Título formativo de grado medio	18 (34,0)
Título formativo de grado superior	15 (28,3)
Edad de diagnóstico (años), media ± DE	25,6 ± 11,0
Edad de diagnóstico >34 años, n (%)	13 (24,5)
Edad media (brote/remisión)*, media ± DE	31,1 ± 12,4
Índice de masa corporal (kg/m²), media ± DE	25,2 ± 6,1
Bajo peso (<20 kg/m²), n (%)	8 (15,1)
Normopeso (≥20 a <25 kg/m²), n (%)	19 (35,8)
Sobrepeso (≥25 a <30 kg/m²), n (%)	16 (30,2)
Obeso (≥30 kg/m²), n (%)	10 (18,9)
Ejercicio (Kcal/semana), media ± DE	4.663 ± 4.164
Vida sedentaria (<2.000 kcal/semana), n (%)	13 (24,5)
Tabaco alguna vez en la vida, n (%)	22 (41,5)
Hipotiroidismo, n (%)	6 (11,3)
Menopausia, n (%)	6 (13,0)
Prednisona >10mg/día*, n (%)	40 (75,5)
Anticuerpos Anti-Sm, n (%)	12 (22,6)
Anticuerpos anti-RNP, n (%)	14 (26,4)
Anticuerpos anti-Ro, n (%)	11 (20,8)
Anticuerpos anti-La, n (%)	6 (11,3)
Anticuerpos Antifosfolipídicos*, n (%)	12 (22,6)

*Edad media: cálculo de edad media entre el brote y la remisión; prednisona >10 mg/día: recibidos más de 10 mg/día de prednisona durante más de 2 meses en cualquier momento de la enfermedad; anticuerpos antifosfolipídicos: positividad para anticuerpos anticardiolipina y/o anticoagulante lúpico.

Tabla 3 Características de la aterosclerosis, diferencias entre brote y remisión.

PARAMETROS	Brote	Remisión	Valor de p
Tabaco actual, n (%)	14 (26,4)	7 (13,2)	0,039
Hipertensión (tratamiento o $\geq 140/90$), n(%)	16 (30,2)	18 (34,0)	0,754
MDRD <60 mL/min/1,73m ² , n (%)	8 (15,1)	11 (20,8)	0,375
Colesterol total (CT) (mg/dL), media \pm DE	209,1 \pm 51,6	198,8 \pm 41,8	0,123
CT patológico (>220 mg/dL), n (%)	17 (33,3)	12 (22,6)	0,302
CT >200 mg/dL, n (%)		24 (45,3)	
Cociente CT/cHDL, media \pm DE	4,6 \pm 1,5	4,0 \pm 1,0	0,007
Cociente CT/cHDL patológico*, n (%)	20 (40,8)	13 (25,0)	0,210
Trigliceridemia (mg/dL), media \pm DE	160,1 (93,3)	130,7 (65,4)	0,040
Hipertrigliceridemia (>200 mg/dL), n (%)	11 (22,0)	5 (10,0)	0,109
Regicor, media \pm DE	1,8 \pm 1,0	1,7 \pm 1,0	0,912
Dorica, media \pm DE	1,8 \pm 1,5	1,9 \pm 1,6	0,933

* Cociente CT/cHDL patológico: >5 en hombres y $>4,5$ en mujeres

En cuanto a las características de las variables en relación a aterosclerosis y sus diferencias entre el brote y la remisión (Tabla 3), cabe destacar que la proporción de pacientes en remisión fumadora disminuyó de forma estadísticamente significativa del 26,4% en brote a 13,2% en remisión; así como el cociente CT/cHDL de $4,6 \pm 1,5$ versus $4,0 \pm 1,0$ y los valores de triglicéridos (160,1 (93,3) versus 130,7 (65,4) mg/dL), aunque no la proporción de valores patológicos para CT/cHDL (40,8%) ni para TAG (22,0%). No se objetivaron cambios en el porcentaje de pacientes entre el brote y la remisión en HTA (30,2%), MDRD <60 mL/min/1,73m² (15,1%), cifras medias de colesterol total (209,1 mg/dL \pm 51,6), CT patológico (>220 mg/dL) (33,3%), puntuación de Regicor media ($1,8 \pm 1,0$) ni puntuación de Dorica ($1,8 \pm 1,5$). Un 45,3% de los pacientes presentó en remisión valores de CT >200 mg/dL.

En la Tabla 4 objetivamos que el tiempo medio de evolución desde el diagnóstico y hasta el momento de la extracción de la muestra del brote fue de $5,4 \pm 5,3$ años y hasta el momento de la extracción de la muestra de remisión de $6,7 \pm 5,4$ años. Los días transcurridos entre brote y remisión fueron 219,0 (655), presentando un 30,2% de los pacientes tiempo superior a 550 días entre ambos momentos. El tiempo mínimo entre el brote y la remisión fue de 29 días y el máximo de 1877 días.

Como mediana habían presentado 3,0 (3) brotes previos. Siendo la puntuación de SLICC en brote de 0,0 (0), con un 18,9% de pacientes en brote con puntuaciones de SLICC superiores a 0. Los pacientes en brote presentaron un SLEDAI en brote de $14,3 \pm 5,7$ mucho mayor que

SLEDAI en remisión de $2,6 \pm 1,8$. Un 41,5% de los pacientes sufrió una disminución de SLEDAI en remisión inferior al 80% de la puntuación de SLEDAI obtenida durante el brote.

Tabla 4 Variables clínicas en relación al LES.

PARAMETROS	Brote	Remisión	Valor de p
Ti* evolución desde el diagnóstico (años), media \pm DE	5,4 \pm 5,3		
Ti* evolución desde el diagnóstico (años), media \pm DE		6,7 \pm 5,4	
Ti* evolución desde el brote (días), mediana (RIQ)		219,0 (655)	
Tiempo de evolución desde el brote > 550 días, n (%)		16 (30,2)	
Brotos previos*, mediana (RIQ)	3,0 (3)		
SLICC, mediana (RIQ)	0,0 (0)	0,0 (1)	0,317
SLICC >0, n (%)	10 (18,9)	13 (24,5)	0,250
SLEDAI, media \pm DE	14,3 \pm 5,7	2,6 \pm 1,8	<0,001
Disminución de SLEDAI <80%*, n (%)		22 (41,5)	

*Ti: tiempo; brotes previos: considerado cualquier brote presentado con SLEDAI \geq 6, incluyendo el actual; disminución de SLEDAI <80%: disminución en la puntuación de SLEDAI en la remisión <80% de la puntuación de SLEDAI obtenida durante el brote.

Tabla 5 Hallazgos de laboratorio.

PARAMETROS ANALÍTICOS	Brote	Remisión	Valor de p
Leucopenia*, n (%)	4 (7,5)	1 (1,9)	0,375
Linfopenia*, n (%)	28 (52,8)	21 (39,6)	0,167
Trombopenia*, n (%)	3 (5,7)	0 (0,0)	<0,001
Ratio anticuerpos anti-dsDNA*, mediana (RIQ)	5,6 (19,0)	3,6 (9,3)	0,002
Anticuerpos Anti-dsDNA patológicos*, n (%)	44 (86,3)	39 (76,5)	0,180
Hipocomplementemia C3*, n (%)	31 (58,5)	11 (20,8)	<0,001
Hipocomplementemia C4*, n (%)	27 (50,9)	11 (20,8)	<0,001
Actividad baja de CH ₅₀ *, n (%)	27 (61,4)	10 (19,6)	<0,001
Hiperfibrinogenemia*, n (%)	40 (75,5)	39 (73,6)	1,000
Proteinuria patológica*, n (%)	33 (62,3)	11 (21,8)	<0,001

*Leucopenia: $<3.000 \times 10^9/L$; linfopenia: $<1.500 \times 10^6/L$; trombopenia: $<100.000 \times 10^9/L$; ratio anticuerpos anti-dsDNA: valor del paciente dividido entre el valor límite superior de la normalidad; anticuerpos anti-dsDNA patológicos (por técnica de ELISA): >15 UI/ mL o >300 UI/mL; hipocomplementemia C3: <85 mg/dL; hipocomplementemia C4: <10 mg/dL; actividad baja de CH₅₀: <34 U/mL; hiperfibrinogenemia: $>3,17$ g/L; cretinina patológica: en mujeres $>1,1$ mg/dL y en hombres $>1,3$ mg/dL; proteinuria patológica: > 500 mg/24 horas.

En la Tabla 5 objetivamos que la linfopenia fue la penia hematológica más frecuente (52,8%), seguida por la leucopenia (7,5%) y finalmente trombopenia (5,7%). De las tres, la única que presentó diferencias entre brote y remisión fue la trombopenia, con ningún paciente trombopénico en remisión.

Los pacientes durante el brote presentaron medianas de ratio de anticuerpos anti-dsDNA superiores a las de remisión (5,6 (19,0) versus 3,6 (9,3)); sin embargo, no hubo mayor porcentaje de valores patológicos en brote respecto a la remisión (86,3%).

Un mayor porcentaje de pacientes presentó durante el brote proteinuria patológica (62,3%) e hipocomplementemia C3 (58,5%), C4 (50,9%), CH₅₀ (61,4%) que durante la remisión, siendo respectivamente para proteinuria patológica (21,8%), para C3 y C4 (20,8%) y para CH₅₀ (19,6%).

No hubo mayor porcentaje de pacientes con hiperfibrinogenemia en brote que en remisión, siendo del 75,5% en brote.

Tabla 6 Órgano afectado clínica o analíticamente.

Clínica por órganos afectados	Brote	Remisión
Renal, n (%)	34 (64,2)	6 (11,3)
Neurológica, n (%)	2 (3,8)	0 (0,0)
Músculoesquelética (artritis o miositis), n (%)	26 (49,1)	0 (0,0)
Serositis, n (%)	10 (18,9)	0 (0,0)
Mucocutánea, n (%)	23 (43,4)	1 (1,9)
Gravedad del brote*, n (%)		
Severo	27 (50,9)	
Moderado	25 (47,2)	
Leve	1 (1,9)	

*Gravedad del brote: severo (si clínica neurológica, vasculitis y/o proteinuria >1.000 mg/24h), moderado (si serositis, aparato músculoesquelético y/o proteinuria entre 500 y 1.000 mg/24h) o leve (afección mucocutánea, hallazgos analíticos o fiebre).

Observamos en la Tabla 6 que la mayoría de pacientes presentó durante el brote afectación renal (64,2%), seguidos por afectación músculoesquelética (49,1%) y mucocutánea (43,4%). Sólo un 3,8% de los pacientes mostró clínica neurológica y un 18,9% serositis. Un solo paciente presentó un brote leve, tratándose el resto de brotes severos (50,9%) o moderados (47,2%).

En la Tabla 7 se observa que sólo un 9,4% de los pacientes en el momento del brote no estaba bajo ningún tratamiento farmacológico inmunosupresor o corticoideo, disminuyendo este porcentaje hasta 0,0% en remisión. Un 41,5% había iniciado en el momento de

extracción de la muestra del brote tratamiento del mismo en forma de aumento de dosis o introducción de tratamiento corticoideo. La mediana de dosis de prednisona en el momento del brote fue mayor a la de remisión (7,5 (17,5) versus 5,0 (2,5) mg/día). Recibiendo en brote un 32,1% de los pacientes dosis superiores a 15 mg/día, mientras que en remisión sólo un 3,8%. Las dosis acumuladas de prednisona fueron de 10.027 (25.091) mg en brote y de 17.036 (26.176) mg en remisión. El tiempo de uso de corticoides en años hasta el brote fue de $4,2 \pm 4,7$ y hasta la remisión de $5,4 \pm 4,8$, resultando unas dosis medias diarias acumuladas de prednisona de 8,1 mg/día (8,9) hasta el momento del brote y de 12,2 mg/día (12,4) hasta la remisión.

Tabla 7 Tratamiento en el momento de la extracción de la muestra.

Tratamiento en el momento de la extracción de la muestra	Brote	Remisión	Valor de p
Ningún fármaco inmunosupresor o corticoideo, n (%)	5 (9,4)	0 (0,0)	<0,001
Iniciado tratamiento del brote*, n (%)	22 (41,5)		
Dosis de prednisona (mg/día)*, mediana (RIQ)	7,5 (17,5)	5,0 (2,5)	<0,001
Dosis de prednisona >15 mg/día, n (%)	17 (32,1)	2 (3,8)	<0,001
Dosis acumulada de prednisona desde el diagnóstico (mg), mediana (RIQ)	10.027 (25.091)		
Dosis acumulada de prednisona desde el diagnóstico (mg), mediana (RIQ)		17.036 (26.176)	
Ti* de uso de corticoides (años), media \pm DE	4,2 \pm 4,7		
Ti* de uso de corticoides (años), media \pm DE		5,4 \pm 4,8	
Dosis media diaria acumulada de prednisona (mg/día) desde el diagnóstico, mediana (RIQ)	8,1 (8,9)		
Dosis media diaria acumulada de prednisona (mg/día) desde el diagnóstico, mediana (RIQ)		12,2 (12,4)	
Antipalúdicos, n (%)	26 (49,1)	21 (39,6)	0,302
Fármacos Inmunosupresores*, n (%)	18 (34,0)	42 (79,2)	<0,001
Metotrexato/leflunomida, n (%)	5 (9,4)	8 (15,1)	0,581
Ciclosporina/tacrolimus, n (%)	4 (7,5)	13 (24,5)	0,004
Micofenolato/azatioprina, n (%)	9 (17,0)	32 (60,4)	<0,001
Ciclofosfamida, n (%)	0 (0,0)	1 (1,9)	<0,001

*Iniciado tratamiento del brote: muestra tomada tras haberse producido un aumento o inicio de tratamiento corticoideo (no se admitió ningún paciente en el que se hubiesen modificado/iniciado fármacos inmunosupresores); dosis de prednisona: dosis de prednisona en mg/día tomada por el paciente en el momento de extracción de la muestra; t: tiempo; fármacos inmunosupresores: algún paciente estaba tomando más de un fármaco simultáneamente.

No hubo diferencias entre la proporción de pacientes en tratamiento con antipalúdicos (49,1%) ni con metotrexato/leflunomida (9,4%) en brote y remisión. Sin embargo, un mayor porcentaje de pacientes en remisión estaba bajo tratamiento inmunosupresor (79,2%) versus en brote (34%), a expensas de mayor proporción de pacientes en tratamiento con ciclosporina/tacrolimus (24,5% versus 7,5%), con micofenolato/azatioprina (60,4% versus 17%) y con ciclofosfamida (1,9% versus 0%).

En la Tabla 8 se muestra que la mayoría de pacientes recibió, para tratamiento del brote, bolos de prednisona (53,7%), así como micofenolato (57,4%). Los antipalúdicos fueron utilizados en el 37% de los pacientes. Tacrolimus fue administrado en el 22,2% de los pacientes y azatioprina en el 18,5%. El resto de fármacos se administró en menos del 10% de los pacientes.

Tabla 8 Tratamiento del brote.

Tratamiento del brote (varios pacientes recibieron diversos fármacos)	
Bolos de metilprednisona 1g *3días, n (%)	29 (53,7)
Dosis de prednisona hasta conseguir enfermedad estable (mg), mediana (RIQ)	4.530 (4.474)
Talidomida, n (%)	1 (1,9)
Antipalúdicos, n (%)	20 (37,0)
Metotrexate, n (%)	5 (9,3)
Leflunomida n (%)	5 (9,3)
Ciclosporina, n (%)	3 (5,6)
Tacrolimus, n (%)	12 (22,2)
Micofenolato, n (%)	31 (57,4)
Azatioprina n (%)	10 (18,5)
Ciclofosfamida	4 (7,4)
Plasmaféresis	1 (1,9)

4.2 PERFIL LIPÍDICO. COMPORTAMIENTO EN BROTE Y REMISIÓN

4.2.1 ANALISIS GLOBAL

Analizamos los valores que adoptaron los parámetros seleccionados para valorar lipidemia tanto en situación de brote como en remisión. Estos resultados se detallan en la Tabla 9. Detectamos valores mayores en brote que en remisión de forma estadísticamente significativa para el cociente CT/cHDL (Figura 3) y el cociente cLDL/cHDL (Figura 4).

Tabla 9 Perfil lipídico, valores de los parámetros usados para describirlo y diferencias entre brote y remisión.

PERFIL LIPIDICO	Brote	Remisión	Valor de <i>p</i>
CT (mg/dL), media ± DE	208,3 ± 51,4	197,8 ± 41,9	0,110
cHDL (mg/dL), media ± DE	50,7 ± 17,9	53,1 ± 16,1	0,284
cLDL (mg/dL), media ± DE	128,5 ± 46,2	121,4 ± 32,9	0,212
TAG (mg/dL), mediana (RIQ)	130,0 (90,0)	118,0 (69,0)	0,097
Cociente CT/cHDL, media ± DE	4,5 ± 1,5	3,9 ± 1,0	0,007
Cociente cLDL/cHDL, media ± DE	2,7 ± 1,1	2,4 ± 0,8	0,038

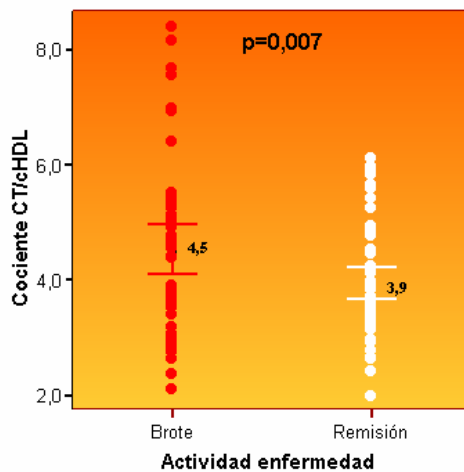


Figura 3 Valores de cociente CT/cHDL en relación a la actividad de la enfermedad. Observamos que en brote los pacientes presentaron valores más elevados que en remisión. Las barras de error localizan la media y el IC95% de la media (en base al error estándar de la media).

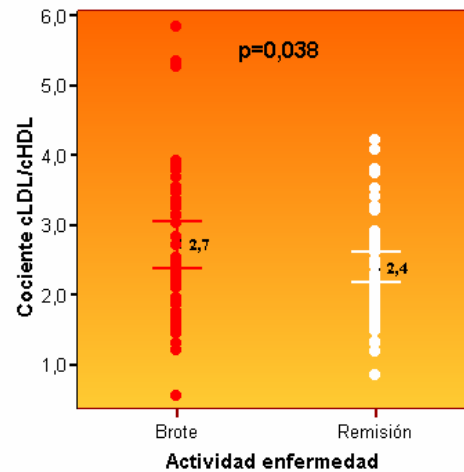


Figura 4 Valores de cociente cLDL/cHDL en relación a la actividad de la enfermedad. Observamos que en brote los pacientes presentaron valores más elevados que en remisión. Las barras de error localizan la media y el IC95% de la media (en base al error estándar de la media).

4.2.1.1 INFLUENCIA DE LA NEFROPATIA

Cuando analizamos los pacientes en 2 subgrupos, en función de presentar o no brote renal encontramos que desaparecían las diferencias estadísticamente significativas en el subgrupo de no brote renal, persistiendo sólo significación estadística para la variable cociente CT/cHDL siendo en brote 4,7 mg/dL ± 1,4 y en remisión 4,2 mg/dL ± 1,1 con $p=0,031$. Al subdividir el grupo brote renal en función de sufrir o no nefropatía persistente objetivamos

que sólo los pacientes con brote renal y sin nefropatía persistente fueron los que presentaron diferencias estadísticamente significativas en valores de brote y remisión para las variables cociente CT/cHDL ($4,7 \pm 1,6$ versus $3,8 \pm 0,9$ mg/dL $p=0,005$) y cociente cLDL/cHDL ($2,9 \pm 1,2$ versus $2,3 \pm 0,7$ mg/dL $p=0,015$).

4.2.1.2 INFLUENCIA DE LOS CORTICOIDES

Cuando analizamos los pacientes en 2 subgrupos, en función de estar recibiendo o no en el momento de la extracción analítica del brote dosis superiores a 10 mg/día de prednisona, encontramos que en el subgrupo recibiendo dosis inferiores o iguales a 10 mg/día de prednisona desaparecían las diferencias estadísticamente significativas, persistiendo en el subgrupo que estaba recibiendo dosis superiores a 10 mg/día de prednisona para las variables cociente CT/cHDL ($4,9 \pm 1,6$ versus $4,1 \pm 0,9$ mg/dL $p=0,024$) y cociente cLDL/cHDL ($3,0 \pm 0,9$ versus $2,5 \pm 0,7$ mg/dL $p=0,041$) y presentando también significación estadística CT ($220,7 \pm 60,4$ versus $197,5 \pm 36,0$ mg/dL $p=0,034$) y TAG ($161,0$ (118) versus $101,0$ (94) mg/dL $p=0,011$).

4.2.1.3 INFLUENCIA DE LA SIMULTANEIDAD DE LOS CORTICOIDES CON ANTIPALUDICOS

Al subdividir el grupo que estaba recibiendo dosis superiores a 10 mg/día de prednisona durante el brote, en función de estar recibiendo también antipalúdicos, objetivamos que sólo los pacientes con dosis de prednisona en brote superiores a 10 mg/día y que no recibían paralelamente antipalúdicos fueron los que presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de brote y remisión para todas las variables previas: cociente CT/cHDL ($5,3 \pm 1,7$ versus $4,4 \pm 1,2$ mg/dL $p=0,027$), cociente cLDL/cHDL ($3,0 \pm 0,9$ versus $2,7 \pm 0,7$ mg/dL $p=0,045$), CT ($212,6 \pm 32,4$ versus $188,1 \pm 28,2$ mg/dL $p=0,035$) y TAG ($199,5$ (238) versus $122,5$ (116) mg/dL $p=0,036$). Los valores que presentaron los pacientes en función de tratamiento con dosis mayores o menores o iguales a 10 mg/día se muestran en la Tabla 10.

En la Tabla 10 observamos en brote valores menores para todos los parámetros en el grupo con dosis de prednisona ≤ 10 mg/día que los grupos con >10 mg/día; a su vez, para todas las variables excepto CT estos valores fueron también menores en el grupo en tratamiento antipalúdico que en el que no lo llevaba. Sólo existieron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de TAG ($p=0,016$), objetivando que los grupos diferentes estadísticamente fueron dosis de prednisona ≤ 10 mg/día y dosis de prednisona >10 mg/día

Tabla 10 Parámetros lipídicos en función de dosis de prednisona en el momento de la extracción analítica del brote y simultaneidad de tratamiento con antipalúdicos.

PARAMETROS	Dosis prednisona ≤ 10 mg/día	Dosis prednisona >10 mg/día	
		Antipalúdicos	No antipalúdicos
CT (mg/dL), media \pm DE			
Brote	199,9 \pm 43,4	225,6 \pm 73,5	212,6 \pm 32,4
Remisión	198,0 \pm 46,1	203,3 \pm 40,0	188,1 \pm 28,2
TAG (mg/dL), mediana (RIQ)			
Brote	110,0 (76,0)	156,0 (86,0)	199,5 (238,0)
Remisión	119,5 (67,0)	96,0 (84,0)	122,5 (116,0)
Cociente CT/cHDL, media \pm DE			
Brote	4,3 \pm 1,5	4,8 \pm 1,5	5,3 \pm 1,7
Remisión	3,9 \pm 1,1	3,9 \pm 0,8	4,4 \pm 1,2
Cociente cLDL/cHDL, media \pm DE			
Brote	2,5 \pm 1,1	2,9 \pm 1,0	3,0 \pm 0,9
Remisión	2,3 \pm 0,8	2,5 \pm 0,8	2,7 \pm 0,7

no recibiendo simultáneamente tratamiento antipalúdico ($p=0,009$) y rozando la significación estadística los 2 grupos con dosis >10 mg/día ($p=0,096$).

4.2.1.4 ASOCIACION ENTRE NEFROPATIA Y DOSIS DE PREDNISONA

Ante los resultados de los subgrupos analizados, quisimos averiguar si las variables brote renal y dosis de prednisona >10 mg/día se hallaban asociadas, observando entre todos los pacientes con brote renal que un 63,6% (21/33) tomaban dosis de prednisona ≤ 10 mg/día y un 61,9% (13/21) dosis de prednisona >10 mg/día, porcentajes que no diferían estadísticamente ($p=0,898$).

4.2.2 ANALISIS DE LOS VALORES PATOLOGICOS

4.2.2.1 VALORES PATOLÓGICOS EN BROTE Y REMISIÓN

Cuando analizamos si existían diferencias estadísticamente significativas entre los valores patológicos en brote y remisión de los parámetros usados para valorar perfil lipídico obtuvimos que sólo el cociente cLDL/cHDL mostró mayor porcentaje de valores patológicos en brote que en remisión (Tabla 11). Para el resto de parámetros usados para valorar perfil lipídico no se observaron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 11 Porcentaje de valores patológicos de los parámetros bioquímicos de perfil lipídico en relación a diferencias entre brote y remisión.

PERFIL LIPIDICO, valores patológicos	Brote	Remisión	Valor de <i>p</i>
CT >220,0 mg/dL, n (%)	17 (32,7)	12 (23,1)	0,302
cHDL <40,0 mg/dL, n (%)	15 (30,6)	10 (20,4)	0,125
cLDL ≥130,0 mg/dL, n (%)	21 (43,8)	17 (35,4)	0,424
TAG >220,0 mg/dL, n (%)	11 (21,6)	5 (9,8)	0,109
Cociente CT/cHDL*, n (%)	19 (38,8)	13 (26,5)	0,210
Cociente cLDL/cHDL*, n (%)	15 (33,3)	8 (17,8)	0,039

*Cociente CT/cHDL patológico: >5 en hombres y >4,5 en mujeres; cociente cLDL/cHDL patológico: >3,5 en hombres y >3 en mujeres

4.2.2.2 VALORES PATOLÓGICOS RESPECTO A LA POBLACION SANA

Para evaluar el porcentaje de valores patológicos obtenidos en nuestros pacientes respecto al esperado en población sana, creamos la Figura 5. En ella observamos la proporción de pacientes con valores anormales de las diferentes variables que valoran el perfil lipídico. Las líneas verticales representan la proporción de valores anormales esperados en población sana. Las líneas horizontales representan los IC del 95% con el punto grueso marcando el porcentaje obtenido en nuestros pacientes, en brote (línea continua) y en remisión (línea discontinua). Esta figura pone en evidencia que nuestros pacientes presentaron tanto en brote como en remisión una proporción superior a la esperada en población sana de valores de: CT, cHDL, cLDL, de cociente CT/cLDL y cociente cLDL/cHDL; y sólo durante el brote de TAG, puesto que en ésta última, en remisión la línea del IC del 95% es cruzada por la línea vertical que muestra la proporción esperada en población sana (0,0943, IC 95% 0,0313-0,2066).

4.2.3 ANALISIS PARTICULAR PARA CADA PARAMETRO DEL PERFIL LIPÍDICO

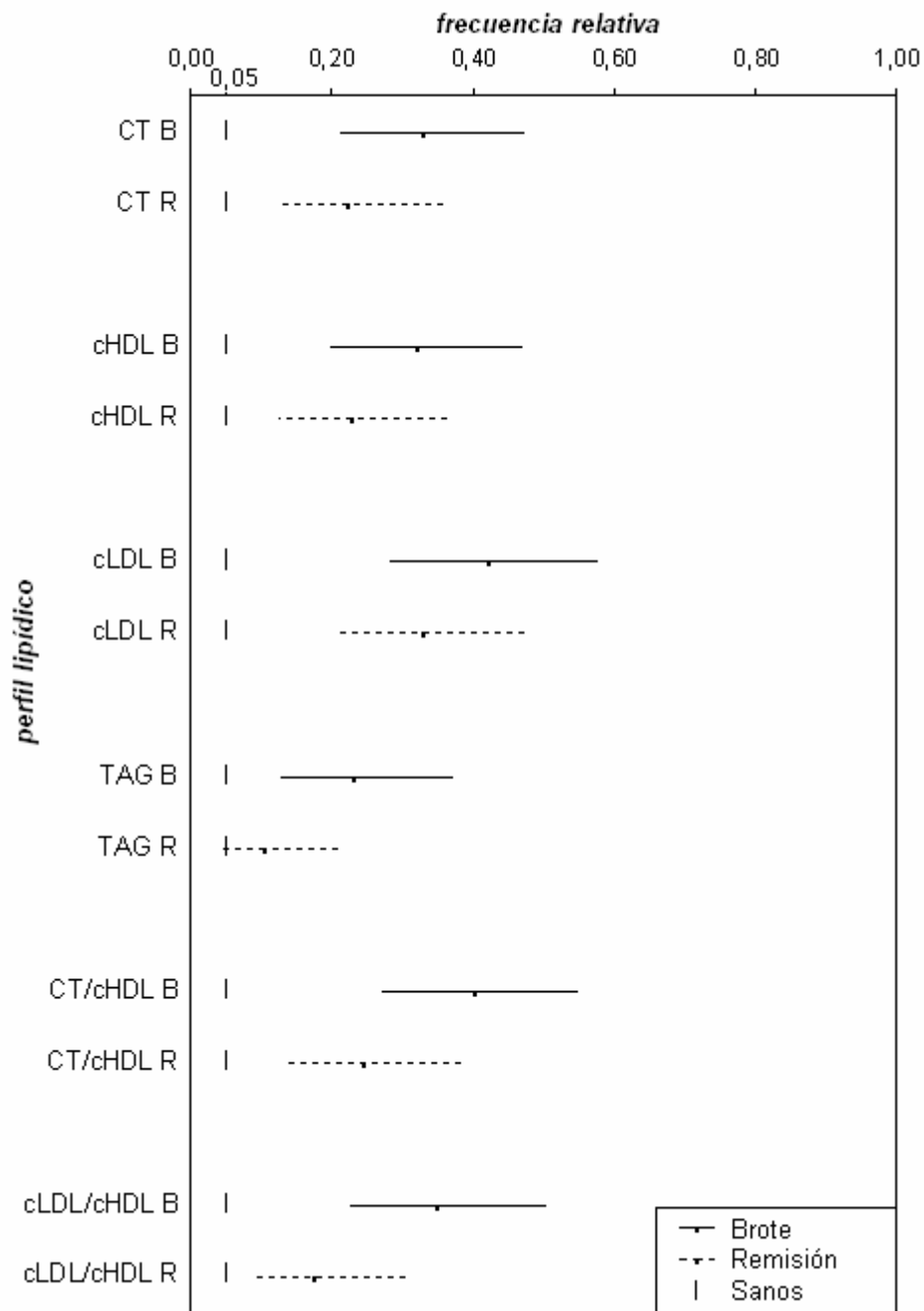
Se ha practicado análisis de correlación lineal entre todos los parámetros de perfil lipídico en cada una de las fases de la enfermedad (brote y remisión). También se ha valorado correlación con valores de fibrinógeno, dosis de prednisona (analizando en global y subdividiendo el análisis en función de llevar o no asociado tratamiento con antipalúdicos) y proteinuria.

Por otro lado se ha valorado la correlación entre los valores de los parámetros de perfil lipídico y la actividad de la enfermedad valorada mediante SLEDAI, anticuerpos anti-dsDNA y complemento (C3, C4 y CH50) en brote y remisión, objetivando que ninguno de los parámetros correlacionó de forma estadística y gráficamente significativa.

Finalmente, se ha analizado la asociación entre los niveles del parámetro y el tipo de clínica presentada durante el brote (fiebre, afectación renal, neurológica, músculoesquelética, mucocutánea o serositis).

CT

- Los valores de CT en brote y remisión correlacionaron entre ellos de forma estadística y gráficamente significativa ($r=0,524$ $p<0,001$).
- Los valores de CT en brote correlacionaron de forma estadística y gráficamente significativa con los valores de cLDL en brote ($r=0,964$ $p<0,001$).
- Los valores de CT en remisión correlacionaron de forma estadística y gráficamente significativa con los valores de cLDL en remisión ($r=0,927$ $p<0,001$) y proteinuria en remisión ($r=0,401$ $p=0,003$).
- En cuanto al tipo de brote presentado, encontramos que aquellos pacientes con fiebre durante el brote presentaron valores menores de CT durante el brote que los pacientes apiréticos ($180,1 \pm 39,1$ versus $218,6 \pm 52,0$ mg/dL $p=0,015$), así como también durante la remisión ($170,6 \pm 23,5$ versus $204,9 \pm 43,9$ mg/dL $p=0,008$). Los valores de CT en remisión en aquellos pacientes que durante el brote presentaron afectación del aparato músculoesquelético fueron menores que aquéllos que no la presentaron ($178,6 \pm 29,7$ versus $213,4 \pm 46,1$ mg/dL $p=0,002$). Sin embargo, los pacientes que durante el brote presentaron afectación renal, tuvieron en remisión valores mayores de CT que aquellos pacientes sin afectación renal durante el brote ($209,3 \pm 43,3$ versus $173,5 \pm 28,8$ mg/dL $p=0,002$). Cuando repetimos el análisis pero sólo considerando aquellos pacientes con nefropatía persistente versus remisión renal o brote no renal, objetivamos resultados similares ($221,1 \pm 32,2$ versus $187,5 \pm 42,6$ mg/dL $p=0,010$). Tras exclusión del análisis de los pacientes con nefropatía persistente, y analizando brote renal versus brote sin afectación renal, observamos que se mantenían las diferencias estadísticamente significativas ($201,0 \pm 49,1$ versus $173,3 \pm 29,6$ mg/dL $p=0,041$).



B: brote; R: remisión

Figura 5 Frecuencia relativa de pacientes con valores anormales de las diferentes variables que valoran el perfil lipídico.

Las líneas verticales representan la proporción de valores anormales esperados en población sana. Las líneas horizontales representan los IC del 95% con el punto grueso marcando el porcentaje obtenido en nuestros pacientes, en brote (línea continua) y en remisión (línea discontinua).

- Al valorar la relación entre los tres tipos de brotes enunciados en el párrafo previo observamos que mientras que fiebre en brote y afectación del aparato músculoesquelético se asocian entre ellas, de forma que de todos los pacientes que presentaron afectación del aparato músculoesquelético, un 37,5% (15/40) presentaban apirexia mientras que un 85,7% (12/14) presentaban fiebre ($p=0,002$). Por otro lado, tanto fiebre en brote como afectación del aparato músculoesquelético se asociaron a la no afectación renal, de los pacientes con fiebre en brote un 50% (10/10) no tenían brote renal mientras que un 11,8% (4/30) sí que presentaron brote renal ($p=0,002$); de los pacientes con afectación del aparato músculoesquelético en brote un 95% (19/20) no tenían brote renal mientras que un 23,5% (8/34) sí que presentaron brote renal ($p<0,001$).

cHDL

- Los valores de cHDL en brote y remisión correlacionaron entre ellos de forma estadística y gráficamente significativa ($r=0,604$ $p<0,001$).
- Los valores de cHDL en brote correlacionaron de forma estadística y gráficamente significativa con cociente CT/cHDL en brote ($r=-0,757$ $p<0,001$) y cociente cLDL/cHDL en brote ($r=-0,524$ $p<0,001$).
- Los valores de cHDL en remisión correlacionaron de forma estadística y gráficamente significativa con cociente CT/cHDL en remisión ($r=-0,659$ $p<0,001$), cociente cLDL/cHDL en remisión ($r=-0,580$ $p<0,001$).
- En cuanto al tipo de brote presentado, encontramos que aquellos pacientes con fiebre durante el brote presentaban valores menores de cHDL durante el brote que los pacientes apiréticos ($35,1 \pm 13,6$ versus $55,8 \pm 15,9$ mg/dL $p<0,001$), así como también durante la remisión ($43,2 \pm 9,9$ versus $55,5 \pm 16,2$ mg/dL $p=0,013$).

cLDL

- Los valores de cLDL en brote y remisión correlacionaron entre ellos de forma estadística y gráficamente significativa ($r=0,563$ $p<0,001$).
- Los valores de cLDL en brote correlacionaron de forma estadística y gráficamente significativa con los valores de CT en brote ($r=0,964$ $p<0,001$),

cLDL/cHDL en brote ($r=0,539$ $p<0,001$) y proteinuria en brote ($r=0,286$ $p=0,046$).

- Los valores de cLDL en remisión correlacionaron de forma estadística y gráficamente significativa con los valores de CT en remisión ($r=0,927$ $p<0,001$), el cociente cLDL/cHDL en remisión ($r=0,564$ $p<0,001$) y proteinuria en remisión ($r=0,386$ $p=0,006$). También correlacionaron de forma estadística y gráficamente significativa con las dosis de prednisona en remisión en los pacientes sin tratamiento antipalúdico (no se objetivó correlación en los pacientes que simultáneamente recibían tratamiento antipalúdico) ($r=0,381$ $p=0,034$).
- En cuanto al tipo de clínica presentada durante el brote, encontramos que aquellos pacientes que presentaron fiebre tuvieron valores menores de cLDL durante el brote que aquellos apiréticos ($104,0 \pm 32,9$ versus $136,4 \pm 46,5$ mg/dL $p=0,025$). Lo mismo ocurrió, aunque en remisión, con aquellos pacientes que durante el brote presentaron afectación del aparato músculoesquelético ($107,8 \pm 24,6$ versus $130,4 \pm 35,5$ mg/dL $p=0,011$). Sin embargo, los pacientes que durante el brote presentaron afectación renal, tuvieron valores mayores de cLDL que aquellos pacientes sin afectación renal tanto durante el brote ($137,4 \pm 48,9$ versus $109,7 \pm 31,3$ mg/dL $p=0,039$), como durante la remisión ($128,5 \pm 32,9$ versus $102,7 \pm 24,85$ mg/dL $p=0,005$). Cuando repetimos el análisis pero sólo considerando aquellos pacientes con nefropatía persistente versus remisión renal o brote no renal, objetivamos resultados similares aunque sólo en la situación de remisión ($140,5 \pm 29,1$ versus $112,2 \pm 30,9$ mg/dL $p=0,005$). Tras exclusión del análisis de los pacientes con nefropatía persistente, y analizando brote renal versus brote sin afectación renal, observamos que no se mantuvieron las diferencias estadísticamente significativas ni en brote ($136,1 \pm 57,9$ versus $111,0 \pm 31,8$ mg/dL $p=0,109$), ni en remisión ($120,1 \pm 33,4$ versus $102,9 \pm 25,6$ mg/dL $p=0,092$).

TAG

- Los valores de TAG en brote y remisión correlacionaron entre ellos de forma estadística y gráficamente significativa ($r=0,324$ $p=0,020$).
- Los valores de TAG en brote correlacionaron de forma estadística y gráficamente significativa con cociente CT/cHDL en brote ($r=0,749$ $p<0,001$).

Los niveles de TAG en brote correlacionaron con las dosis de prednisona en brote de forma estadística y gráficamente significativa ($r=0,365$ $p=0,008$). Cuando repetimos el análisis agrupando los pacientes en función de estar llevando simultáneamente tratamiento antipalúdico observamos que, independientemente de pertenecer o no al subgrupo en tratamiento antipalúdico, persistía la correlación estadística y gráficamente significativa siendo para los pacientes en tratamiento antipalúdico ($r=0,455$ $p=0,020$) y para los pacientes sin tratamiento antipalúdico ($r=0,412$ $p=0,036$);

- Los valores de TAG en remisión correlacionaron de forma estadística y gráficamente significativa con cociente CT/cHDL en remisión ($r=0,574$ $p<0,001$), y con la dosis de prednisona en remisión ($r=0,326$ $p=0,017$). Cuando repetimos el análisis agrupando los pacientes en función de estar llevando simultáneamente tratamiento antipalúdico observamos que en el subgrupo en tratamiento antipalúdico no se objetivó ninguna correlación estadísticamente significativa; sin embargo en el subgrupo sin tratamiento antipalúdico observamos que persistía la correlación ($r=0,378$ $p=0,033$).
- En cuanto al tipo de brote, observamos valores superiores de TAG en brote en aquellos pacientes que han presentado fiebre (201,5 (161) mg/dL) versus los que se han mantenido apiréticos (123,5 (80) mg/dL $p=0,038$).

Cociente CT/cHDL

- Los valores de CT/cHDL en brote y remisión correlacionaron entre ellos de forma estadística y gráficamente significativa ($r=0,464$ $p=0,001$).
- El cociente CT/cHDL en brote correlacionó de forma estadística y gráficamente significativa con cHDL en brote ($r=-0,757$ $p<0,001$), TAG en brote ($r=0,749$ $p<0,001$) y cociente cLDL/cHDL en brote ($r=0,889$ $p<0,001$).
- El cociente CT/cHDL en remisión correlacionó de forma estadística y gráficamente significativa con cHDL en remisión ($r=-0,659$ $p<0,001$), TAG en remisión ($r=0,574$ $p<0,001$), cLDL/cHDL en remisión ($r=0,956$ $p<0,001$) y proteinuria en remisión ($r=0,285$ $p=0,043$). También correlacionaron de forma estadística y gráficamente significativa con las dosis de prednisona en remisión en los pacientes sin tratamiento antipalúdico (no se objetivó correlación en los pacientes que simultáneamente recibían tratamiento antipalúdico) ($r=0,377$ $p=0,033$).

- En cuanto al tipo de brote presentado, encontramos que aquellos pacientes con fiebre durante el brote presentan valores mayores de cociente CT/cHDL durante el brote que los pacientes apiréticos ($5,5 \pm 1,6$ versus $4,2 \pm 1,4$ $p=0,007$).

Cociente cLDL/cHDL

- Los valores de cLDL/cHDL en brote y remisión correlacionaron entre ellos de forma estadística y gráficamente significativa ($r=0,582$ $p<0,001$).
- El cociente cLDL/cHDL en brote correlacionó de forma estadística y gráficamente significativa con cHDL en brote ($r=-0,524$ $p<0,001$), cLDL en brote ($r=0,539$ $p<0,001$), cociente CT/cHDL en brote ($r=0,889$ $p<0,001$) y proteinuria en brote ($r=0,373$ $p=0,012$).
- El cociente cLDL/cHDL en remisión correlacionó de forma estadística y gráficamente significativa con cHDL en remisión ($r=-0,580$ $p<0,001$), cLDL en remisión ($r=0,564$ $p<0,001$), cociente CT/cHDL en remisión ($r=0,956$ $p<0,001$) y proteinuria en remisión ($r=0,401$ $p=0,003$).
- En cuanto al tipo de brote presentado, no encontramos ninguna relación estadísticamente significativa.

4.3 BIOMARCADORES SANGUINEOS. COMPORTAMIENTO EN BROTE Y REMISION

4.3.1 ANALISIS GLOBAL

Como muestra la Tabla 12, sólo existieron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de brote y remisión para los biomarcadores: sVCAM-1 (Figura 6), sCD40L (Figura 7), IL-6 (Figura 8) y PCR (Figura 9), siendo en todos los casos valores del brote mayores a valores de la remisión, excepto para sCD40L en que los valores del brote fueron menores a los de remisión.

Tabla 12 Biomarcadores sanguíneos analizados y valores obtenidos en brote y remisión.

Valoración de las diferencias de valores entre los 2 estados de actividad de la enfermedad

BIOMARCADORES	Brote	Remisión	Valor de p
sVCAM-1 (ng/mL), mediana (RIQ)	1.333 (819,91)	1.120 (441,86)	0,002
sICAM-1 (ng/mL) , mediana (RIQ)	317,40 (103,14)	292,44 (106,76)	0,234
sMPO (ng/mL), mediana (RIQ)	3,59 (6,34)	4,05 (6,29)	0,521
sCD40L (pg/mL), mediana (RIQ)	3.365 (6.157)	7.125 (4.122)	<0,001
IL-6 (pg/mL) , mediana (RIQ)	2,27 (3,77)	1,21 (2,23)	0,006
PCR (mg/dL) , mediana (RIQ)	0,52 (0,97)	0,29 (0,55)	0,002
FvW:Ag (UI/mL), media \pm DE	1,25 \pm 0,57	1,18 \pm 0,36	0,381

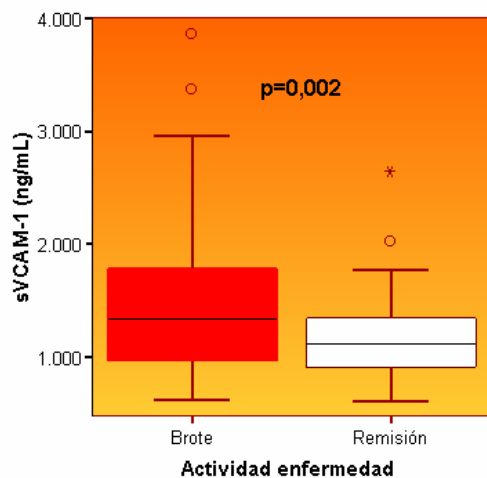


Figura 6 Valores de sVCAM-1 (ng/mL) y actividad de la enfermedad. Se objetivaron valores mayores en brote que en remisión.

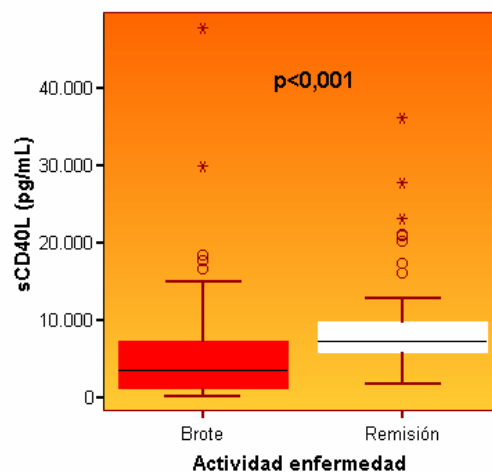


Figura 7 Valores de sCD40L (pg/mL) y actividad de la enfermedad. Se objetivaron valores mayores en remisión que en brote.

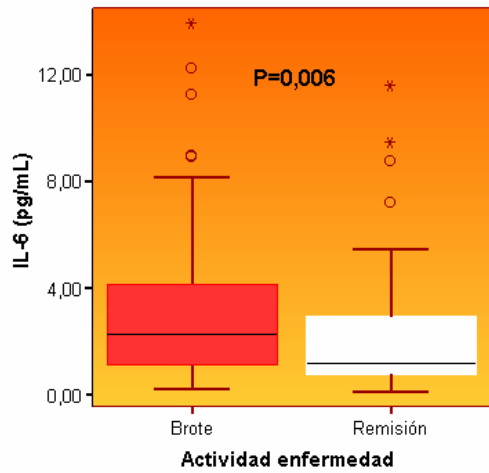


Figura 8 Valores de IL-6 (pg/mL) y actividad de la enfermedad. Se objetivaron valores mayores en brote que en remisión

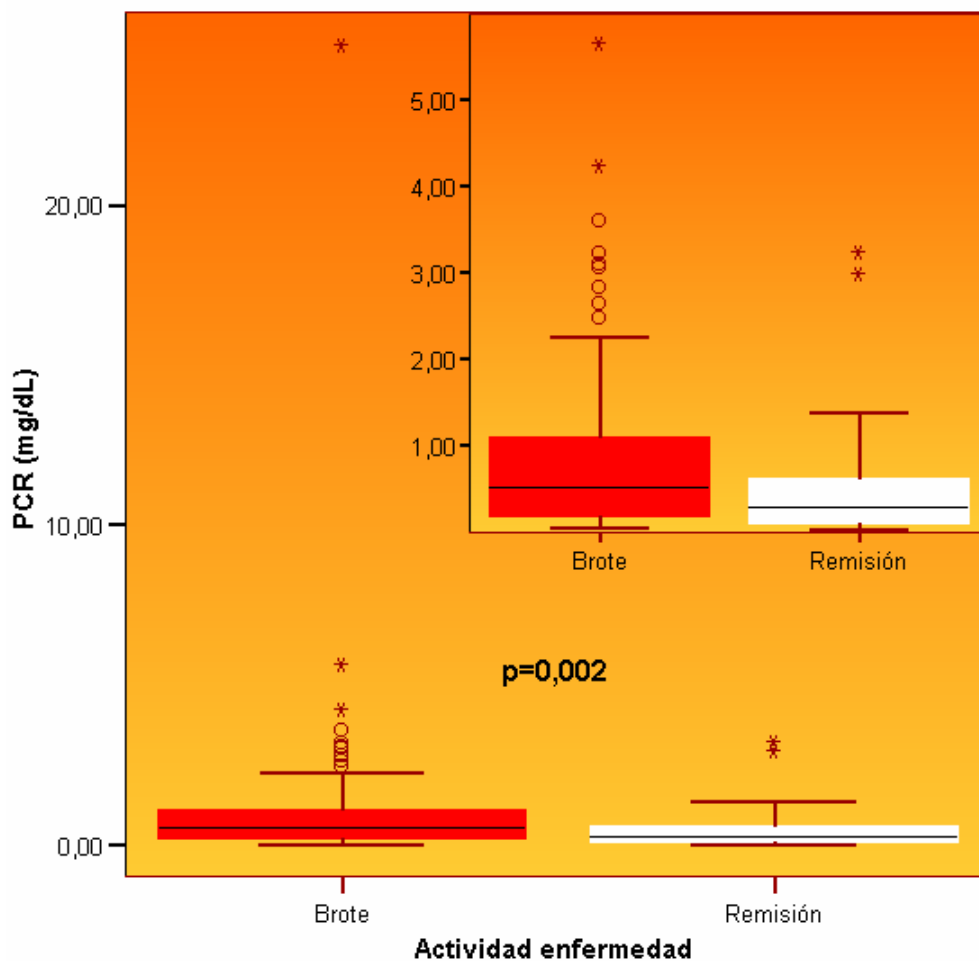


Figura 9 Valores de PCR (mg/dL) y actividad de la enfermedad. Se ha ampliado la imagen en el recuadro insertado excluyendo un único valor extremo. Se objetivaron valores mayores en brote que en remisión

4.3.2 ANALISIS DE LOS “VALORES ELEVADOS”

4.3.2.1 “VALORES ELEVADOS” EN BROTE Y REMISIÓN

Cuando analizamos si existían diferencias estadísticamente significativas entre el porcentaje de “valores elevados” que presentaron nuestros pacientes para cada uno de los biomarcadores entre el brote y la remisión, observamos mayor porcentaje de pacientes con “valores elevados” de PCR en brote que en remisión y de sCD40L en remisión que en brote (Tabla 13). Para el resto de biomarcadores no se hallaron diferencias estadísticamente significativas

Tabla 13 Porcentaje de “valores elevados” de los biomarcadores en relación a diferencias entre brote y remisión.

BIOMARCADORES, valores elevados en población sana	Brote	Remisión	Valor de p
sVCAM-1 >684 ng/mL, n (%)	50 (94,3)	52 (98,1)	0,625
sICAM-1 >459 ng/mL, n (%)	6 (11,3)	5 (9,4)	1,000
sMPO >1,98 ng/mL, n (%)	37 (90,2)	34 (82,9)	0,508
sCD40L >4.700 pg/mL, n (%)	18 (34,0)	44 (83,0)	<0,001
IL-6 >1,5 pg/mL, n (%)	34 (64,2)	26 (49,1)	0,134
PCR >0,3 mg/dL, n (%)	34 (64,2)	24 (45,3)	0,021
FvW:Ag >1,36 UI/mL, n (%)	20 (48,8)	14 (34,1)	0,210

4.3.2.2 “VALORES ELEVADOS” RESPECTO A LA POBLACION SANA

Con el objetivo de evaluar el porcentaje de “valores elevados” detectados en nuestros pacientes respecto al esperado en población sana, creamos la Figura 10. En ella observamos la proporción de pacientes con “valores elevados” de los diferentes biomarcadores. Las líneas verticales representan la proporción de “valores elevados” esperados en población sana. Las líneas horizontales representan los IC del 95% con el punto grueso marcando el porcentaje obtenido en nuestros pacientes, en brote (línea continua) y en remisión (línea discontinua). Esta figura pone en evidencia que nuestros pacientes presentaron tanto en brote como en remisión una proporción de “valores elevados” similar a la esperable en población sana de sICAM-1 (brote: 0,1132 IC95% 0,0427-0,2303; remisión: 0,0943 IC95% 0,0313-0,2066).

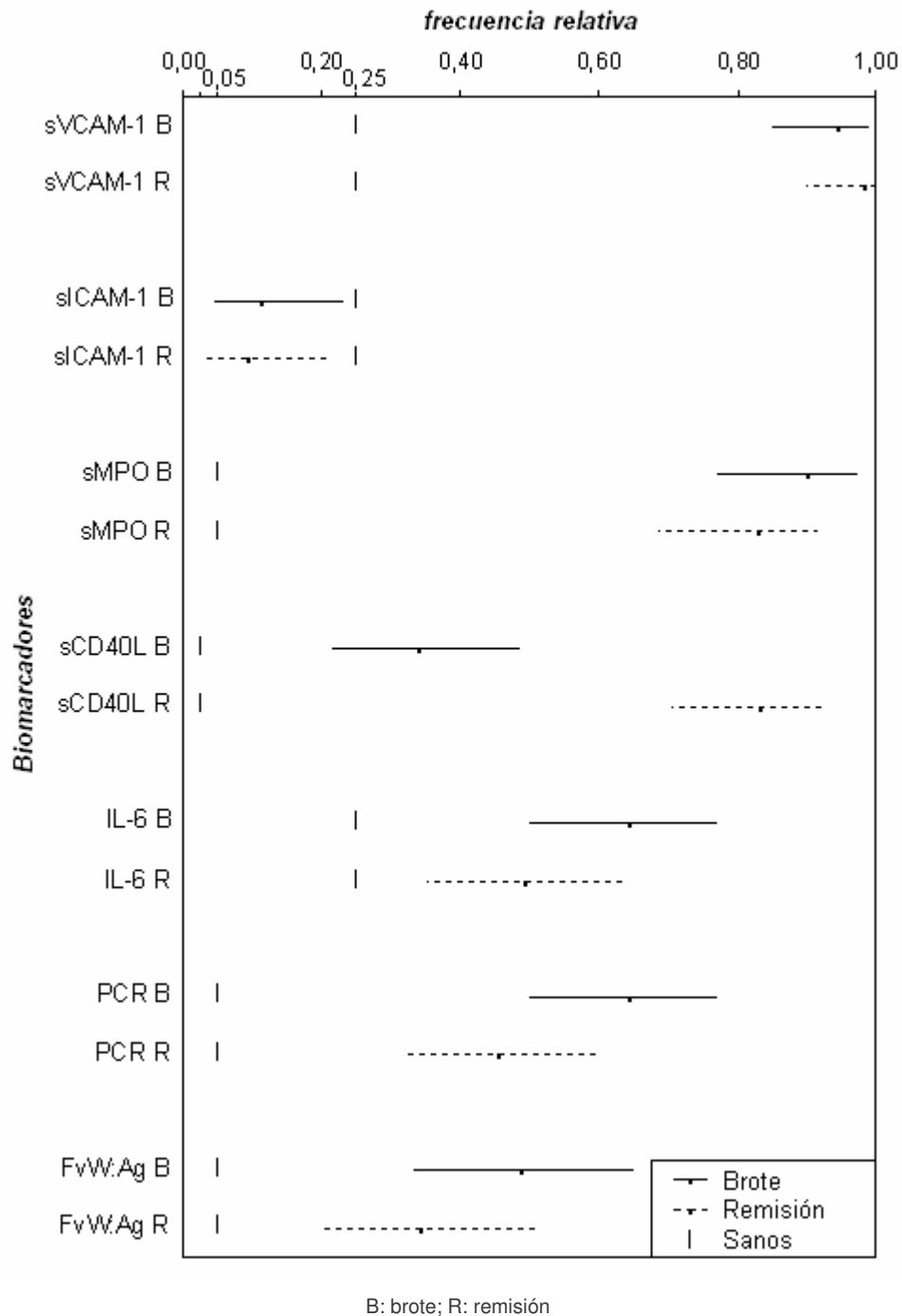


Figura 10 Frecuencia relativa de pacientes con “valores elevados” de biomarcadores. Las líneas verticales representan la proporción de “valores elevados” esperados en población sana. Las líneas horizontales representan los IC del 95% con el punto grueso marcando el porcentaje obtenido en nuestros pacientes, en brote (línea continua) y en remisión (línea discontinua).

4.3.3 ANALISIS PARTICULAR PARA CADA BIOMARCADOR

Se ha practicado correlación entre todos los biomarcadores en cada una de las fases de la enfermedad (brote y remisión), así como también se han considerado los valores de fibrinógeno, cociente CT/cHDL y cociente cLDL/HDL. Por otro lado se ha valorado la

correlación entre los valores de los biomarcadores y la actividad de la enfermedad valorada por SLEDAI, ratio anti-dsDNA (valor obtenido del paciente por técnica ELISA dividido entre el límite superior de normalidad de la técnica) y complemento (C3, C4 y CH50) en brote y remisión.

Además, se ha analizado la asociación entre los niveles del marcador y el tipo de clínica presentada durante el brote (fiebre, afectación renal, neurológica, músculoesquelética, mucocutánea o serositis).

En función del biomarcador se han llevado a cabo análisis secundarios

sVCAM-1

- Los valores de sVCAM-1 en brote y remisión correlacionaron entre ellos de forma estadística y gráficamente significativa ($r=0,425$ $p=0,002$).
- Los valores de sVCAM-1 del brote correlacionaron de forma estadísticamente significativa con valores de FvW:Ag en brote ($r=0,391$; $p=0,013$), cociente CT/cHDL en brote ($r=0,513$; $p<0,001$) y cociente cLDL/cHDL en brote ($r=0,502$; $p<0,001$).
- Los valores de sVCAM-1 en remisión correlacionaron de forma estadísticamente significativa con valores de FvW:Ag en remisión ($r=0,403$; $p=0,010$).
- Al valorar si los valores de sVCAM-1 correlacionaron con la actividad de la enfermedad valorada como SLEDAI, con niveles de anticuerpos anti-dsDNA y con niveles de complemento (C3, C4 y CH50), sólo se encontró correlación estadística y gráficamente significativa entre sVCAM-1 en brote y niveles de C3 en el brote ($r=-0,373$; $p=0,006$) y CH50 en el brote ($r=-0,381$; $p=0,011$); y entre sVCAM-1 en remisión y niveles de C3 en la remisión ($r=-0,284$; $p=0,039$) y CH50 en el brote ($r=-0,552$; $p<0,001$). Al valorar en nuestros pacientes el tipo de brote que se asoció a hipocomplementemia C3 y CH50, encontramos que el brote renal frente a otros tipos de brote se asociaba de forma significativa con hipocomplementemia C3 (76,5% versus 30%; OR, 7,58; IC95%, 2,19 a 26,26; $p=0,001$) e hipocomplementemia CH50 (75,9% versus 31,3%; OR, 6,91; IC95%, 1,78 a 26,85; $p=0,003$).
- En cuanto al tipo de brote presentado, no encontramos ninguna relación estadísticamente significativa.

- Por lo sugerido en la literatura previa en relación al efecto inhibitor sobre los valores de sVCAM-1 de los fármacos inmunosupresores¹⁵², repetimos el estudio estadístico excluyendo aquellos pacientes que en el momento del brote llevaban alguna terapia inmunosupresora. Confirmamos, en contra de la literatura previa, que el grupo con terapia inmunosupresora presentaba valores de sVCAM-1 en el brote mayores que los que no llevaban tratamiento inmunosupresor, aunque las diferencias no llegaron a ser estadísticamente significativas (1.595 (501,90) versus 1.070 (895,45) ng/mL $p=0,084$). Sobre un total de 36 pacientes (aquellos que no llevaban fármaco inmunosupresor en el momento de la extracción analítica de la muestra del brote), encontramos correlación estadística aunque no gráfica entre valores de sVCAM-1 en el brote y SLEDAI del brote ($r=0,402$; $p=0,017$), y ratio anticuerpos anti-dsDNA del brote ($r=0,540$; $p=0,001$). Mantuvieron significación estadística y confirmada gráficamente valores de complemento C3 en brote ($r=-0,366$; $p=0,031$) y CH50 en brote ($r=-0,515$; $p=0,006$). Sin embargo, seguimos sin encontrar asociación entre brote renal y valores mayores de sVCAM-1.
- Dada la asociación descrita en pacientes con nefropatía lúpica y valores elevados de sVCAM-1^{145,147,148}, se han analizado todas las variables dicotómicas en relación a nefropatía (aclaramiento de creatinina inferior a 60 mL/min/1,73 m² en el brote, creatinina patológica en el brote, proteinuria (mayor a 500 mg/24 y mayor a 1.000 mg/24h), hematuria, piuria y cilindros urinarios) encontrando significación estadística para presencia de piuria (1.663 (849,40) versus 1.178 (693,50) ng/mL $p=0,032$) hematuria (1.603 (767,65) versus 1.074 (646,34) ng/mL $p=0,050$), y rozando la significación estadística la presencia de proteinuria mayor a 1.000 mg/24h (1.596 (870,10) versus 1.074 (695,68) ng/mL $p=0,066$).

sICAM-1

- Los valores de sICAM-1 en brote y remisión correlacionaron entre ellos de forma estadística y gráficamente significativa ($r=0,417$ $p=0,002$).
- Se evaluó la correlación entre valores de sICAM-1 (tanto en brote como en remisión) y los otros biomarcadores, así como valores de fibrinógeno y cocientes aterogénicos. No existió correlación estadísticamente significativa confirmada por gráfico entre sICAM-1 y dichas variables.

- No existió correlación estadísticamente significativa y confirmada por visualización de la gráfica entre valores de sICAM-1 en brote o en remisión y parámetros analíticos de actividad de la enfermedad.
- No se asoció a ningún tipo de clínica durante el brote.
- Los pacientes que fumaban¹²⁵ durante el brote no presentaron valores más elevados que aquéllos que no fumaban (330,88 (87,17) versus 305,44 ng/mL (112,29) $p=0,732$). Las mujeres obesas¹⁵⁵ (299,83 (43,04) ng/mL) tampoco presentaron valores más elevados de sICAM-1 que las pacientes con sobrepeso (276,86 (129,31) ng/mL), ni éstas valores a su vez más elevados que las pacientes con normopeso o bajo peso (356,22 (109,74) ng/mL $p=0,192$).
- Al seleccionar sólo aquellos pacientes que presentaron brote renal¹⁴⁵, no se objetivaron diferencias en cuanto a cambios de los valores de sICAM-1 en relación a cambio de actividad de la enfermedad (brote/remisión). Los pacientes con brote renal, respecto a los pacientes que presentaron otro tipo de brote, no mostraron diferencias en cuanto a valores de sICAM-1 en brote, ni en remisión.

sMPO

- Los valores de sMPO en brote y remisión correlacionaron entre ellos de forma estadística y gráficamente significativa ($r=0,582$ $p<0,001$).
- Se evaluó la correlación entre valores de sMPO (tanto en brote como en remisión) y los otros biomarcadores, así como valores de fibrinógeno y cocientes aterogénicos. No existió correlación estadísticamente significativa confirmada por gráfico entre sMPO y dichas variables.
- De todas las clínicas del brote, tan sólo la afectación mucocutánea presentó resultados estadísticamente significativos, objetivándose valores menores en remisión en aquellos pacientes que durante el brote presentaron afectación mucocutánea (3,06 (4,00) ng/mL), respecto a los pacientes que no la presentaron (4,52 (6,46) ng/mL $p=0,040$). A su vez, los pacientes con afectación mucocutánea, durante el brote, también presentaron valores inferiores al grupo sin afectación mucocutánea aunque dicha diferencia no consiguió la significación estadística (2,92 (1,61) versus 4,98 (6,96) ng/mL $p=0,092$).

- Dada la relación entre MPO y cLDL^{161, 162}, se ha evaluado la correlación entre ambos parámetros, no hallándose significación estadística ni entre los valores de sMPO en brote y cLDL en brote ($r=-0,258$ $p=0,117$), ni entre sMPO en remisión y cLDL en remisión ($r=-0,118$ $p=0,468$).
- Puesto que los niveles circulantes de MPO se supone que provienen de la degranulación de leucocitos¹⁶¹, valoramos también la posible correlación entre ambas variables. Encontramos correlación estadísticamente significativa entre niveles de sMPO en brote y leucocitos en brote, aunque dicha correlación no se confirmó por el análisis visual del gráfico resultante ($r=-0,409$ $p=0,008$). Lo mismo (es decir, correlación estadísticamente significativa, aunque no confirmación visual) sucedió entre sMPO en brote y leucocitos en remisión ($r=-0,377$ $p=0,015$). No se encontró correlación entre niveles de sMPO en remisión y leucocitos en brote ($r=-0,266$ $p=0,092$) ni leucocitos en remisión ($r=-0,214$ $p=0,179$). La presencia de leucopenia durante el brote (tan sólo un paciente de la muestra plasma presentó leucopenia durante el brote) no se asoció a valores de sMPO en brote diferentes a los pacientes que no la presentaron (2,97 versus 3,80 (6,45) ng/mL $p=0,780$). La misma situación se repitió durante la remisión (de nuevo un solo paciente presentó leucopenia) (2,71 versus 3,80 (6,42) ng/mL $p=0,683$).
- En cuanto a los anticuerpos anti-MPO, ningún paciente los presentó positivos.

sCD40L

- Los valores de sCD40L en brote y remisión correlacionaron entre ellos de forma estadística y gráficamente significativa ($r=0,327$ $p=0,017$).
- Se evaluó la correlación entre valores de sCD40L (tanto en brote como en remisión) y los otros biomarcadores, así como valores de fibrinógeno y cocientes aterogénicos. No existió correlación estadísticamente significativa confirmada por gráfico entre sCD40L y dichas variables.
- No existió correlación estadísticamente significativa y confirmada por visualización del gráfico entre valores de sCD40L en brote o en remisión y parámetros analíticos de actividad de la enfermedad. Se confirmó dicha ausencia de correlación incluso analizando sólo aquellos pacientes que no recibían ningún tratamiento inmunosupresor en el momento de la extracción de la muestra del brote.

- En cuanto a la clínica del brote, los pacientes con brote renal mostraban valores de sCD40L en remisión mayores que los que no habían presentado nefropatía durante el brote (8.019 (5.956) versus 6.525 (1.849) pg/mL $p=0,046$).
- Evaluamos la posible correlación entre niveles de sCD40L y número de plaquetas^{180, 181}. Objetivamos que no existía correlación estadísticamente significativa entre sCD40L en el brote y plaquetas en el brote ($r=-0,266$ $p=0,054$), ni entre sCD40L en remisión y plaquetas en remisión ($r=-0,037$ $p=0,793$).
- Asimismo, también evaluamos la posible correlación entre niveles de sCD40L y número de leucocitos. Tampoco objetivamos correlación entre sCD40L en brote y leucocitos en brote ($r=-0,179$ $p=0,200$), ni entre sCD40L en remisión y leucocitos en remisión ($r=-0,098$ $p=0,486$). No detectamos correlación entre sCD40L en brote y linfocitos en brote ($r=0,004$ $p=0,977$), ni entre sCD40L en remisión y linfocitos en remisión ($r=0,063$ $p=0,653$).
- A continuación valoramos si los pacientes con leucopenia, linfopenia o trombopenia presentaron valores diferentes de sCD40L que aquéllos con niveles de leucocitos, linfocitos y plaquetas normales. El análisis se practicó en brote con los valores del brote, y en remisión con los valores de remisión (ningún paciente en remisión presentó trombopenia, por lo que este análisis con esta variable en remisión no se pudo realizar). Objetivamos diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con trombopenia en el brote con valores menores de sCD40L en el brote (353,99 (834,00) pg/mL), y aquellos pacientes con plaquetas normales (3.727 (6.308) pg/mL $p=0,007$). El resto de análisis no resultaron significativos estadísticamente.

IL-6

- Los valores de IL-6 en brote y remisión no correlacionaron entre ellos.
- Los valores de IL-6 en brote correlacionaron de forma estadística y gráficamente significativa con los valores de PCR en brote ($r=0,577$ $p<0,001$), así como también se observó la misma correlación entre ambos parámetros en la situación de remisión ($r=0,555$ $p<0,001$). Se evaluó la correlación entre valores de IL-6 (tanto en brote como en remisión) y los otros biomarcadores, así como valores de fibrinógeno y cocientes aterogénicos. No existió

correlación estadísticamente significativa confirmada por gráfico entre IL-6 y dichas variables.

- No detectamos correlación estadísticamente significativa y confirmada por visualización del gráfico entre valores de IL-6 en brote o en remisión y parámetros analíticos de actividad e la enfermedad.
- Al evaluar la clínica asociada a diferentes valores de IL-6 hallamos que aquellos pacientes que presentaron brote con afectación del aparato músculoesquelético, tuvieron valores de IL-6 en brote más elevados que aquéllos sin afectación del mismo (3,05 pg/mL (5,37) versus 1,42 pg/mL (2,46) $p=0,015$). Para el resto de clínica del brote no existieron diferencias entre los valores de IL-6 estadísticamente significativas.
- Valoramos la posible correlación entre niveles de IL-6 y número de plaquetas (pues IL-6 es un precursor hematopoyético de todas las series sanguíneas), no objetivando correlación estadísticamente significativa en brote ($r=-0,060$ $p=0,670$). En remisión, aunque estadísticamente significativa, la comprobación visual del gráfico no confirmó la correlación ($r=0,301$ $p=0,027$). En cuanto a la correlación con los niveles de leucocitos, tampoco se objetivó la misma en brote ($r=0,125$ $p=0,371$), y en remisión aunque existía significación estadística, la comprobación visual del gráfico no confirmó dicha relación ($r=0,331$ $p=0,014$).
- Puesto que se ha descrito aumento de niveles de IL-6 en relación a secreción de glucocorticoides, valoramos si existía correlación entre niveles de IL-6 y dosis de prednisona tomadas en el momento del brote y de la remisión. No encontramos correlación estadísticamente significativa entre IL-6 en el brote y dosis de prednisona en el momento de la extracción analítica del brote ($r=-0,103$ $p=0,465$), ni entre IL-6 en remisión y dosis de prednisona en el momento de la extracción analítica de la remisión ($r=0,195$ $p=0,157$).
- Teniendo en cuenta que se han descrito concentraciones elevadas de IL-6 en obesos²⁰⁷, valoramos si nuestros pacientes obesos tenían niveles más elevados de IL-6 que aquellos pacientes con normopeso o sobrepeso, y hallamos niveles de IL-6 en remisión más elevados en obesos (3,19 (3,29) pg/mL) que en pacientes con normopeso o sobrepeso (1,11 (1,59) pg/mL $p=0,027$). Los valores de IL-6 en el brote en pacientes obesos (3,30 (5,65) pg/mL), aunque también fueron más elevados que en pacientes con normopeso o sobrepeso (2,07 (3,14) pg/mL), no consiguieron significación

estadística ($p=0,301$). Los valores de IL-6 no correlacionaron con el índice de masa corporal ni en brote ($r=0,149$ $p=0,287$), ni en remisión ($r=0,252$ $p=0,067$).

- Analizamos sólo en el subgrupo mujeres si existía correlación negativa entre IL-6 y cHDL²⁰⁸. Ésta se halló con significación estadística entre IL-6 en remisión y cHDL en remisión, pero no se confirmó gráficamente ($r=-0,448$ $p=0,002$); y no se objetivó entre IL-6 en brote y cHDL en brote ($r=-0,218$ $p=0,161$). Al analizar a todos los pacientes, encontramos correlación negativa estadísticamente significativa tanto en brote ($r=-0,316$ $p=0,027$), como en remisión ($r=-0,393$ $p=0,004$), pero dicha correlación no se confirmó gráficamente.

PCR

- Los valores de PCR en brote y remisión correlacionaron entre ellos de forma estadísticamente significativa ($r=0,550$ $p<0,001$), aunque dicha correlación no se confirmó gráficamente.
- Los valores de PCR en brote correlacionaron de forma estadística y gráficamente significativa con los valores de IL-6 en brote ($r=0,577$ $p<0,001$), así como también se observó la misma correlación entre ambos parámetros en la situación de remisión ($r=0,555$ $p<0,001$). Se evaluó la correlación entre valores de PCR (tanto en brote como en remisión) y los otros biomarcadores, así como valores de fibrinógeno y cocientes aterogénicos. No existió correlación estadísticamente significativa confirmada por gráfico entre PCR y dichas variables.
- En cuanto a la asociación de valores de PCR a determinadas manifestaciones clínicas durante el brote, aquellos pacientes que presentaron fiebre tuvieron valores más elevados de PCR (0,85 (1,90) mg/dL) que aquéllos que se mantuvieron apiréticos (0,39 (0,97) mg/dL $p=0,037$). Para el resto de clínica del brote no se objetivaron diferencias entre los valores de PCR estadísticamente significativas.
- Los pacientes obesos¹⁵⁵ presentaron valores de PCR en remisión mayores que los pacientes con normopeso o sobrepeso (1,00 (0,90) versus 0,26 (0,45) mg/dL $p=0,002$), no existiendo diferencias estadísticas entre los valores de PCR en brote entre los 2 grupos de pacientes (0,58 (1,87) versus 0,52 (0,99) mg/dL $p=0,400$).

- En cuanto a los pacientes hipertensos con respecto a los no hipertensos ²⁵⁰, no objetivamos diferencias estadísticamente significativas entre los valores de PCR presentados durante el brote (0,54 (0,86) versus 0,42 (1,54) mg/dL $p=0,900$), ni durante la remisión (0,43 (0,77) versus 0,26 (0,50) mg/dL $p=0,382$).
- Por lo que se refiere a los pacientes fumadores con respecto a los no fumadores, no objetivamos diferencias estadísticamente significativas entre los valores de PCR presentados durante el brote (0,46 (2,90) versus 0,54 (0,87) mg/dL $p=0,369$), ni durante la remisión (0,35 (0,77) versus 0,28 (0,54) mg/dL $p=0,783$).
- Sobre los pacientes dislipémicos, al comparar si los pacientes con cociente CT/cHDL patológico versus normal tenían diferentes valores de PCR, no objetivamos diferencias estadísticamente significativas ni entre los valores de PCR presentados durante el brote (0,63 (1,98) versus 0,52 (0,86) mg/dL $p=0,555$), ni durante la remisión (0,84 (1,08) versus 0,29 (0,47) mg/dL $p=0,079$).
- En relación con aquellos pacientes con vida sedentaria frente a los que tenían una vida activa, tampoco presentaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a valores de PCR se refiere, ni durante el brote (0,31 (0,87) versus 0,59 (1,57) mg/dL $p=0,385$), ni durante la remisión (0,30 (0,43) versus 0,28 (0,59) mg/dL $p=0,926$).
- Aquellos pacientes que suspendieron el hábito tabáquico del brote a la remisión, experimentaron una disminución de los niveles de PCR aunque no resultó estadísticamente significativa (0,46 (2,86) versus 0,16 (0,37) mg/dL $p=0,123$).
- Considerando que se ha descrito que PCR une cLDL²²⁷, también se evaluó la posible correlación entre ambos parámetros. Estadísticamente se halló correlación significativa entre cLDL durante el brote y valores de PCR en brote, que no se confirmó por visualización del gráfico ($r=-0,358$ $p=0,011$). No se detectó correlación entre valores de cLDL en remisión y PCR en remisión ($r=-0,022$ $p=0,879$).
- Al valorar la relación entre el uso de antimaláricos y los valores de PCR²⁵⁰, encontramos valores menores en aquellos pacientes en tratamiento con antipalúdicos aunque no estadísticamente significativos, tanto en brote (0,41

(0,63) versus 0,62 (2,89) mg/dL $p=0,142$), como en remisión (0,22 (0,44) versus 0,32 (0,58) mg/dL $p=0,560$).

FvW:Ag

- Los valores de FvW:Ag en brote y remisión correlacionaron entre ellos de forma estadística y gráficamente significativa ($r=0,383$ $p=0,014$).
- Los valores de FvW:Ag del brote correlacionaron de forma estadísticamente significativa con valores de sVCAM-1 en brote ($r=0,391$; $p=0,013$), cociente CT/cHDL en brote ($r=0,475$; $p=0,003$) y cociente cLDL/cHDL en brote ($r=0,416$; $p=0,014$).
- Los valores de FvW:Ag en remisión correlacionaron de forma estadísticamente significativa con valores de sVCAM-1 en remisión ($r=0,403$; $p=0,010$), cociente CT/cHDL en remisión ($r=0,384$; $p=0,014$) y cociente cLDL/cHDL en remisión ($r=0,409$; $p=0,009$).
- No se halló correlación estadísticamente significativa y confirmada por visualización del gráfico entre valores de FvW:Ag en brote o en remisión y parámetros analíticos de actividad e la enfermedad.
- En cuanto a la clínica asociada a valores diferentes de FvW:Ag, encontramos que aquellos pacientes que presentaron fiebre en el brote tuvieron valores más elevados de FvW:Ag en brote que aquellos pacientes que no la presentaron ($1,61 \pm 0,50$ versus $1,15 \pm 0,55$ U/mL $p=0,030$). Los pacientes que presentaron afectación del aparato músculoesquelético durante el brote, tuvieron valores de FvW:Ag menores durante la remisión que aquéllos que no presentaron afectación del aparato músculoesquelético (0,98 (0,31) versus 1,32 (0,32) U/mL $p=0,002$). En brote los valores de FvW:Ag en aquellos pacientes con afectación del aparato músculoesquelético también fueron menores aunque no resultaron estadísticamente significativos (1,17 (0,68) versus 1,31 (0,48) U/mL $p=0,426$). Los pacientes con brote renal presentaron en remisión valores más elevados de FvW:Ag que aquéllos sin nefropatía durante el brote (1,28 (0,31) versus 0,96 (0,36) U/mL $p=0,006$). Los valores de FvW:Ag en aquellos pacientes con brote renal también fueron mayores que los de los pacientes sin nefropatía aunque estas diferencias no mostraron significación estadística (1,30 (0,48) versus 1,15 (0,78) U/mL $p=0,510$). Para el resto de clínica del brote no existieron diferencias entre los valores de FvW:Ag estadísticamente significativas. Al analizar una explicación que

justificase que los pacientes que habían presentado durante el brote afectación renal mostrasen en remisión valores mayores de FvW:Ag que los pacientes sin afectación renal, encontramos que los pacientes con afectación renal durante el brote, eran los únicos que presentaban durante la remisión criterios de insuficiencia renal (7/34 (20,6%) versus 0/20 (0%) $p=0,038$), así como nefropatía persistente (14/34 (41,2%) versus 0/19 (0%) $p=0,001$). Ambas variables se asociaban también a valores más elevados en remisión de FvW:Ag, siendo para pacientes con criterios de insuficiencia renal en remisión mayores aunque sin llegar a ser estadísticamente significativos ($1,41 \pm 0,28$ versus $1,13 \pm 0,36$ UI/mL ($p=0,056$)) y para nefropatía persistente versus pacientes sin nefropatía persistente en remisión ($1,39 \pm 0,28$ versus $1,10 \pm 0,36$ UI/mL ($p=0,020$)). Sin embargo la afectación del aparato músculoesquelético se relaciona de forma inversa a brote renal con criterios de insuficiencia renal en remisión, en el sentido que ningún paciente con afectación del aparato músculoesquelético presentó en remisión criterios de insuficiencia renal (0/27 (0%) versus 7/27 (25,9%) $p=0,010$) y con mucha menor proporción que los pacientes no afectados del aparato músculoesquelético, nefropatía persistente (2/26 (7,7%) versus 12/27 (44,4%) ($p=0,002$)).

- Considerando que FvW incrementa la agregación plaquetar, valoramos la correlación entre los niveles de plaquetas y los de FvW:Ag. No encontramos correlación estadísticamente significativa entre ambos parámetros ni en brote ($r=-0,250$; $p=0,114$) ni en remisión ($r=-0,126$; $p=0,431$).
- Asimismo, evaluamos si los pacientes con insuficiencia renal crónica (aclaramiento de creatinina inferior a $60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ y ya presente en los tres meses previos) presentaron valores más elevados de FvW:Ag²⁵², y confirmamos dicha asociación entre valores de FvW:Ag e insuficiencia renal crónica en brote ($1,79$ (0,11) versus $1,21$ (0,56) U/mL $p<0,001$), objetivándose también valores mayores de FvW:Ag en aquellos pacientes con insuficiencia renal crónica en remisión aunque no se consiguió la significación estadística ($1,41$ (0,28) versus $1,13$ (0,35) U/mL $p=0,056$).

4.4 GRUPOS ATEROSCLEROSIS

Se distribuyeron los pacientes en 2 grupos en función de presentar alguno de los 2 factores de riesgo de aterosclerosis coronaria en pacientes con LES (hipercolesterolemia con valores $>200 \text{ mg/dL}$ y/o edad superior a 34 años en el momento del diagnóstico del LES). Aquellos

pacientes que cumplían alguno de los criterios fueron identificados como grupo B (31 pacientes), y el resto como grupo A (23 pacientes). Tanto en la muestra de suero como en la muestra de plasma 58,5% de los pacientes quedaron agrupados como pacientes de riesgo vascular atendiendo a dicha clasificación.

Las características demográficas, clínicas y biológicas de ambos grupos se describen de forma detallada en las siguientes tablas:

- Tabla 14, resume las características demográficas y clínicas de los individuos (que no cambian en relación a la actividad de la enfermedad).
- Tabla 15, resume las características de la aterosclerosis determinadas en remisión. No se ha especificado el parámetro diabetes mellitus, pues ningún paciente presentó diabetes mellitus.
- Tabla 16, resume los parámetros analíticos en cuanto a elementos formes de la sangre se refiere.
- La Tabla 17, tabla 18 y Tabla 19 resumen las variables en relación a la enfermedad lúpica.

Tabla 14 Características demográficas y clínicas (sin cambios en relación a la actividad de la enfermedad) de los pacientes estudiados.

Se considera por separado grupo B (presentan edad en el diagnóstico del LES >34 años y/o colesterol en remisión >200 mg/dL, 31 pacientes) versus grupo A (no cumplen ninguno de los 2 criterios previos, 23 pacientes).

PARÁMETROS	GRUPO A	GRUPO B	Valor de p
Sexo femenino, n (%)	20 (87,0)	27 (87,1)	1,000
Raza caucásica, n (%)	21 (91,3)	26 (83,9)	0,685
Edad de diagnóstico (años), media ± DE	20,8 ± 7,3	28,9 ± 11,9	0,003
Edad de diagnóstico >34 años, n (%)	0 (0,0)	13 (41,9)	<0,001
Edad media (brote/remisión)*, media ± DE	25,5 ± 7,3	35,4 ± 13,6	0,001
Índice de masa corporal (kg/m ²), media ± DE	23,3 ± 3,5	26,7 ± 7,1	0,026
Bajo peso (<20 kg/m ²), n (%)	3 (13,0)	5 (13,1)	1,000
Normopeso (≥20 a <25 kg/m ²), n (%)	11 (47,8)	8 (25,8)	0,094
Sobrepeso (≥25 a <30 kg/m ²), n (%)	8 (34,8)	9 (29,0)	0,653
Obeso (≥30 kg/m ²), n (%)	1 (4,3)	9 (29,0)	0,032
Ejercicio (Kcal/semana), media ± DE	4.499 ± 3.790	5.095 ± 4.731	0,622
Vida sedentaria (<2.000 kcal/semana), n (%)	6 (26,1)	7 (22,6)	0,766
Tabaco alguna vez en la vida, n (%)	8 (34,8)	14 (45,2)	0,443
Hipotiroidismo, n (%)	0 (0,0)	6 (19,4)	0,070
Menopausia, n (%)	0 (0,0)	6 (22,2)	0,031
Prednisona >10mg/día*, n (%)	14 (60,9)	26 (83,9)	0,056
Anticuerpos Anti-Sm, n (%)	7 (30,4)	5 (16,1)	0,211
Anticuerpos anti-RNP, n (%)	7 (30,4)	7 (22,6)	0,515
Anticuerpos anti-Ro, n (%)	4 (17,4)	7 (22,6)	0,741
Anticuerpos anti-La, n (%)	3 (13,0)	3 (9,7)	1,000
Anticuerpos Antifosfolipídicos*, n (%)	4 (17,4)	8 (25,8)	0,462
Síndrome antifosfolipídico, n (%)	0 (0,0)	1 (6,5)	0,502

*Edad media: cálculo de edad media entre el brote y la remisión; prednisona >10 mg/día: recibidos más de 10 mg/día de prednisona durante más de 2 meses en cualquier momento de la enfermedad; anticuerpos antifosfolipídicos: positividad para anticuerpos anticardiolipina y/o anticoagulante lúpico.

Tabla 15 Características de la aterosclerosis valoradas en remisión.
Se compara grupo B (presentan edad en el diagnóstico del LES >34 años y/o colesterol en remisión >200 mg/dL, 31 pacientes) versus grupo A (no cumplen ninguno de los 2 criterios previos, 23 pacientes).

PARAMETROS EN REMISION	Grupo A	Grupo B	Valor de p
Tabaco actual, n (%)	3 (13,0)	4 (12,9)	1,000
HTA (tratamiento o $\geq 140/90$), n(%)	3 (13,0)	15 (48,4)	0,006
MDRD <60 mL/min/1,73m ² , n (%)	1 (4,3)	10 (32,3)	0,016
MDRD <60 mL/min/1,73m ² , y desde por lo menos 3 meses previos, n (%)	1 (4,3)	6 (19,4)	0,218
Nefropatía persistente*	1 (9,1)	13 (56,5)	0,011
Colesterol total (CT) (mg/dL), media \pm DE	162,9 \pm 20,2	220,6 \pm 37,2	<0,001
CT patológico (>220 mg/dL), n (%)	0 (0,0)	12 (38,7)	0,001
CT >200 mg/dL, n (%)	0 (0,0)	24 (77,4)	<0,001
Triglicéridos (mg/dL), mediana (RIQ)	91,0 (54,0)	146,0 (72,0)	<0,001
Hipertrigliceridemia (>200 mg/dL), n (%)	1 (4,5)	4 (12,9)	0,389
Hipertrigliceridemia (>160 mg/dL), n (%)	1 (4,5)	11 (35,5)	0,009
Regicor, media \pm DE	1,2 \pm 0,6	2,1 \pm 1,1	<0,001
Dorica, media \pm DE	1,0 \pm 0,6	2,4 \pm 2,0	0,001

* Nefropatía persistente (Brote renal y en remisión presencia de proteinuria >1.000 mg/24h y/o aclaramiento de creatinina <60 mL/min/1,73 m²).

Tabla 16 . Parámetros analíticos en brote y remisión.

Se describieron los valores de las variables. Se compararon ambos grupos en brote así como en remisión.

PARAMETROS ANALÍTICOS	Brote	Valor de p	Remisión	Valor de p
Leucocitos x10⁶/L, media ± DE				
Grupo A	7.035 ± 6.318	0,917	5.961 ± 2.113	0,245
Grupo B	7.174 ± 3.382		6.865 ± 3.198	
Linfocitos x10⁶/L, media ± DE				
Grupo A	1.638 ± 884,8	0,249	1.813 ± 1.123	0,822
Grupo B	1.382 ± 729,4		1.892 ± 1.360	
Plaquetas x10⁶/L, media ± DE				
Grupo A	246.391 ± 87.204	0,382	263.782 ± 59.239	0,824
Grupo B	226.774 ± 75.887		259.903 ± 65.937	
Ratio anticuerpos anti-dsDNA*, mediana (RIQ)				
Grupo A	4,1 (12,02)	0,652	2,9 (11,13)	0,647
Grupo B	5,7 (19,58)		4,5 (8,6)	
Hipocomplementemia C3*, n (%)				
Grupo A	13 (56,5)	0,724	6 (27,3)	0,493
Grupo B	19 (61,3)		5 (16,1)	
Hipocomplementemia C4*, n (%)				
Grupo A	11 (47,8)	0,783	6 (27,3)	0,493
Grupo B	16 (51,6)		5 (16,1)	
Proteinuria*, n (%)				
Grupo A	11 (50,0)	0,121	3 (14,3)	0,491
Grupo B	22 (71,0)		8 (25,8)	

* Ratio anticuerpos anti-dsDNA: valor del paciente dividido entre el valor límite superior de la normalidad; hipocomplementemia C3: <85 mg/dL; hipocomplementemia C4: <10 mg/dL; proteinuria: >500 mg/24h.

Tabla 17 Variables Clínicas en relación al LES.

Se compara grupo B (presentan edad en el diagnóstico del LES >34 años y/o colesterol en remisión >200 mg/dL, 31 pacientes) versus grupo A (no cumplen ninguno de los 2 criterios previos, 23 pacientes).

PARAMETROS en remisión	Grupo A	Grupo B	Valor de p
Ti* evolución desde el diagnóstico (años), media ± DE	5,8 ± 4,3	7,6 ± 6,2	0,219
Ti* evolución desde el brote (días), mediana (RIQ)	219,0 (526)	215,0 (849)	0,868
Brotos previos*, mediana (RIQ)	3,0 (2)	2,0 (3)	0,629
SLICC, mediana (RIQ)	0,0 (1)	0,0 (0)	0,953
SLICC >0, n (%)	6 (26,1)	7 (22,6)	0,766

* Ti: tiempo.

Tabla 18 SLEDAI. Puntuación y órganos afectados.

SLEDAI	Brote	Valor de p	Remisión	Valor de p
SLEDAI, media ± DE				
Grupo A	13,2 ± 6,5	0,255	2,5 ± 1,7	0,585
Grupo B	15,0 ± 5,0		2,7 ± 1,8	
Disminución de SLEDAI <80%*, n (%)				
Grupo A			9 (39,1)	0,658
Grupo B			14 (45,2)	
Afectación renal, n (%)				
Grupo A	11 (47,8)	0,047	1 (4,3)	0,224
Grupo B	23 (74,2)		5 (16,1)	
Afectación neurológica, n (%)				
Grupo A	1 (4,3)	1,000	0 (0,0)	1,000
Grupo B	1 (3,2)		0 (0,0)	
Afectación músculoesquelética (artritis o miositis), n (%)				
Grupo A	15 (65,2)	0,054	0 (0,0)	1,000
Grupo B	12 (38,7)		0 (0,0)	
Serositis, n (%)				
Grupo A	4 (17,4)	1,000	0 (0,0)	1,000
Grupo B	6 (19,4)		0 (0,0)	
Afectación mucocutánea, n (%)				
Grupo A	7 (30,4)	0,120	1 (4,3)	0,426
Grupo B	16 (51,6)		0 (0,0)	

Tabla 19 Tratamiento recibido en el momento de la extracción de la muestra.

Tratamiento en el momento de la extracción de la muestra	Brote	Valor de p	Remisión	Valor de p
Ningún fármaco inmunosupresor o corticoideo, n (%)				
Grupo A	2 (8,7)	1,000	0 (0,0)	1,000
Grupo B	3 (9,7)		0 (0,0)	
Iniciado tratamiento del brote*, n (%)				
Grupo A	11 (47,8)	0,503		
Grupo B	12 (38,7)			
Dosis de prednisona (mg/día)*, mediana (RIQ)				
Grupo A	7,5 (15,0)	0,818	5,0 (0,0)	0,123
Grupo B	7,5 (25,0)		5,0 (2,5)	
Dosis de prednisona >10 mg/día, n (%)				
Grupo A	9 (39,1)	0,975	0 (0,0)	0,502
Grupo B	12 (38,7)		2 (6,5)	
Dosis de prednisona >10 mg/día y en tto con antipalúdicos, n (%)				
Grupo A	6 (26,1)	0,927	0 (0,0)	1,000
Grupo B	7 (22,6)		1 (3,3)	
Dosis de prednisona >15 mg/día, n (%)				
Grupo A	8 (34,8)	0,653	0 (0,0)	0,502
Grupo B	9 (29,0)		2 (6,5)	
Dosis acumulada de prednisona desde el diagnóstico (mg), mediana (RIQ)				
Grupo A	9.417 (21.061)	0,414	12.560 (18.255)	0,175
Grupo B	17.510 (32.163)		21.820 (30.985)	
Tiempo de uso de corticoides (años), media ± DE				
Grupo A	3,5 ± 3,4	0,248	4,5 ± 3,7	0,202
Grupo B	4,9 ± 5,4		6,2 ± 5,5	
Dosis media diaria acumulada de prednisona (mg/día) desde el diagnóstico, mediana (RIQ)				
Grupo A	7,5 (7,0)	0,366	10,8 (9,0)	0,049
Grupo B	8,3 (13,3)		12,9 (15,3)	
Antipalúdicos, n (%)				
Grupo A	12 (52,2)	0,783	11 (47,8)	0,246
Grupo B	15 (48,4)		10 (32,3)	

*Iniciado tratamiento del brote: muestra tomada tras haberse producido un aumento o inicio de tratamiento corticoideo (no se admitió ningún paciente en el que se hubiesen modificado/iniciado fármacos inmunosupresores); dosis de prednisona: dosis de prednisona en mg/día tomada por el paciente en el momento de extracción de la muestra.

Tabla 19 (continuación) Tratamiento recibido en el momento de la extracción de la muestra.

Fármacos Inmunosupresores*, n (%)				
Grupo A	8 (34,8)		15 (65,2)	
Grupo B	10 (32,3)	0,846	28 (90,3)	0,039
Metotrexato/leflunomida, n (%)				
Grupo A	2 (8,7)		3 (13,0)	
Grupo B	3 (9,7)	1,000	5 (16,1)	1,000
Ciclosporina/tacrolimus, n (%)				
Grupo A	3 (13,0)		5 (21,7)	
Grupo B	1 (3,2)	0,301	8 (25,8)	0,730
Micofenolato/azatioprina, n (%)				
Grupo A	3 (13,0)		8 (34,8)	
Grupo B	6 (19,4)	0,717	24 (77,4)	0,002
Micofenolato, n (%)				
Grupo A			8 (34,8)	
Grupo B			19 (61,3)	0,054
Azatioprina, n (%)				
Grupo A			0 (0,0)	
Grupo B			5 (16,1)	0,064
Ciclofosfamida, n (%)				
Grupo A	0 (0,0)		1 (4,4)	
Grupo B	0 (0,0)	1,000	0 (0,0)	0,426

*Fármacos inmunosupresores: algún paciente lleva más de un fármaco al mismo tiempo.

Apreciamos en la Tabla 14, que el grupo B comprendió pacientes mayores que los pacientes del grupo A tanto en el momento del diagnóstico del LES (criterio de inclusión), como en el momento del estudio llevado a cabo (edad media brote/remisión). También los pacientes del grupo B tenían mayor índice de masa corporal ($26,7 \pm 7,1$ versus $23,3 \pm 3,5$ kg/m^2 $p=0,026$), presentando una mayor proporción de obesos (29% versus 4,3% $p=0,032$). Todas las mujeres menopáusicas formaron parte de este grupo (22,2% versus 0% $p=0,031$).

Lo conformaron como observamos en la Tabla 15, una mayor proporción de pacientes hipertensos (48,4% versus 13% $p=0,006$), así como de pacientes con filtrado glomerular inferior a $60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ (32,3% versus 4,3% $p=0,016$), sin embargo cuando consideramos sólo aquellos pacientes con filtrado glomerular inferior a $60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ mantenido (ya presente desde hacía por lo menos 3 meses), se perdía la significación estadística. El grupo B comprendió más pacientes con nefropatía persistente que el grupo A (56,5% versus 9,1% $p=0,011$). Al valorar a cuál de los 2 criterios de inclusión de grupo B se asociaba la variable nefropatía persistente, objetivamos asociación estadísticamente significativa entre pacientes con nefropatía persistente con niveles de CT $>200 \text{ mg/dL}$ en remisión versus pacientes sin nefropatía persistente (11/14 (78,6%) versus 13/39 (33,3%) $p=0,004$).

El grupo B mostró cifras de colesterol total medias más elevadas que en el grupo A en remisión, presentando mayor número de pacientes con cifras de CT patológico (38,7% versus 0,0% $p=0,001$). También el grupo B presentó cifras más elevadas de TAG en remisión que el grupo A (146,0 (72,0) versus 91,0 (54) mg/dL), no mostrando mayor porcentaje de valores patológicos que el grupo A, aunque sí mayor porcentaje de valores >160 mg/dL (35,5% versus 4,5%).

Los pacientes del grupo B tuvieron puntuaciones de Regicor ($2,1 \pm 1,1$) y de Dorica ($2,4 \pm 2,0$) más elevadas que los pacientes del grupo A ($1,2 \pm 0,6$ $p<0,001$; $1,0 \pm 0,6$ $p=0,001$ respectivamente).

Como objetivamos en la Tabla 16 no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en cuanto a los valores de leucocitos, linfocitos, plaquetas, ratio anticuerpos anti-dsDNA e hipocomplementemia (C3 y C4), ni en brote ni en remisión.

La Tabla 17 pone en evidencia que ambos grupos no presentaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al tiempo de evolución de la enfermedad desde el diagnóstico y hasta la remisión, ni desde el brote a estudio a la remisión (el tiempo mínimo entre brote y remisión fue de 75 días en el grupo A y de 29 días en el grupo B y el máximo de 1877 días en el grupo A y de 1752 días en el grupo B). Tampoco presentaron diferencias en cuanto a número de brotes previos ni en cuanto a puntuación de SLICC.

La Tabla 18 muestra los resultados en relación a SLEDAI, puntuación y órganos afectados, y pone en evidencia que los pacientes con afectación renal en el brote fueron clasificados en mayor porcentaje de forma estadísticamente significativa en el grupo B (74,2% versus 47,8% $p=0,047$). Al valorar a cuál de los 2 criterios de inclusión de grupo B se asociaba la variable brote renal, encontramos que aquellos pacientes que habían sufrido brote renal, en el momento de la remisión presentaban con mayor frecuencia CT en remisión >200 mg/dL que los pacientes sin afectación renal durante el brote (20/34 (58,8%) versus 4/20 (20,0%) $p=0,006$).

Se evaluó si existía asociación entre fiebre en el brote y grupo (A o B), no encontrándose diferencias estadísticamente significativas (9 (39,1%) versus 5 (16,1%) $p=0,056$).

La Tabla 19 muestra que los pacientes del grupo B presentaron valores de dosis media acumulada de prednisona mayores que los del grupo A (12,9 (15,3) versus 10,8 (9,0) mg/día $p=0,049$). En situación de remisión, mayor número de pacientes del grupo B estaban recibiendo tratamiento inmunosupresor (90,3% versus 65,2% $p=0,039$). Al realizar el análisis por tipo de tratamiento inmunosupresor, hallamos que el grupo B se diferenciaba del grupo A

por estar un mayor número de pacientes bajo tratamiento con micofenolato/azatioprina (77,4% versus 34,8% $p=0,002$). Cuando repetimos el análisis por separado (sólo micofenolato o sólo azatioprina), observamos que las diferencias entre grupos dejaron de ser estadísticamente significativas, aunque rozando la significación estadística para el grupo micofenolato en remisión (61,3% versus 34,8% $p=0,054$). Al valorar a cuál de las variables de inclusión se asociaban, obtuvimos que mientras micofenolato en remisión se asociaba a CT en remisión >200 mg/dL versus otros tipos de tratamiento en remisión (17/27 (63,0%) versus 7/27 (25,9%) $p=0,006$), azatioprina en remisión no se asociaba de forma estadísticamente significativa a ninguna de ellas: azatioprina en remisión y valores de CT en remisión >200 mg/dL versus otros tipos de tratamiento en remisión y CT en remisión >200 mg/dL (3/5 (60,0%) versus 21/49 (42,9%) $p=0,646$); azatioprina en remisión frente edad en el diagnóstico >34 años versus otros tipos de tratamiento en remisión y edad en el diagnóstico >34 años (3/5 (60,0%) versus 10/49 (20,4%) $p=0,084$).

Un paciente de cada grupo se encontró tanto en brote como en remisión en tratamiento con estatinas.

Los pacientes que presentaron durante el brote afectación renal fueron tratados mayoritariamente con micofenolato versus otros tratamientos (26/27 (96,3%) versus 8/27 (29,6%) $p<0,001$, OR 61,8 IC95% 7,1-536,2). Esta relación no se objetivó en los pacientes con nefropatía persistente y tratamiento con micofenolato versus otros tratamientos (10/27 (37,0%) versus 4/26 (28,6%) $p=0,074$).

Al someter a un análisis ajustado a las variables nefropatía persistente en remisión, brote renal y micofenolato en remisión, considerando como variable dependiente pertenecer al grupo B, hallamos que sólo entró en el modelo de regresión logística binaria la variable nefropatía persistente en remisión (OR 15,2 IC95% 1,8-127,5 $p=0,012$).

4.4.1 COMPORTAMIENTO PERFIL LIPIDICO Y BIOMARCADORES EN FUNCION DEL GRUPO ATEROSCLEROSIS

Analizamos para cada situación de la enfermedad (brote y remisión) si los 2 grupos (A y B) presentaban diferencias entre los valores del perfil lipídico (Tabla 20) y los biomarcadores (Tabla 21). También han sido analizadas las diferencias entre los 2 grupos para el porcentaje de pacientes con valores patológicos (Tabla 20) y “valores elevados” (Tabla 21) respectivamente.

Tabla 20 Parámetros de perfil lipídico y comportamiento en brote y remisión para cada grupo (A y B).

Se describieron los valores de las variables así como el porcentaje de valores patológicos. Se compararon ambos grupos en brote así como en remisión. Para cada grupo se analizó la existencia de diferencias estadísticas entre el brote y la remisión.

PERFIL LIPIDICO	Brote	Valor de p (A vs B)	Remisión	Valor de p (A vs B)	Valor de p (brote vs remisión)
CT (mg/dL), media ± DE					
Grupo A	184,0 ± 47,8	0,004	162,9 ± 20,2	<0,001	0,082
Grupo B	224,7 ± 47,8		220,5 ± 37,2		0,602
CT patológico (>220 mg/dL), n (%)					
Grupo A	4 (19,0)	0,084	0 (0,0)	0,001	0,001
Grupo B	13 (41,9)		12 (38,7)		1,000
cHDL (mg/dL), media ± DE					
Grupo A	44,3±18,8	0,043	49,0 ±15,1	0,177	0,080
Grupo B	54,6±16,1		55,0 ±16,0		0,929
cHDL patológico (<40 mg/dL),n (%)					
Grupo A	9 (47,4)	0,026	6 (31,6)	0,055	0,375
Grupo B	6 (20,0)		4 (12,9)		0,500
cLDL (mg/dL), media ± DE					
Grupo A	105,6 ± 43,8	0,003	95,4 ± 20,1	<0,001	0,398
Grupo B	142,9 ± 40,6		135,9 ± 29,1		0,372
cLDL patológico (≥130 mg/dL), n (%)					
Grupo A	4 (20,0)	0,010	1 (4,8)	<0,001	0,250
Grupo B	17 (56,7)		16 (51,6)		1,000
TAG (mg/dL), mediana (RIQ)					
Grupo A	114,0 (152,0)	0,780	84,0 (49,0)	<0,001	0,041
Grupo B	138,0 (81,0)		146,0 (72,0)		0,710
TAG patológico (>200 mg/dL),n (%)					
Grupo A	7 (35,0)	0,048	1 (5,0)	0,389	0,031
Grupo B	4 (12,9)		4 (12,9)		1,000
Cociente CT/cHDL, media ± DE					
Grupo A	4,8 ± 2,0	0,400	3,6 ± 0,9	0,019	0,005
Grupo B	4,4 ± 1,1		4,2 ± 1,0		0,497
Cociente CT/cHDL patológico* n (%)					
Grupo A	8 (42,1)	0,556	3 (15,8)	0,121	0,125
Grupo B	11 (36,7)		10 (33,3)		1,000
Cociente cLDL/cHDL, media ± DE					
Grupo A	2,6 ± 1,4	0,476	2,1 ± 0,7	0,013	0,147
Grupo B	2,8 ± 0,9		2,7 ± 0,8		0,139
Cociente cLDL/cHDL patológico*, n (%)					
Grupo A	4 (23,5)	0,424	2 (11,8)	0,283	0,625
Grupo B	11 (39,3)		6 (21,4)		0,063

*cociente CT/cHDL patológico: >5 en hombres y >4,5 en mujeres; cociente cLDL/cHDL patológico: >3,5 en hombres y >3 en mujeres.

Tabla 21 Biomarcadores y comportamiento en brote y remisión para cada grupo (A y B).

Se describieron los valores de las variables así como el porcentaje de "valores elevados". Se compararon ambos grupos en brote así como en remisión. Para cada grupo se analizó la existencia de diferencias estadísticas entre el brote y la remisión

BIOMARCADORES	Brote	Valor de <i>p</i> (A vs B)	Remisión	Valor de <i>p</i> (A vs B)	Valor de <i>p</i> (brote vs remisión)
sVCAM-1 (ng/mL), mediana (RIQ)					
Grupo A	1.143 (886,8)	0,885	1.130 (407,7)	0,899	0,178
Grupo B	1.525 (820,9)		1.120 (500,4)		
sVCAM-1 >684 ng/mL, n (%)					
Grupo A	21 (95,5)	1,000	21 (95,5)	0,415	1,000
Grupo B	29 (93,5)		31 (100,0)		
sICAM-1 (ng/mL), mediana (RIQ)					
Grupo A	353,75 (167,69)	0,134	288,66 (126,94)	0,836	0,223
Grupo B	300,45 (89,45)		292,44 (66,68)		
sICAM-1 >459 ng/mL, n (%)					
Grupo A	5 (22,7)	0,071	2 (9,1)	1,000	0,250
Grupo B	1 (3,2)		3 (9,7)		
sMPO (ng/mL), mediana (RIQ)					
Grupo A	4,98 (7,68)	0,021	4,86 (7,50)	0,290	0,309
Grupo B	2,71 (4,44)		3,47 (3,56)		
sMPO >1,98 ng/mL, n (%)					
Grupo A	16 (94,1)	0,629	13 (76,5)	0,399	0,375
Grupo B	21 (87,5)		21 (87,5)		
sCD40L (pg/mL), mediana (RIQ)					
Grupo A	3.494 (7.240)	0,899	6.758 (4.422)	0,864	0,024
Grupo B	3.079 (5.878)		7.153 (3.981)		
sCD40L >4.700 pg/mL, n (%)					
Grupo A	7 (31,8)	0,781	18 (81,8)	1,000	0,003
Grupo B	11 (35,5)		26 (83,9)		
IL-6 (pg/mL), mediana (RIQ)					
Grupo A	2,47 (5,91)	0,283	1,11 (1,80)	0,546	0,058
Grupo B	1,95 (2,64)		1,81 (2,58)		
IL-6 >1,5 pg/mL, n (%)					
Grupo A	15 (68,2)	0,606	9 (39,1)	0,253	0,070
Grupo B	19 (61,3)		17 (54,8)		
PCR(mg/dL), mediana (RIQ)					
Grupo A	0,58 (2,10)	0,607	0,24 (0,44)	0,097	0,002
Grupo B	0,52 (0,82)		0,34 (0,73)		
PCR >0,3 mg/dL, n (%)					
Grupo A	13 (59,1)	0,518	8 (36,4)	0,272	0,125
Grupo B	21 (67,7)		16 (51,6)		
FvW:Ag (U/mL), media ± DE					
Grupo A	1,19 ± 0,63	0,587	0,98 ± 0,29	0,002	0,157
Grupo B	1,29 ± 0,53		1,32 ± 0,34		
FvW:Ag >1,36 UI/mL, n (%)					
Grupo A	8 (47,1)	0,853	1 (5,9)	0,001	0,016
Grupo B	12 (50,0)		13 (54,2)		

PERFIL LIPÍDICO

Los resultados obtenidos en cuanto al perfil lipídico se refiere, y que se comentan en este apartado, están todos ellos detallados en la Tabla 20.

El grupo B presentó valores más elevados de cLDL tanto en brote (Figura 11) como en remisión (Figura 12), presentando mayor porcentaje de valores patológicos durante el brote y durante la remisión (Figura 13).

Similar comportamiento mostró CT (Figura 14 y Figura 15), presentando sólo en remisión mayor número de pacientes con cifras de CT patológico respecto a ninguno que presentó el grupo A (38,7% versus 0,0% $p=0,001$) (Figura 13). Los pacientes del grupo A presentaron mayor proporción de valores patológicos de CT durante el brote que durante la remisión (Figura 13).

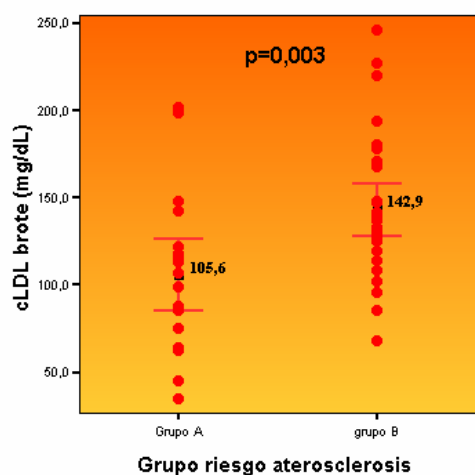


Figura 11 Valores de cLDL en brote en función del grupo de riesgo de aterosclerosis. El grupo B presentó valores mayores que el grupo A. Las barras de error localizan la media y el IC95% de la media (en base al error estándar de la media).

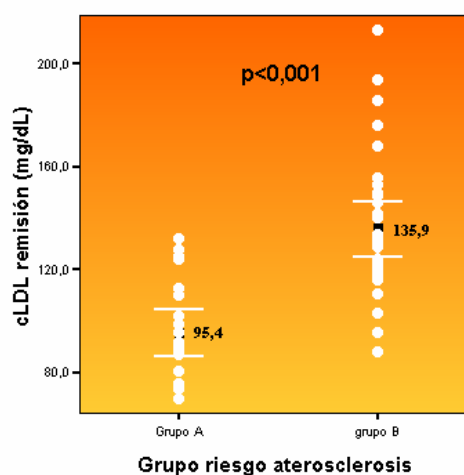
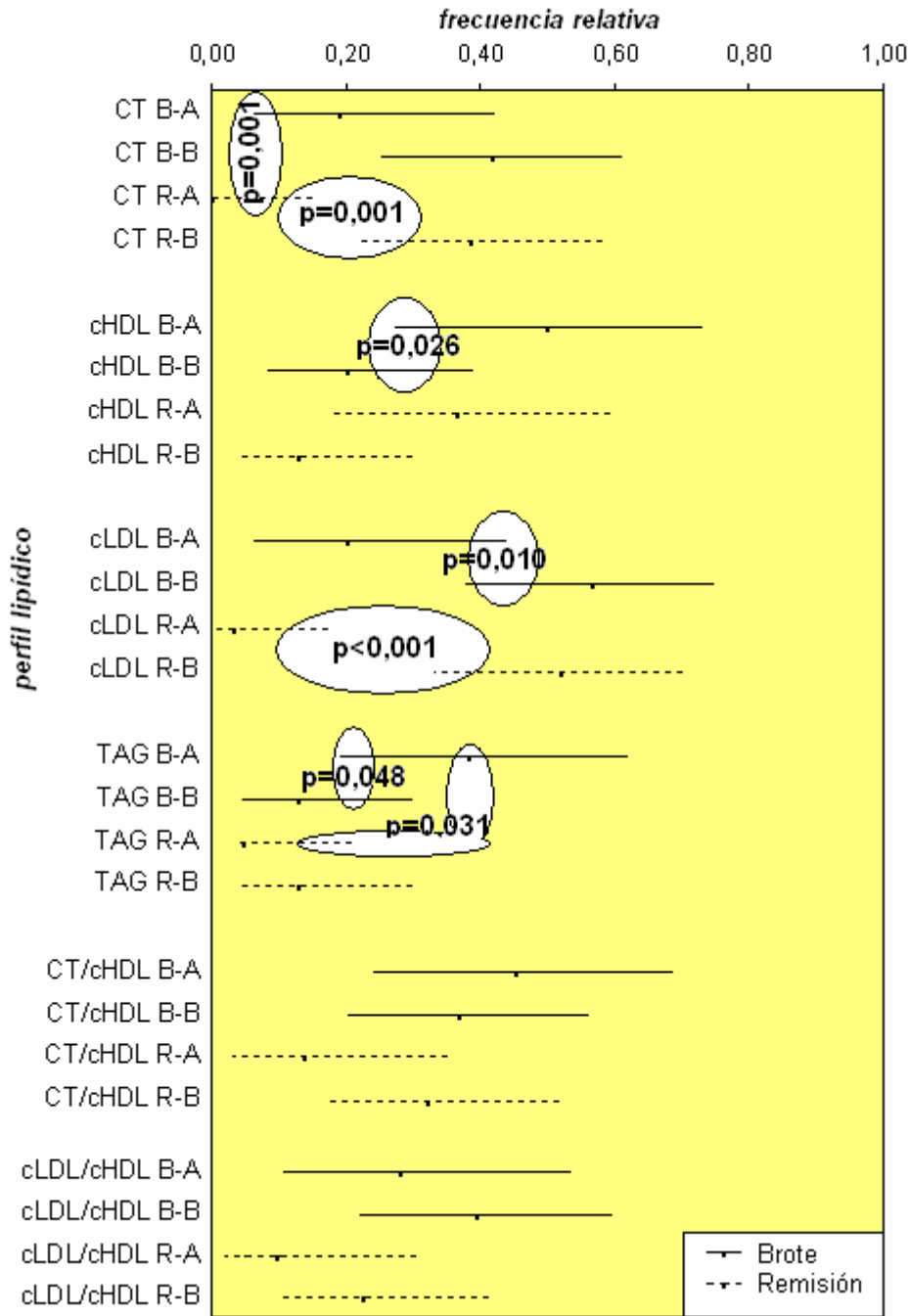


Figura 12 Valores de cLDL en remisión en función del grupo de riesgo de aterosclerosis. El grupo B presentó valores mayores que el grupo A. Las barras de error localizan la media y el IC95% de la media (en base al error estándar de la media).



B-A: brote, grupo A; B-B: brote, grupo B; R-A: remisión, grupo A; R-B: remisión, grupo B.

Figura 13 Frecuencia relativa de pacientes con valores anormales de las diferentes variables que valoran el perfil lipídico para cada grupo de pacientes.

Las elipses unen proporciones de valores patológicos diferentes estadísticamente. Dentro de la elipse se describe el valor significativo de p . Las líneas horizontales representan los IC del 95% con el punto grueso marcando el porcentaje obtenido en nuestros pacientes, en brote (línea continua) y en remisión (línea discontinua).

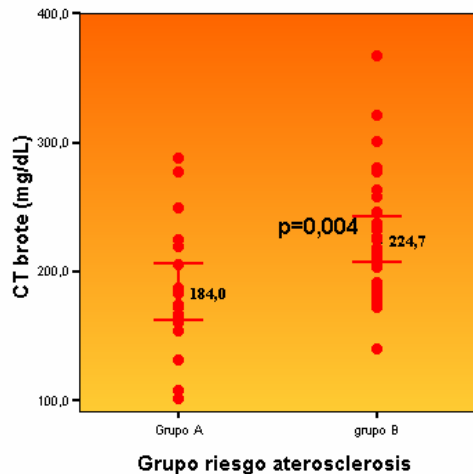


Figura 14 Valores de CT en brote en función del grupo de riesgo de aterosclerosis. El grupo B presenta valores mayores que el grupo A. Las barras de error localizan la media y el IC95% de la media (en base al error estándar de la media).

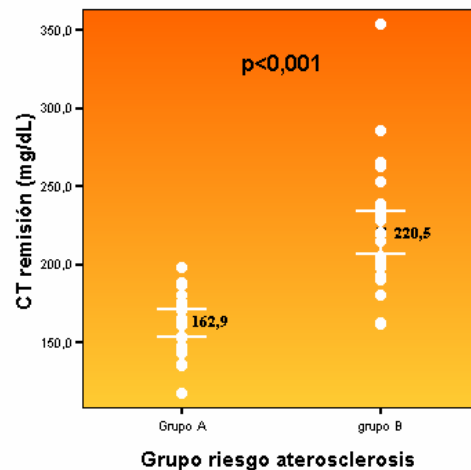


Figura 15 Valores de CT en remisión en función del grupo de riesgo de aterosclerosis. El grupo B presenta valores mayores que el grupo A. Las barras de error localizan la media y el IC95% de la media (en base al error estándar de la media).

Los pacientes del grupo B tuvieron valores medianos más elevados de triglicéridos durante la remisión que los pacientes del grupo A (Figura 16), pues los pacientes del grupo A disminuyeron los valores de TAG en remisión (Figura 17) y fueron los del grupo A, los que presentaron mayor proporción de pacientes con cifras de TAG patológicas durante el brote respecto a los pacientes del grupo B en brote y respecto a sí mismos en situación de remisión (Figura 13). Al analizar sólo los pacientes del grupo A, observamos correlación estadística y gráficamente significativa entre actividad de la enfermedad cuantificada por SLEDAI y valores de TAG ($r=0,502$ $p=0,020$). La correlación obtenida se confirma en la Figura 18.

Fueron también los pacientes del grupo B aquéllos con valores mayores de cociente cLDL/cHDL en remisión (Figura 19) y también de cociente CT/HDL en remisión (Figura 20). Este último cociente, en los pacientes del grupo A mejoró en remisión (Figura 21). Durante el brote, fueron los pacientes del grupo A los que presentaron mayor porcentaje de valores de TAG patológicos (Figura 13).

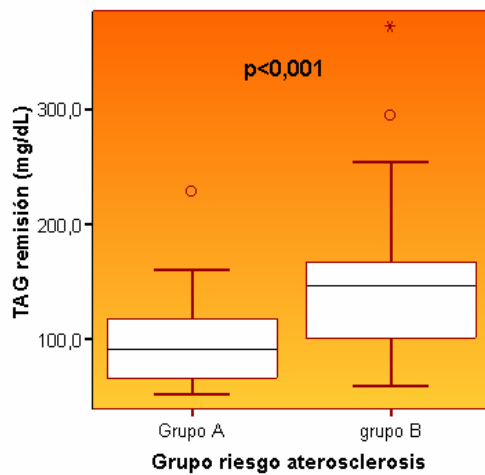


Figura 16 Valores de TAG en remisión en función del grupo de riesgo de aterosclerosis. El grupo B presentó valores mayores que el grupo A. Las barras de error localizan la media y el IC95% de la media (en base al error estándar de la media).

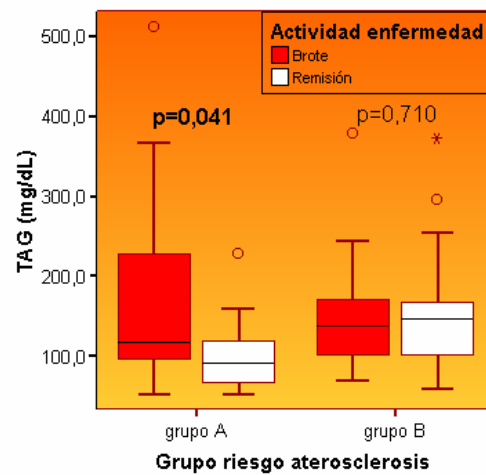


Figura 17 Valores de TAG en función del grupo de riesgo de aterosclerosis en brote y remisión. El grupo A presentó en remisión valores menores de TAG que en brote.

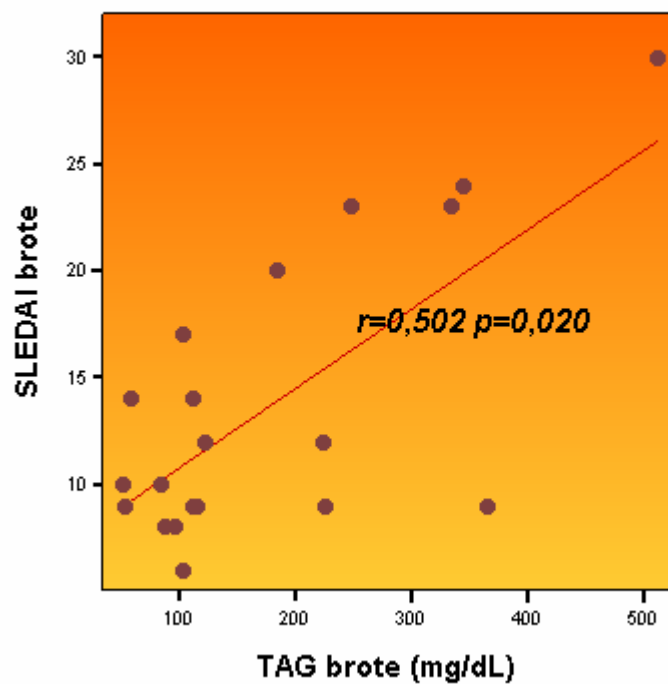


Figura 18 Correlación entre valores de TAG y puntuación de SLEDAI en grupo A. Los pacientes del grupo A mostraron correlación positiva entre los valores de TAG y la puntuación de SLEDAI.

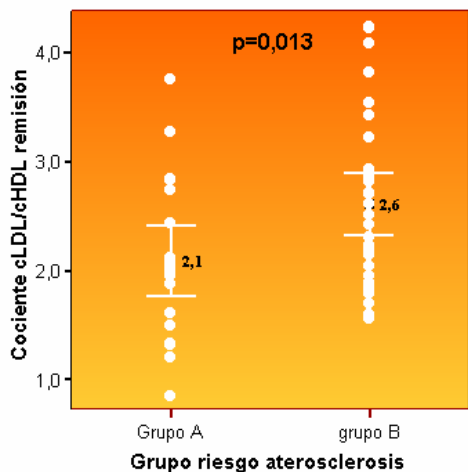


Figura 19 Valores de cociente cLDL/cHDL en remisión en función del grupo de riesgo de aterosclerosis.

El grupo B presentó valores mayores que el grupo A. Las barras de error localizan la media y el IC95% de la media (en base al error estándar de la media).

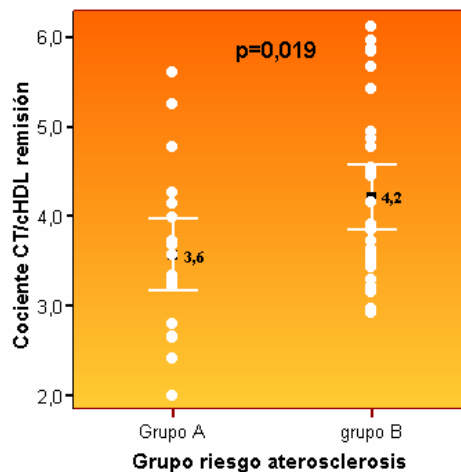


Figura 20 Valores de cociente CT/cHDL en remisión en función del grupo de riesgo de aterosclerosis.

El grupo B presentó valores mayores que el grupo A. Las barras de error localizan la media y el IC95% de la media (en base al error estándar de la media).

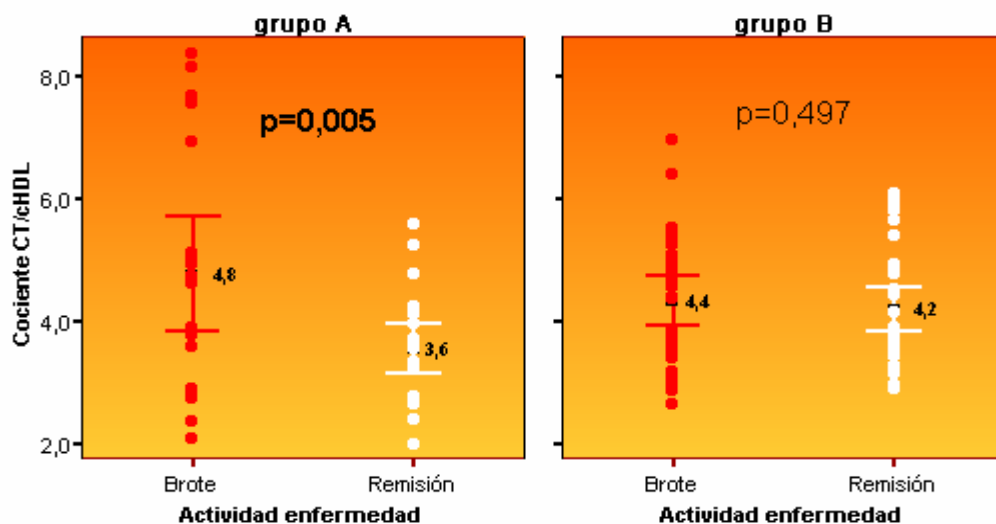


Figura 21 . Valores de cociente CT/cHDL en función del grupo de riesgo de aterosclerosis en brote y remisión.

En el grupo A los valores fueron menores durante la remisión que durante el brote. Las barras de error localizan la media y el IC95% de la media (en base al error estándar de la media).

A su vez, los pacientes del grupo A, presentaron durante el brote valores menores de cHDL que los pacientes del grupo B (Figura 22), y también mostraron mayor porcentaje de pacientes con valores patológicos de cHDL durante el brote (Figura 13). Al analizar sólo los pacientes del grupo A, observamos correlación estadística y gráficamente significativa entre actividad de la enfermedad cuantificada por SLEDAI y valores de cHDL ($r=-0,554$ $p=0,011$). La correlación obtenida se confirma en la Figura 23.

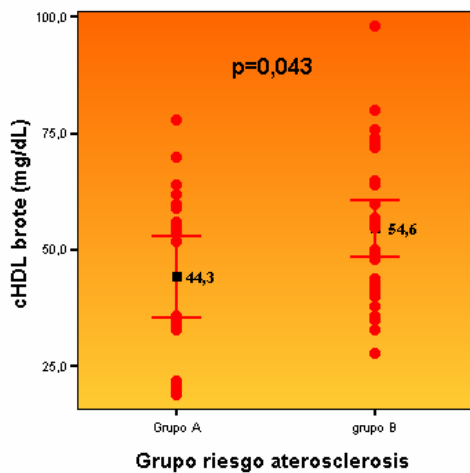


Figura 22 Valores de cHDL en brote en función del grupo de riesgo de aterosclerosis. El grupo A presentó valores menores que el grupo B. Las barras de error localizan la media y el IC95% de la media (en base al error estándar de la media).

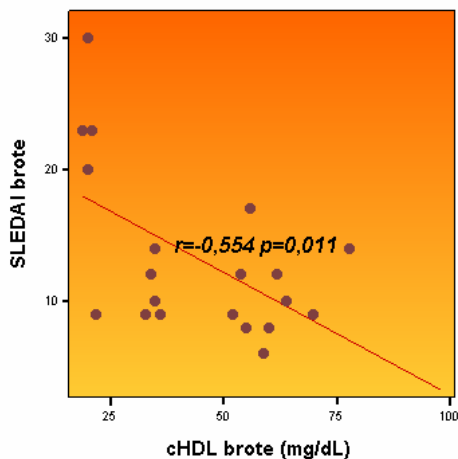


Figura 23 Correlación entre valores de cHDL y puntuación de SLEDAI en grupo A. Los pacientes del grupo A mostraron correlación negativa entre los valores de cHDL y la puntuación de SLEDAI.

BIOMARCADORES

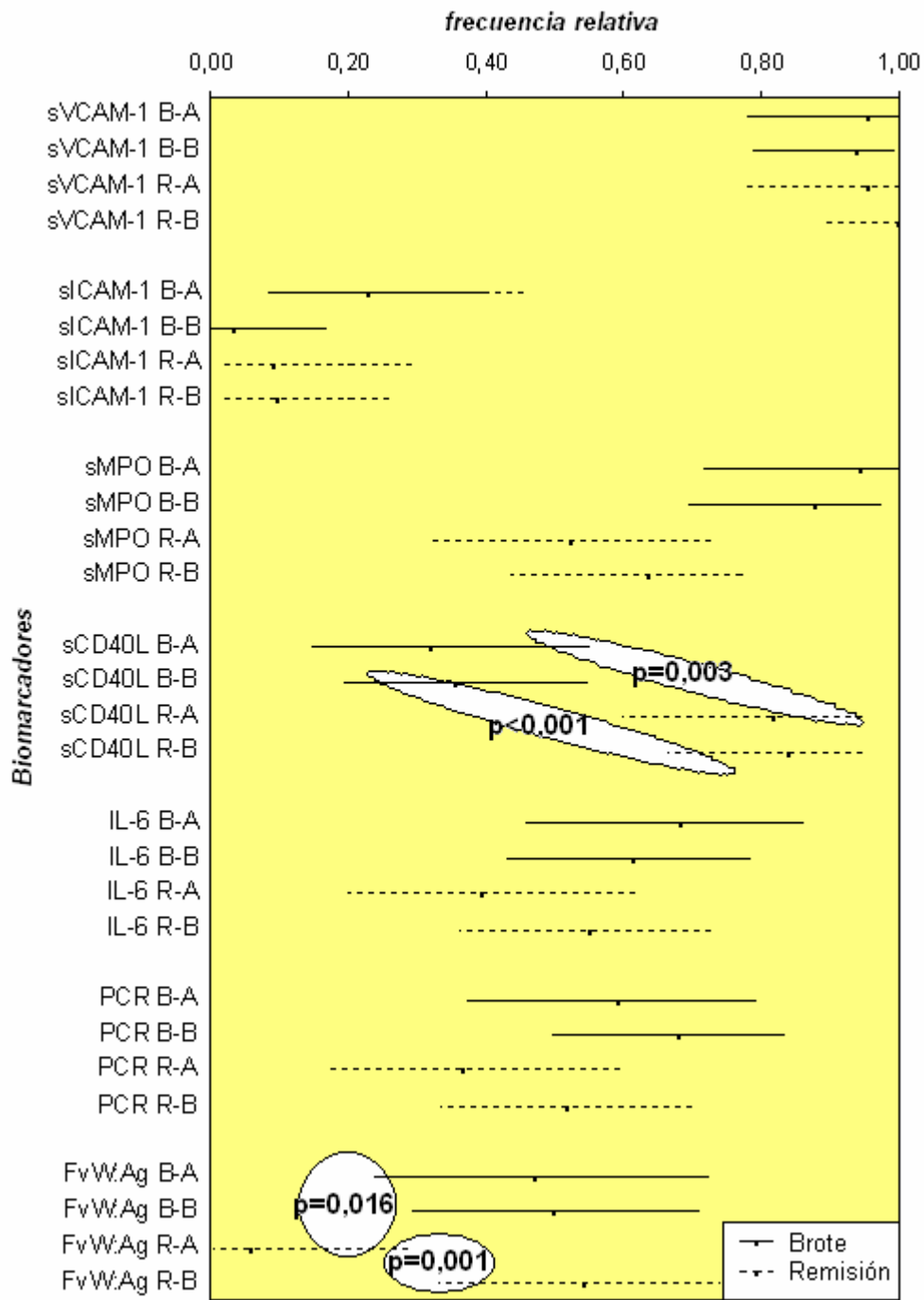
Los resultados obtenidos en cuanto a biomarcadores se refiere, y que se comentan en este apartado, están todos ellos detallados en la Tabla 21.

El comportamiento de la variable sCD40L fue homogéneo en los 2 grupos de pacientes, presentando valores mayores en remisión que en brote (Figura 25), y también mayor porcentaje de “valores elevados” en remisión que en brote (Figura 24).

Sólo el grupo B presentó valores más elevados en brote que en remisión para sVCAM-1 (Figura 26) y sólo el grupo A mostró valores menores en remisión que en brote para PCR (Figura 27).

Al evaluar si en el grupo A los valores de PCR en brote correlacionaban con la actividad de la enfermedad (SLEDAI, ratio anticuerpos anti-dsDNA y fracciones del complemento), no encontramos significación estadística. Sin embargo, sí encontramos correlación estadística y gráficamente significativa entre los valores de IL-6 y PCR en la situación de brote ($r=0,501$ $p=0,018$) y en la situación de remisión ($r=0,463$ $p=0,030$). Como dicha correlación había sido detectada también en el análisis del grupo global, quisimos averiguar el comportamiento de ambas variables en el grupo B confirmando la persistencia de correlación entre IL-6 y PCR tanto en brote ($r=0,625$ $p<0,001$), como en remisión ($r=0,607$ $p<0,001$). No presentaron valores más elevados de PCR los pacientes del grupo A que presentaron fiebre durante el brote, que aquéllos que se mantuvieron apiréticos ($p=0,243$). Al analizar si en el grupo B los valores de sVCAM-1 en brote correlacionaban con actividad de la enfermedad (SLEDAI, ratio anticuerpos anti-dsDNA y fracciones del complemento), encontramos significación gráfica y estadísticamente significativa con el ratio anticuerpos anti-dsDNA ($r=0,537$ $p=0,002$) y con niveles de complemento C3 ($r=-0,467$ $p=0,008$). Las correlaciones obtenidas se muestran en la Figura 28 y Figura 29. No se objetivó correlación en el grupo B entre valores de sVCAM-1 en remisión y ratio anticuerpos anti-dsDNA en remisión ($r=0,054$ $p=0,778$), ni con niveles de complemento C3 en remisión ($r=-0,316$ $p=0,083$).

Dado que en el análisis global se había observado correlación entre sVCAM-1 y niveles de complemento C3, quisimos averiguar si dicha correlación también se cumplía en el grupo A, confirmando la no significación estadística en dicho grupo ($r=-0,383$ $p=0,078$). Tampoco se observó correlación en el grupo A entre sVCAM-1 en brote y ratio anticuerpos anti-dsDNA en brote ($r=0,355$ $p=0,114$).



B-A: brote, grupo A; B-B: brote, grupo B; R-A: remisión, grupo A; R-B: remisión, grupo B

Figura 24 Frecuencia relativa de pacientes con “valores elevados” de biomarcadores para cada grupo de pacientes.

Las elipses unen proporciones de “valores elevados” diferentes estadísticamente. Dentro de la elipse se describió el valor significativo de *p*. Las líneas horizontales representan los IC del 95% con el punto grueso marcando el porcentaje obtenido en nuestros pacientes, en brote (línea continua) y en remisión (línea discontinua).

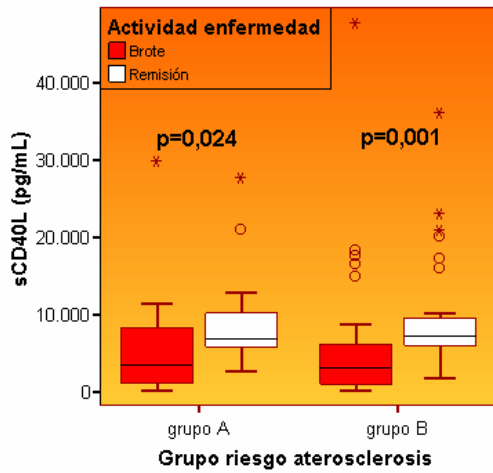


Figura 25 Valores de sCD40L en función del grupo de riesgo de aterosclerosis en brote y remisión. En ambos grupos los valores en remisión fueron mayores a los del brote.

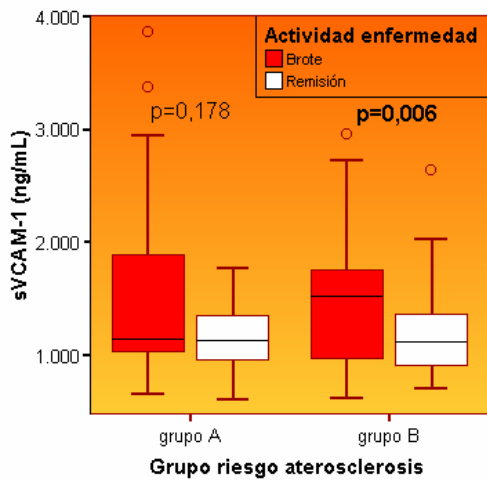


Figura 26 Valores de sVCAM-1 en función del grupo de riesgo de aterosclerosis en brote y remisión. En el grupo B los valores de sVCAM-1 fueron mayores en brote que en remisión.

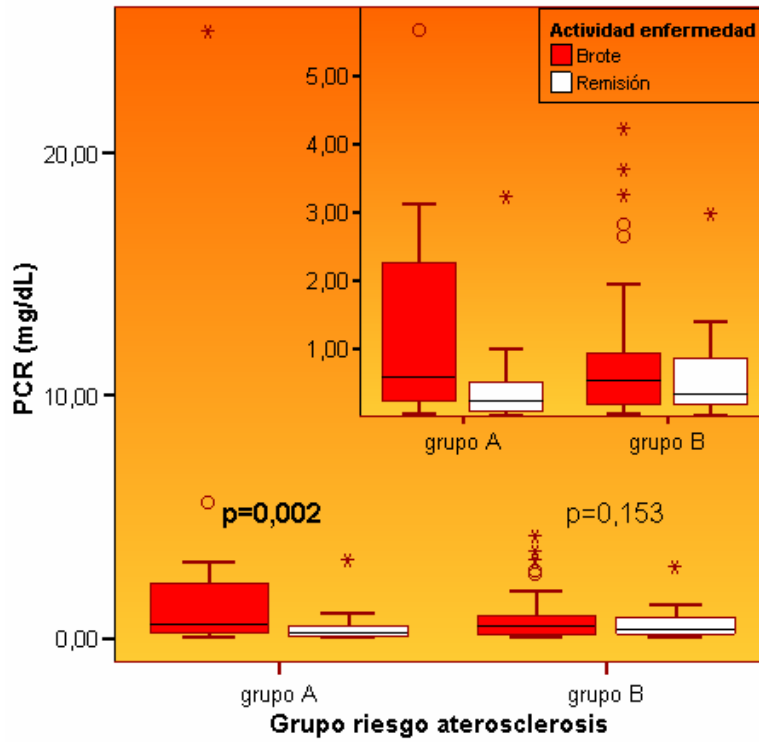


Figura 27 Valores de PCR en función del grupo de riesgo de aterosclerosis en brote y remisión. Se amplió la imagen en el recuadro insertado excluyendo un único valor extremo. Observamos que sólo el grupo A presentó valores menores en remisión que en brote.

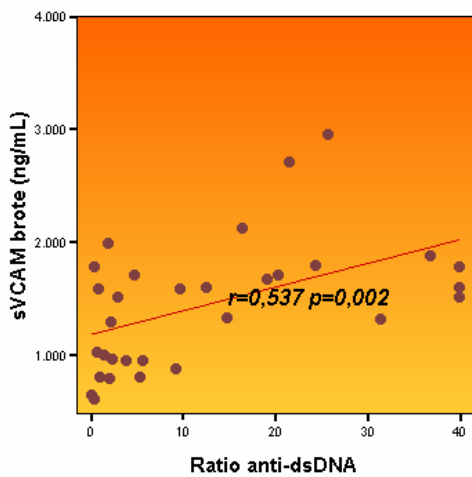


Figura 28 Correlación entre sVCAM-1 y ratio anticuerpos anti-DNA en grupo B. Los pacientes del grupo B mostraron correlación positiva entre los valores de sVCAM-1 y el ratio anti-dsDNA.

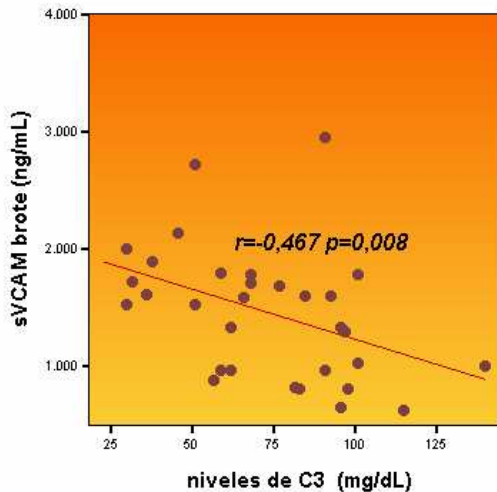


Figura 29 Correlación entre sVCAM-1 y niveles de complementemia C3 en grupo B. Los pacientes del grupo B mostraron correlación negativa entre los valores de sVCAM-1 y los niveles de complemento C3

En situación de brote, el grupo B presentó valores menores de sMPO que el grupo A (Figura 30).

En situación de remisión, el grupo B mostró valores más elevados de FvW:Ag que el grupo A (Figura 31) y a su vez también presentó mayor porcentaje de “valores elevados” en situación de remisión que el grupo A (Figura 24). En remisión, el grupo A presentó menor porcentaje de “valores elevados” de FvW:Ag que durante el brote (Figura 24). Cuando repetimos el análisis comparativo entre los dos grupos de pacientes en situación de remisión, excluyendo del análisis aquellos pacientes con criterios de insuficiencia renal en remisión, se seguían observando valores de FvW:Ag en el grupo B superiores a los del grupo A ($1,28 \pm 0,35$ versus $0,96 \pm 0,29$ $p=0,007$), de la misma forma que tras excluir del análisis a aquellos pacientes con nefropatía persistente en remisión ($1,26 \pm 0,36$ versus $0,95 \pm 0,30$ $p=0,020$).

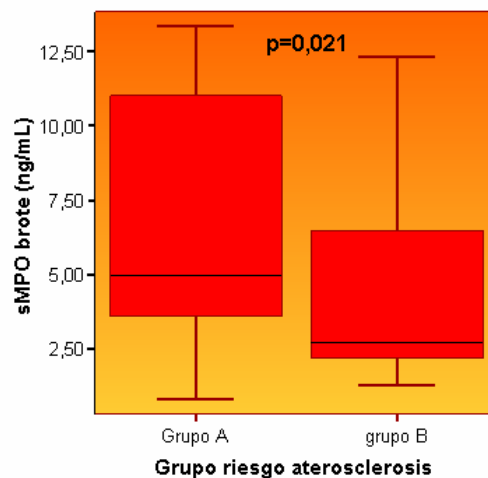


Figura 30 Valores de sMPO durante el brote en función del grupo de riesgo de aterosclerosis. Objetivamos que los pacientes del grupo B presentaron valores menores de sMPO que los del grupo A.

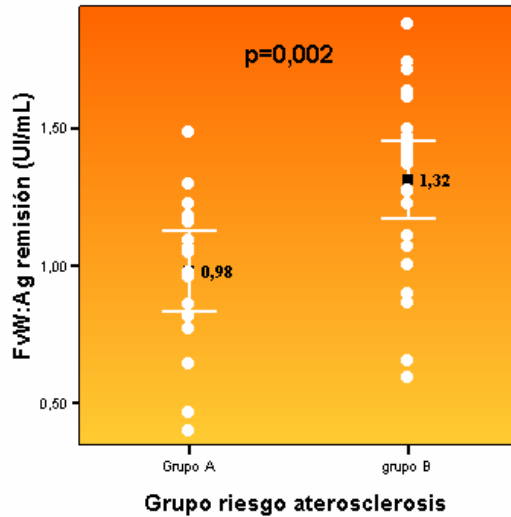
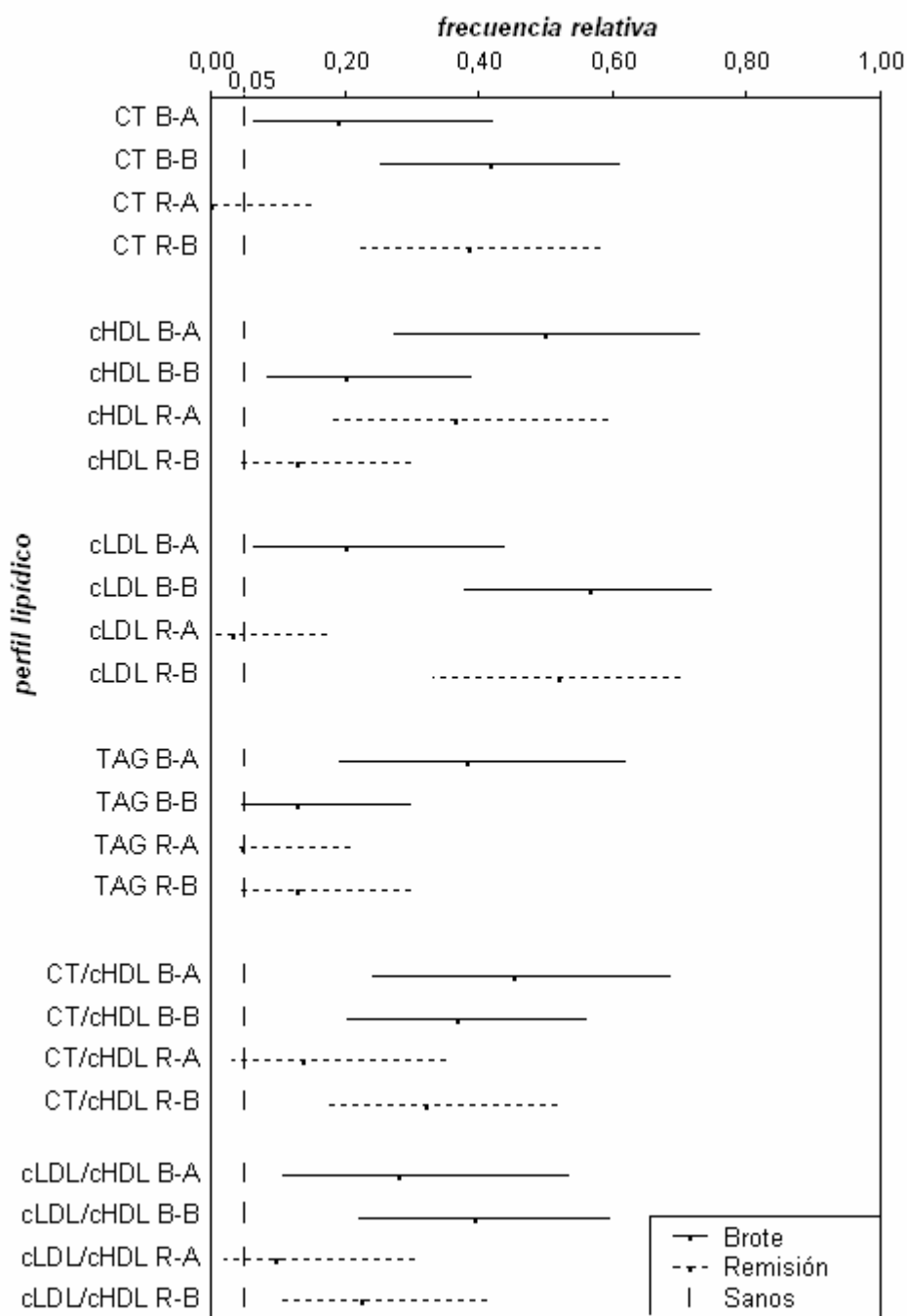


Figura 31 Valores de FvW:Ag en remisión en función del grupo de riesgo de aterosclerosis. El grupo B presentó valores mayores que el grupo A. Las barras de error localizan la media y el IC95% de la media (en base al error estándar de la media).

4.4.2 PORCENTAJE DE VALORES PATOLOGICOS DE PERFIL LIPIDICO EN LOS GRUPOS A Y B COMPARADOS CON LOS ESPERADOS EN POBLACION SANA

Para valorar en cada grupo de pacientes (A y B) el diferente comportamiento de los parámetros usados para describir el perfil lipídico, en relación a la población sana, calculamos el porcentaje de pacientes con valores patológicos y obtuvimos el IC del 95% para dicho porcentaje en función del tamaño de la muestra. Con estos datos, creamos la Figura 32 donde las líneas verticales representan la proporción de valores anormales esperados en población sana. Las líneas horizontales representan los IC del 95% con el punto grueso marcando el porcentaje obtenido en nuestros pacientes, en brote (línea continua) y en remisión (línea discontinua). Observamos que los pacientes del grupo A en brote, presentaron para todos los parámetros del perfil lipídico porcentajes superiores de valores patológicos que la población sana, mientras que en remisión, tuvieron para todos los parámetros valores dentro del límite de los esperados en población sana (excepto para cHDL). Los pacientes del grupo B presentaron porcentajes de valores patológicos dentro de los límites esperados en población sana sólo para la variables TAG (tanto en brote como en remisión) y cHDL (sólo durante la remisión)



B-A: brote, grupo A; B-B; brote, grupo B; R-A: remisión, grupo A; R-B: remisión, grupo B.

Figura 32 Frecuencia relativa de pacientes con valores patológicos de las diferentes variables que valoran el perfil lipídico para cada grupo de pacientes.

Las líneas horizontales representan la proporción de valores anormales esperados en población sana. Las líneas verticales representan los IC del 95% con el punto grueso marcando el porcentaje obtenido en nuestros pacientes, en brote (línea continua) y en remisión (línea discontinua).

4.4.3 PORCENTAJE DE VALORES ELEVADOS DE BIOMARCADORES EN LOS GRUPOS A Y B COMPARADOS CON LOS ESPERADOS EN POBLACION SANA

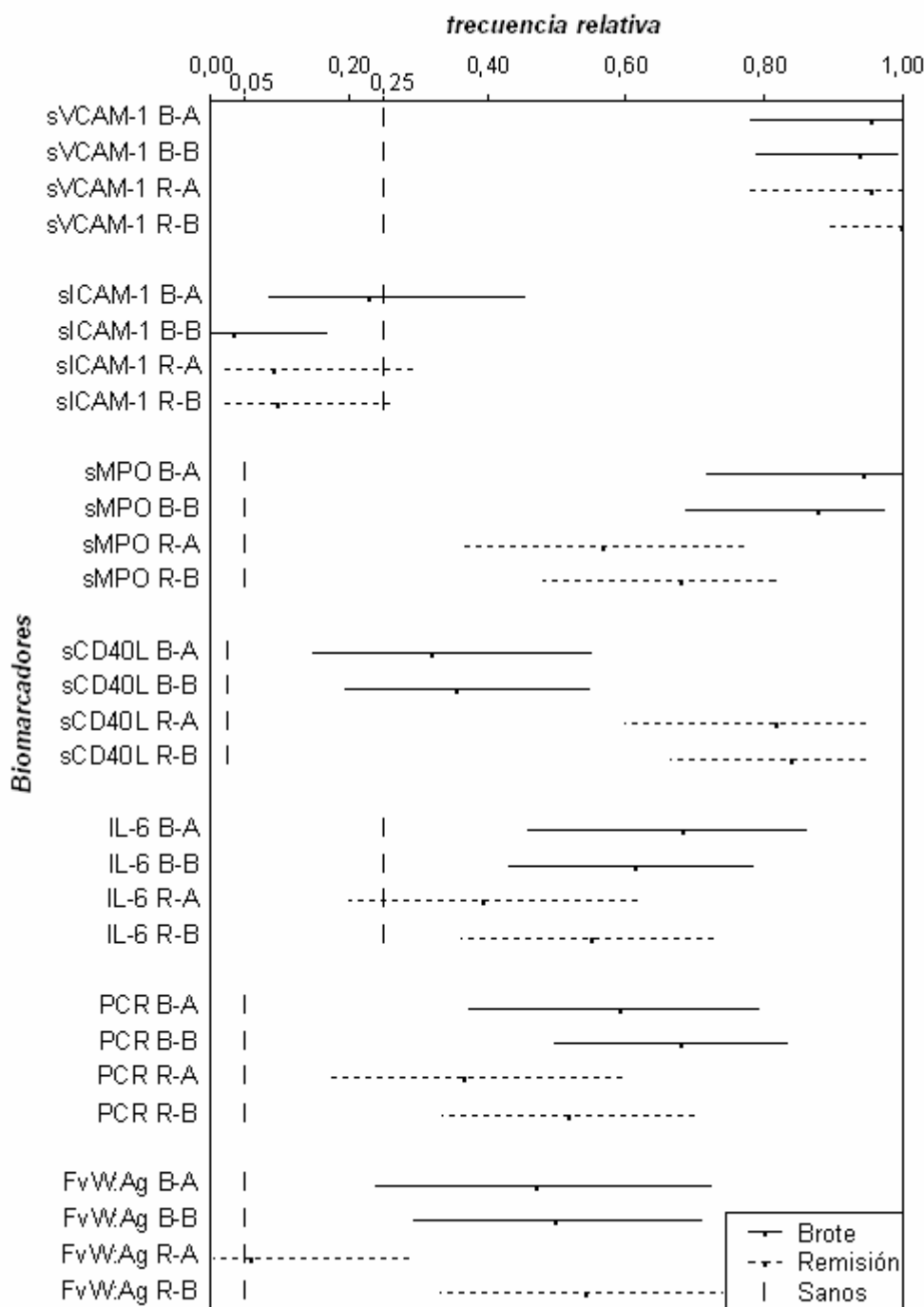
Para valorar en cada grupo de pacientes (A y B) el diferente comportamiento de los biomarcadores, en relación a la población sana, calculamos el porcentaje de pacientes con “valores elevados” y obtuvimos el IC del 95% para dicho porcentaje en función del tamaño de la muestra. Con estos datos, creamos la Figura 33, donde las líneas verticales representan la proporción de “valores elevados” esperados en población sana. Las líneas horizontales representan los IC del 95% con el punto grueso marcando el porcentaje obtenido en nuestros pacientes, en brote (línea continua) y en remisión (línea discontinua). El comportamiento de la variable sICAM-1 se repitió independientemente del grupo al que pertenecían los pacientes. Tanto en brote como en remisión los pacientes presentaron una proporción de “valores elevados” de sICAM-1 similar a la esperada en la población sana. Para el resto de biomarcadores ambos grupos mostraron proporciones de “valores elevados” superiores a los esperados en población sana, excepto en el grupo A en remisión para las variables IL-6 (0,3913 IC95% 0,1971-0,6146) y FvW:Ag (0,0588 IC95% 0,0015-0,2869).

4.4.4 OTROS ANÁLISIS

- 1) Dispusimos de las muestras de suero de una misma paciente en 2 brotes sucesivos (con dos periodos de remisión tras los brotes). La paciente pertenecía al grupo B en ambas remisiones. De acuerdo con el grupo B presentó en brote valores mayores de sVCAM que en remisión en los 2 episodios (Tabla 22). Siendo tanto en brote como en remisión valores similares a las medianas del grupo B (Tabla 21).

Tabla 22 .Valores de sVCAM-1 en brote y remisión en los 2 episodios.

Episodios	Brote	Remisión
Primer episodio, valores de sVCAM-1 (ng/mL)	1.786	842
Segundo episodio, valores de sVCAM-1 (ng/mL)	1.603	1.152



B-A: brote, grupo A; B-B; brote, grupo B; R-A: remisión, grupo A; R-B: remisión, grupo B.

Figura 33 Frecuencia relativa de pacientes con “valores elevados” de los biomarcadores para cada grupo de pacientes.

Las líneas verticales representan la proporción de “valores elevados” esperados en población sana. Las líneas horizontales representan los IC del 95% con el punto grueso marcando el porcentaje obtenido en nuestros pacientes, en brote (línea continua) y en remisión (línea discontinua).

- 2) Dado que en la literatura previa se han descrito valores menores de sMPO en pacientes con LES¹⁷⁶, valoramos para la variable sMPO si existía mayor proporción de pacientes con valores menores a los esperados en población sana. Las frecuencias relativas de “valores bajos” en brote fueron de 0% y en remisión de 2,4% (1/41), evidenciando que nuestros pacientes no presentaron mayor proporción de “valores bajos” que los esperados en la población sana (5%).
- 3) Podríamos plantear que tal vez el brote renal fuese la causa del aumento de sVCAM-1 en los pacientes del grupo B (pues en el grupo B había más pacientes con brote renal que en el grupo A) y característicamente sVCAM-1 se ha asociado a nefropatía. Analizamos sólo los pacientes con brote renal en el grupo A (11 pacientes) y en el grupo B (23 pacientes). Mientras que en el grupo A los valores de sVCAM-1 en el brote (1.207 (975,22) ng/mL) no difirieron de forma estadísticamente significativa de los valores de sVCAM-1 en remisión (1.142 (389,35) ng/mL $p=0,091$), en el grupo B los valores de sVCAM-1 en el brote (1.596 (783,20) ng/mL) fueron mayores de forma estadísticamente significativa que los valores de sVCAM-1 en remisión (1.141 (577,46) ng/mL $p=0,006$). Así pues, los pacientes con nefropatía presentaron comportamiento de sVCAM-1 homogéneo al grupo al que pertenecían.
- 4) De igual manera, podríamos plantear que tal vez el recibir tratamiento con micofenolato/azatioprina durante la remisión fuese la causa del aumento de sVCAM-1 en los pacientes del grupo B (pues presentó más pacientes en tratamiento con micofenolato/azatioprina en remisión que el grupo A). Analizamos sólo los pacientes en tratamiento con micofenolato/azatioprina en el grupo A (8 pacientes) y en el grupo B (24 pacientes). Mientras que en el grupo A los valores de sVCAM-1 en el brote (1.252 (835,34) ng/mL) no difirieron de forma estadísticamente significativa de los valores de sVCAM-1 en remisión (1.177 (179,88) ng/mL $p=0,161$), en el grupo B los valores de sVCAM-1 en el brote (1.600 (711,88) ng/mL) fueron mayores de forma estadísticamente significativa que los valores de sVCAM-1 en remisión (1.168 (584,60) ng/mL $p=0,003$). Así pues los pacientes con micofenolato/azatioprina presentaron comportamiento de sVCAM-1 homogéneo al grupo al que pertenecían.
- 5) Con la variable nefropatía persistente, asociada claramente al grupo B, no pudimos repetir el análisis practicado hasta el momento, pues en el grupo A tan solo hubo un paciente con nefropatía persistente. Para descartar la posibilidad de que el comportamiento encontrado para sVCAM-1 entre el brote y la remisión fuera consecuencia de la variable nefropatía persistente realizamos el análisis que se

muestra en la Tabla 23. Objetivamos que el hecho de presentar nefropatía persistente no explicaba por sí sola en el grupo B los valores de sVCAM-1 mayores en brote que en remisión, pues los pacientes sin nefropatía persistente también presentaban dicho comportamiento.

Tabla 23 Cambio en sVCAM-1 en función de la variable nefropatía persistente.

BIOMARCADOR	Brote	Remisión	Valor de p
sVCAM-1 , mediana (RIQ)			
Nefropatía persistente*	1.560 (828,91)	1.142 (318,75)	0,022
No nefropatía persistente*	1.314 (819,23)	1.116 (478,03)	0,014

*Nefropatía persistente (Brote renal y en remisión presencia de proteinuria >1.000 mg/24h y/o aclaramiento de creatinina <60 mL/min/1,73 m², 14 pacientes); no nefropatía persistente (no brote renal o brote renal sin presencia en remisión de proteinuria >1.000 mg/24h ni aclaramiento de creatinina <60 mL/min/1,73 m², 39 pacientes).

- 6) A su vez, para discernir si el porcentaje de pacientes con valores del perfil lipídico en el rango patológico no se hallaba sólo asociado a pertenecer o no al grupo de riesgo de aterosclerosis (A o B), sino a haber presentado o no brote renal, repetimos el análisis de valores patológicos calculando el IC del 95% para ambos grupos pero sólo considerando aquellos pacientes que habían presentado brote renal para el grupo A y sólo considerando aquellos pacientes que no presentaron brote renal para el grupo B. Los pacientes del grupo A con brote renal, presentaron más valores patológicos de los esperados en población sana para las variables cHDL en brote (6/11; 0,5455 IC 95% 0,2338-0,8325) y en remisión (4/11; 0,3636 IC 95% 0,1093-0,6921), cLDL en brote (3/11; 0,2727 IC 95% 0,0602-0,6097), TAG en brote (4/11; 0,3636 IC 95% 0,1093-0,6921), cociente CT/cHDL en brote (5/11; 0,4545 IC 95% 0,1675-0,7662) y en remisión (3/11; 0,2727 IC 95% 0,0602-0,6097), así como cociente cLDL/cHDL en brote (4/11; 0,3636 IC 95% 0,1093-0,6921); presentando frecuencia relativa de valores patológicos dentro de lo esperable para una población sana de CT en brote (2/11; 0,1818 IC 95% 0,0228-0,5178) y en remisión (0/11; 0,000 IC 95% 0,0000-0,2849) y sólo en remisión de cLDL (1/11; 0,0909 IC 95% 0,0023-0,4128), TAG (1/11; 0,0909 IC 95% 0,0023-0,4128) y cociente cLDL/cHDL (2/11; 0,1818 IC 95% 0,0228-0,5178). Los pacientes del grupo B sin brote renal, presentaron más valores patológicos de los esperados en población sana para las variables CT en brote (3/8; 0,3750 IC 95% 0,0852-0,7551) y cLDL en brote (3/8; 0,3750 IC 95% 0,0852-0,7551) y en remisión (3/8; 0,3750 IC 95% 0,0852-0,7551). Para el resto de porcentajes los valores patológicos estuvieron dentro de lo esperado para la población sana.

CAPÍTULO 5

sCD40L

5.1 VALORES DE sCD40L EN REMISIÓN MAYORES QUE EN BROTE

Como ya se ha expuesto en el capítulo 3, nuestros pacientes presentaron valores mayores de sCD40L durante la remisión que durante el brote (Tabla 12, Figura 7).

La mayoría de los pacientes (39 pacientes, 73,6%) presentaron diferencias negativas en la variable “sCD40L diferencias” (calculada para cada paciente como sCD40L en brote – sCD40L en remisión) (Figura 34). En la Figura 34, observamos también que las diferencias no guardaron relación con el valor medio que adoptó la variable sCD40L (calculado para cada paciente como valor en brote + valor en remisión/2). Esta ausencia de correlación fue confirmada por la prueba de Spearman ($r=0,117$ $p=0,405$).

5.2 MODELO PREDICTIVO DE sCD40L MAYOR EN REMISIÓN QUE EN BROTE

Creamos 2 grupos de pacientes en función de los valores de sCD40L en remisión respecto al brote: unos que aumentaron los valores (variable “sCD40L diferencias” con valores negativos) y otros que disminuyeron (variable “sCD40L diferencias” con valores positivos). Ningún paciente mantuvo los mismos valores. Investigamos el modelo predictivo del grupo mayoritario, aquel que en remisión incrementó los valores de sCD40L respecto a los valores del brote.

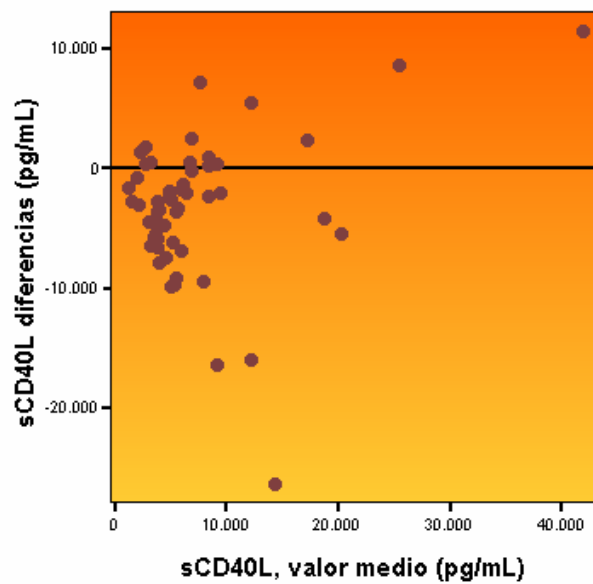


Figura 34 Gráfico de diferencia frente a media de la variable sCD40L.

Diferencias positivas indican disminución de la variable en remisión. Diferencias negativas indican aumento de la variable en remisión. Objetivamos que la mayoría de los pacientes tuvieron diferencias negativas, y esto ocurrió independientemente del valor medio.

En el análisis univariante fueron consideradas como variables a valorar todas aquellas recogidas en el estudio (y algunas que se construyeron a partir de las mismas). Encontramos relación estadísticamente significativa entre “sCD40L diferencias” negativas y las siguientes variables (Tabla 24):

- **en relación al momento de la extracción de la muestra en el brote:** número de plaquetas (al convertirla en variable cualitativa el punto de corte óptimo resultó ser plaquetas $\leq 192.000 \times 10^6/L$); dosis de prednisona superior a 15mg/día.
- **en relación al momento de la extracción de la muestra en remisión:** hiperfibrinogenemia ($>3,7$ g/L).
- **en relación a ambos (brote y remisión):** edad media (al convertirla en variable cualitativa el punto de corte óptimo fue ≥ 34 años); tiempo transcurrido desde el brote a la remisión superior a 550 días (1 año y medio); SLEDAI en remisión inferior al 80% del valor del SLEDAI en brote (disminución SLEDAI $<80\%$).

En el análisis multivariante (OR ajustado) sólo persistieron 3 variables en el modelo predictivo final (Tabla 24). A continuación se realiza un análisis detallado de cada una de ellas.

Tabla 24 Análisis crudo y ajustado para “sCD40L diferencias” con valores negativos (incremento de los valores en remisión).

Variables	OR _C	IC 95%	Valor de p	OR _A	IC 95%	Valor de p
Edad media ≥34 años	5,7	1,1 - 28,9	0,024			
Tiempo desde el brote a la remisión >550 días	8,1	1,0 – 68,6	0,041			
Disminución SLEDAI <80%	15,2	1,8 – 127,5	0,002	17,9	1,9 – 172,2	0,013
Brote:						
Plaquetas ≤192.000 x10⁶/L	10,0	1,2 – 84,5	0,020	9,6	1,0 – 98,1	0,056
Dosis prednisona >15 mg/día	9,0	1,1 – 76,2	0,022	14,2	1,4 – 141,5	0,023
Remisión:						
Fibrinógeno >3,7 g/L	4,6	1,2 – 17,3	0,033			

* **OR_C**: OR crudo= univariante; **OR_A** : OR ajustado= multivariante: modelo con 3 variables

5.2.1 DOSIS DE PREDNISONA >15 MG/DÍA EN BROTE

Los pacientes que en el momento de la extracción analítica del brote estaban recibiendo dosis de prednisona superiores a 15 mg/día, no presentaron valores de sCD40L brote inferiores a los que estaban recibiendo dosis de prednisona menores o iguales a 15 mg/día (2.599 (4.112) versus 3.727 (7.429) pg/mL $p=0,195$) y tampoco presentaron valores de sCD40L en remisión significativamente diferentes de los pacientes recibiendo menores dosis de prednisona (7.014 (3.358) versus 7.267(4.401) pg/mL $p=0,505$).

Los pacientes que en el momento de la extracción analítica del brote estaban recibiendo dosis de prednisona superiores a 15 mg/día, no presentaron mayores puntuaciones de SLEDAI durante el brote que los que estaban recibiendo dosis de prednisona menores o iguales a 15 mg/día ($15,9 \pm 6,1$ versus $13,6 \pm 5,4$ $p=0,166$), ni tampoco de SLEDAI durante la remisión ($3,0 \pm 2,0$ versus $2,5 \pm 1,6$ $p=0,366$).

Un mayor porcentaje de pacientes, que en el momento de la extracción analítica del brote estaban recibiendo dosis de prednisona superiores a 15 mg/día, habían iniciado ya el tratamiento del brote aumentando dosis de prednisona, versus pacientes que recibían ≤15 mg/día (15 (68,2%) versus 7 (31,8%) $p<0,001$). En base a estos resultados, analizamos los valores de sCD40L sólo en aquellos pacientes en los que se extrajo la muestra del brote sin haber iniciado tratamiento del brote. Objetivamos que persistían las diferencias en cuanto a los valores de sCD40L observadas en el grupo de estudio global entre el brote y la remisión (3.830 (7.198) versus 7.418 (3.847) pg/mL $p=0,001$).

Las dosis de prednisona recibidas en el momento de la extracción analítica del brote, no correlacionaron con el número de leucocitos en brote ($r=0,148$ $p=0,289$), ni con el número de linfocitos en brote ($r=-0,218$ $p=0,116$), ni tampoco con el número de plaquetas en brote ($r=0,061$ $p=0,666$). Tampoco objetivamos que los pacientes que estaban recibiendo dosis de prednisona superiores a 15 mg/día en el momento de la extracción analítica del brote, presentaran en ese momento respecto a los pacientes recibiendo ≤ 15 mg/día, mayor linfopenia (10/17 (58,8%) versus 19/37 (51,4%) $p=0,609$), ni leucopenia (2/17 (11,8%) versus 2/37 (5,4%) $p=0,582$), ni se asociaron a conteaje de plaquetas $\leq 192.000 \times 10^6/L$ en el brote (5/17 (29,4%) versus 13/37 (35,1%) $p=0,679$); sin embargo, sí presentaron mayor trombopenia que los pacientes recibiendo dosis de prednisona inferiores (3/17 (17,6%) versus 0/37 (0,0%) $p=0,027$).

5.2.2 PLAQUETAS $\leq 192.000 \times 10^6/L$ EN BROTE

La selección de esta cantidad de plaquetas la realizamos tras observar la Figura 35. En ella valoramos sCD40L diferencias y los valores que adoptaron las plaquetas. Observamos que ninguno de los pacientes con sCD40L diferencias positivas presentó plaquetas $< 192.000 \times 10^6/L$.

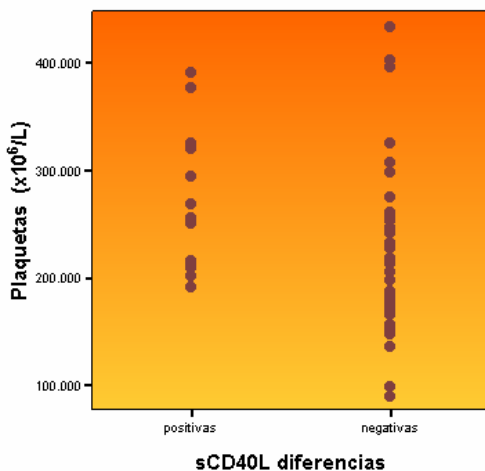


Figura 35 sCD40L diferencias y plaquetas. Número de plaquetas y "sCD40L diferencias". Observamos que ninguno de los pacientes con sCD40L diferencias positivas presentó plaquetas inferiores a $192.000 \times 10^6/L$.

Los pacientes con plaquetas en el momento de la extracción analítica del brote $\leq 192.000 \times 10^6/L$, presentaron valores sCD40L en el brote menores a los que tenían plaquetas superiores (2.040 (3.545) versus 3.882 (6.970) pg/mL $p=0,039$) y no presentaron valores de sCD40L en remisión significativamente diferentes de los pacientes con número de plaquetas mayor (7.413 (3.394) versus 7.014 (4.853) pg/mL $p=0,599$). Dada esta relación estadística entre número de plaquetas en un momento de la enfermedad y valores de sCD40L, analizamos si se mantenía también la relación en situación de remisión. Examinamos si los pacientes que en remisión presentaban plaquetas $\leq 192.000 \times 10^6/L$ también mostraban

valores menores de sCD40L que los pacientes con mayor número de plaquetas, no hallando significación estadística (8.478 (22.211) versus 7.070 (3.908) pg/mL $p=0,505$). Por otro lado, al repetir el análisis de los valores de sCD40L entre el brote y la remisión excluyendo a aquellos pacientes con número de plaquetas $\leq 192.000 \times 10^9/L$ en brote, obtuvimos la persistencia de valores en brote menores a los de remisión (3.882 (6.970) versus 7.448 (4.853) pg/mL $p=0,038$).

Los pacientes con plaquetas en brote $\leq 192.000 \times 10^6/L$ no presentaron puntuaciones de SLEDAI diferentes a los pacientes con plaquetas $>192.000 \times 10^6/L$ (15.3 ± 7.0 versus 13.8 ± 4.9 $p=0,375$).

Ningún paciente presentó plaquetopenia autoinmune.

5.2.3 DISMINUCION DE SLEDAI MENOR AL 80% (REMISIÓN RESPECTO AL BROTE)

Los pacientes con disminución de SLEDAI en remisión inferior al 80% de la puntuación de SLEDAI en el brote (menor cambio de SLEDAI entre brote y remisión), respecto a los pacientes con disminución superior o igual al 80%, no tuvieron valores de sCD40L diferentes ni en brote (2.496 (4.348) versus 3.882 (7.305) pg/mL $p=0,857$), ni en remisión (6.974 (5.189) versus 7.153 (5.355) pg/mL $p=0,443$).

A continuación, analizamos si los pacientes con menores cambios de SLEDAI entre el brote y la remisión (disminución de SLEDAI $<80\%$) tenían puntuaciones de SLEDAI diferentes a los pacientes con mayores cambios de SLEDAI (disminución de SLEDAI $\geq 80\%$). Los pacientes con disminución de SLEDAI $<80\%$, mostraron puntuaciones menores de SLEDAI en brote ($11,7 \pm 4,0$ versus $16,1 \pm 6,1$ $p=0,004$) y puntuaciones mayores de SLEDAI en remisión ($4,1 \pm 1,4$ versus $1,6 \pm 1,2$ $p<0,001$). Sin embargo, los pacientes con menores cambios de SLEDAI entre brote y remisión, no presentaron diferente tiempo de evolución entre los 2 momentos de la enfermedad que los pacientes que tuvieron mayor cambio en la puntuación de SLEDAI (241 (716) versus 201 (592) días $p=0,411$).

5.3 ANALISIS DEL MODELO PREDICTIVO SCD40L MAYOR EN REMISION QUE EN BROTE: REAGRUPACION DE PACIENTES

Al analizar una a una las variables constituyentes del modelo predictivo para sCD40L mayor en remisión que en brote, objetivamos que sólo una de ellas (plaquetas $\leq 192.000 \times 10^6/L$) se asociaba a valores menores de sCD40L en brote (no así mayores en remisión). Tras excluir del análisis los pacientes con plaquetas en brote $\leq 192.000 \times 10^6/L$, los valores de sCD40L seguían siendo menores en brote que en remisión. Con el fin de entender mejor cómo las

variables constituyentes del modelo, llegaban a explicar el comportamiento de sCD40L menor en brote que en remisión, reagrupamos a los pacientes en función de las variables que constituían el modelo.

Por lo expuesto hasta el momento, la variable disminución de SLEDAI <80% reunía a aquellos pacientes con menores puntuaciones de SLEDAI durante el brote y mayores puntuaciones de SLEDAI durante la remisión y se asociaba a “sCD40L diferencias” con valores negativos. Creímos interesante analizar la relación entre puntuación de SLEDAI y valores de sCD40L en función de los 4 grupos que se crearon al hacer todas las combinaciones posibles con las otras 2 variables (es decir, plaquetas en brote $\leq 192.000 \times 10^6/L$ y dosis de prednisona en brote >15 mg/día), a saber:

Grupo 1: plaquetas brote $\leq 192.000 \times 10^6/L$ y dosis de prednisona en brote >15 mg/día (5 pacientes, todos con valores de “sCD40L diferencias” negativos).

Grupo 2: plaquetas brote $>192.000 \times 10^6/L$ pero dosis de prednisona en brote >15 mg/día (12 pacientes, 11 con valores de “sCD40L diferencias” negativos).

Grupo 3: plaquetas brote $\leq 192.000 \times 10^6/L$ pero dosis de prednisona en brote ≤ 15 mg/día (13 pacientes, 12 con valores de “sCD40L diferencias” negativos).

Grupo 4: plaquetas brote $>192.000 \times 10^6/L$ y dosis de prednisona en brote ≤ 15 mg/día (23 pacientes, 11 con valores de “sCD40L diferencias” negativos).

5.3.1 ANALISIS DE GRUPOS

5.3.1.1 VALORES DE sCD40L EN BROTE Y REMISION

Valores de sCD40L en brote fueron diferentes (y menores) a los de remisión para el grupo 1 (749 (2.418) versus 8.023 (9.603) pg/mL $p=0,043$), grupo 2 (3.263 (3.571) versus 6.770 (3.456) pg/mL $p=0,034$) y grupo 3 (3.055 (3.786) versus 7.408 (3.515) pg/mL $p=0,002$). Analizados todos juntos como grupo 123, observamos el mismo comportamiento (2.616 (3.671) versus 7.084 (3.545) pg/mL $p<0,001$). En el grupo 4, analizado en su conjunto, no presentó diferencias entre ambos valores (3.882 (8.118) versus 7.125 (4.956) pg/mL $p=0,378$). Estos resultados quedan reflejados en la Figura 36. Sin embargo, cuando en el grupo 4 analizamos sólo los valores de aquellos pacientes que presentaron disminución de SLEDAI <80% observamos diferencias estadísticamente significativas (2.110 (2.260) versus 6.933 (17.402) $p=0,018$).

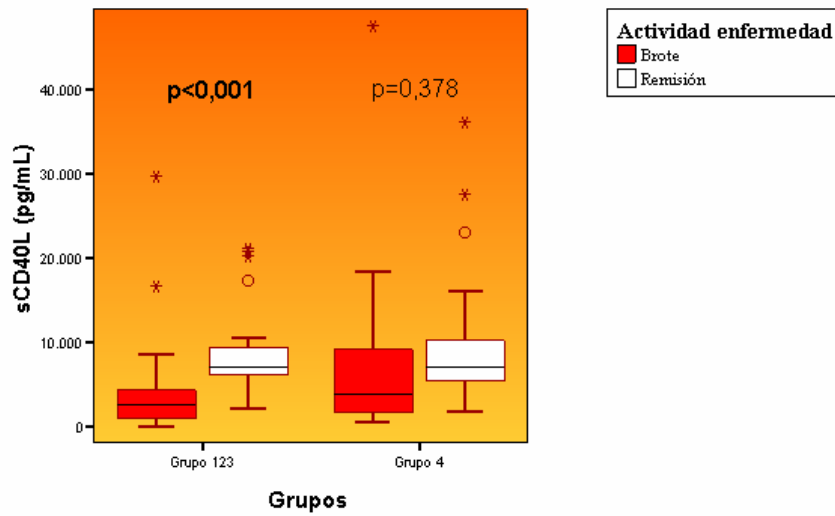


Figura 36 Valores de sCD40L y reagrupación.

Mientras que los pacientes del grupo 123 (dosis de prednisona en brote >15 mg/día y/o plaquetas en brote $\leq 192.000 \times 10^6/L$), presentaron valores menores de sCD40L en brote que en remisión, los del grupo 4 (dosis de prednisona en brote $15 \leq$ mg/día y plaquetas en brote $>192.000 \times 10^6/L$) no mostraron diferencias entre los 2 estados de actividad de la enfermedad.

5.3.1.2 UTILIDAD DISCRIMINATORIA DE DISMINUCION SLEDAI $<80\%$

En cada subgrupo, analizamos si la variable disminución de SLEDAI $<80\%$ nos permitía identificar a aquellos pacientes con valores de “sCD40L diferencias” negativos, y descubrimos que sólo en el grupo 4, los pacientes con disminución de SLEDAI $<80\%$ presentaban asociación a “sCD40L diferencias” con resultados negativos versus resultados positivos (7 (63,6%) versus 0 (0%) $p=0,001$). (Figura 37).

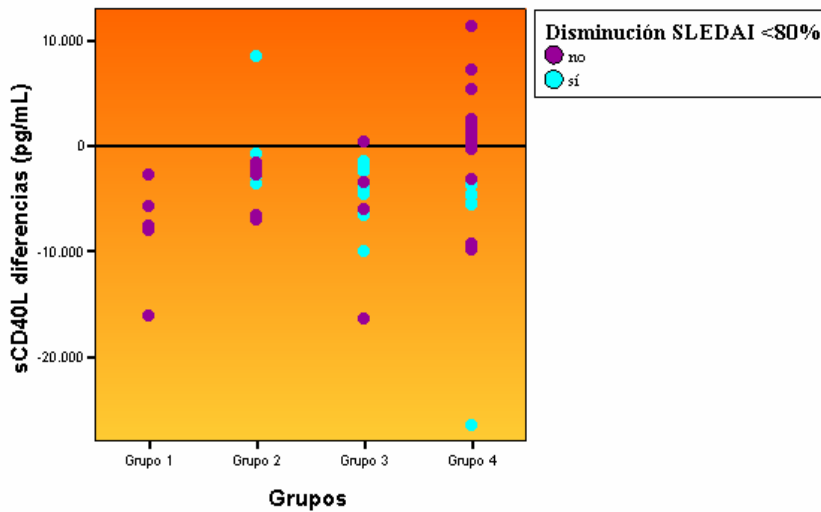


Figura 37 “sCD40L diferencias” en cada uno de los grupos.
En color azul indicamos los pacientes con disminución de SLEDAI <80%. Definición de grupos en apartado 5.3.

5.3.1.3 VALORES DE sCD40L EN BROTE Y REMISION EN FUNCION DE LA PUNTUACION DE SLEDAI EN BROTE

Con el fin de evaluar la influencia de la actividad de la enfermedad en ambos grupos (grupo 123 y grupo 4), reagrupamos los pacientes atendiendo al percentil 50 (mediana) de la puntuación de SLEDAI, puesto que SLEDAI <80% sólo permitía identificar pacientes con “sCD40L diferencias” negativas en el grupo 4.

Cuando analizamos los cambios que se produjeron entre brote y remisión, para cada uno de los dos grupos finales en función de si la puntuación de SLEDAI fue o no superior a la mediana, observamos lo siguiente: para puntuaciones menores o iguales al percentil 50 en cualquiera de los 2 grupos los valores del brote fueron inferiores a los de remisión, siendo para el grupo 123 (4.143 (4.778) versus 7.418 (3.673) pg/mL $p=0,005$) y para el grupo 4 (3.079 (6.515) versus 6.933 (6.029) pg/mL $p=0,033$). Para puntuaciones superiores o iguales a la mediana observamos valores menores en brote que en remisión en el grupo 123 (1.717 (2.785) versus 6.525 (4.565) pg/mL $p=0,001$) y no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de brote y remisión en el grupo 4 (9.050 (12.687) versus 7.801 (7.091) pg/mL $p=0,241$). Estos resultados quedan reflejados en la Figura 38. Cuando analizamos si los valores que diferían entre los grupos eran los de sCD40L en brote o en remisión, objetivamos que los valores durante el brote diferían entre ellos ($p=0,011$), mientras que no hubo diferencias entre los valores de remisión ($p=0,591$).

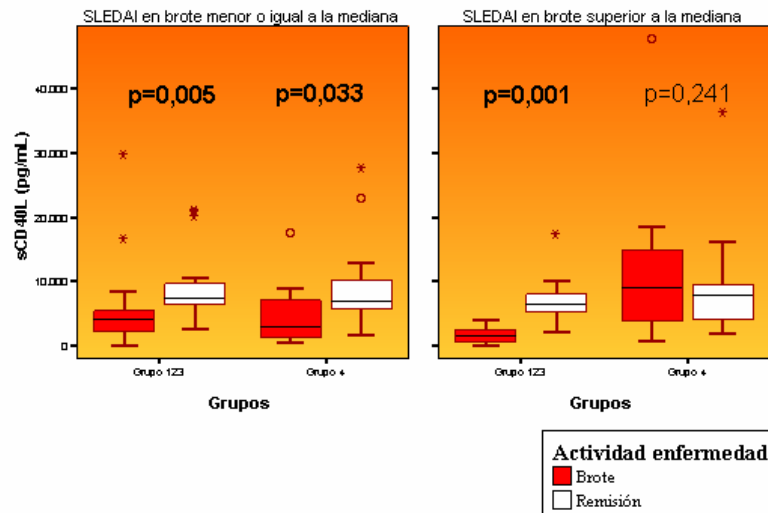


Figura 38 Valores de sCD40L en brote y remisión (pg/mL) para los diferentes grupos en función de puntuación SLEDAI superior a la mediana.

Con puntuaciones de SLEDAI menores o iguales a la mediana todos los pacientes presentaron valores menores de sCD40L en brote que en remisión. Con puntuaciones de SLEDAI mayores a la mediana, el grupo 123 (dosis de prednisona en brote >15 mg/día y/o plaquetas en brote $\leq 192.000 \times 10^6/L$) presentó valores menores en brote que en remisión mientras que el grupo 4 (dosis de prednisona en brote ≤ 15 mg/día y plaquetas en brote $>192.000 \times 10^6/L$) no mostró diferencias estadísticamente significativas.

5.3.1.4 VALORES DE sCD40L EN BROTE Y SLEDAI EN BROTE

Dado que los valores que diferían entre los grupos eran los que sCD40L presentó durante el brote, procedimos a analizar las diferencias.

Observamos 2 patrones de comportamiento en cuanto a SLEDAI en el brote y valores de sCD40L brote:

- grupos 1, 2 y 3 (grupo 123): valores de SLEDAI mayores a la mediana en cada grupo, se asociaron a valores de sCD40L inferiores a los que presentaron los pacientes con valores menores o iguales a la mediana. Analizados en su conjunto observamos que pacientes con SLEDAI en el brote >14 (mediana del grupo 123) versus pacientes con SLEDAI en el brote ≤ 14 presentaron medianas de sCD40L en brote menores (1.717 (2.785) versus 4.143 (7.778) pg/mL $p=0,023$). Demostramos correlación estadística y gráficamente significativa entre puntuación de SLEDAI en brote y sCD40L en brote ($r=-0,387$ $p=0,042$). En estos grupos la puntuación de SLEDAI en brote mínima fue de 8 y la máxima de 31 (RIQ=8).

- grupo 4: valores de SLEDAI mayores a la mediana (12 puntos) no se asociaron, aunque rozaron significación estadística, a valores de sCD40L diferentes a los que presentaron los pacientes con valores menores o iguales la mediana (9.050 (12.687) versus 3.079 (6.515) pg/mL $p=0,063$). En este grupo resultó significativa estadística y gráficamente la correlación entre puntuación de SLEDAI en brote y valores de sCD40L en brote ($r=0,475$ $p=0,022$). En este grupo la puntuación de SLEDAI en brote mínima fue de 6 y la máxima de 23 (RIQ=8).

Objetivamos que los dos grupos finales (grupo 123 y grupo 4) presentaron valores de sCD40L en brote similares cuando puntuación de SLEDAI menor o igual a la mediana ($p=0,630$), mientras que fueron estadísticamente diferentes los valores de sCD40L en brote cuando puntuación de SLEDAI mayor a la mediana, resultando menores en el grupo 123 ($p=0,004$).

5.3.2 LEUCOCITOS-LINFOCITOS

Analizados en global, los valores de leucocitos y linfocitos, no se asociaron a valores diferentes de sCD40L ni en actividad ni en remisión.

Al valorar los valores de leucocitos y linfocitos en relación a sCD40L en cada uno de los grupos, encontramos significativo:

En el grupo 2, objetivamos que cifras de leucocitos en el brote mayores al percentil 50 ($6.450 \times 10^6/L$) se asociaron a valores inferiores de sCD40L en brote (2.158 (2.667) versus 4.707 (10.365) pg/mL $p=0,037$). No se observó correlación entre ambas variables.

En el grupo 4, observamos que cifras de linfocitos en remisión mayores o iguales al percentil 50 ($2.050 \times 10^6/L$) se asociaron a valores superiores de sCD40L en el remisión (9.862 (7.710) versus 4.924 (4.865) pg/mL $p=0,036$). No se observó correlación entre ambas variables.

5.3.3 PLAQUETAS

Cuando comparamos los niveles de plaquetas entre el brote y la remisión, encontramos valores menores en brote ($234.509 \times 10^6/L \pm 80.340 \times 10^6/L$ versus $261.188 \times 10^6/L \pm 63.161 \times 10^6/L$ $p=0,024$). Cuando examinamos el comportamiento en los 4 grupos, sólo encontramos valores inferiores de forma estadísticamente significativa en el grupo 1 ($127.200 \times 10^6/L \pm 46.268 \times 10^6/L$ versus $261.200 \times 10^6/L \pm 65.679 \times 10^6/L$ $p=0,019$) y en el grupo 3 ($164.692 \times 10^6/L \pm 17.284 \times 10^6/L$ versus $223.000 \times 10^6/L \pm 41.407 \times 10^6/L$ $p<0,001$). Así pues, podemos concluir que sólo los pacientes con conteo de plaquetas durante el brote $\leq 192.000 \times 10^6/L$ mostraron en brote menores niveles de plaquetas en relación a la remisión.

5.3.4 ANTICUERPOS ANTI-DsDNA Y COMPLEMENTO

No encontramos correlación estadísticamente significativa entre valores de sCD40L y valores de anticuerpos anti-dsDNA, C3, C4 ni CH50, evaluados tanto en brote como en remisión.

5.3.5 “sCD40L DIFERENCIAS” POSITIVOS

Por otro lado, si analizamos sólo aquellos pacientes con valores de “sCD40L diferencias” positivos, observamos que esta diferencia entre brote y remisión resultó estadísticamente significativa (8.826 (12.058) versus 7.299 (8.202) pg/mL $p=0,001$). Este grupo presentó un comportamiento similar al grupo 4: valores de SLEDAI mayores o iguales a la mediana (14 puntos) se asociaron a valores de sCD40L superiores a los que presentan los pacientes con valores menores a la mediana (13.200 (18.107) versus 5.382 (5.365) pg/mL $p=0,010$); la cifra de linfocitos en brote mayores al percentil 50 ($1.600 \times 10^6/L$) se asoció a valores inferiores de sCD40L en el brote (7.142 (5.608) versus 15.000 (20.388) pg/mL $p=0,009$).

5.3.6 COMPARACIÓN CON LITERATURA PREVIA

En las comparaciones en las que la puntuación de SLEDAI ha sido considerada, se ha trabajado sobre una nueva base de datos contabilizando cada paciente dos veces, en situación de brote y en situación de remisión, para poder disponer de las diferentes puntuaciones de SLEDAI (pues por criterios de inclusión como brote todos debían puntuar en SLEDAI ≥ 6). Atendiendo a los diferentes resultados publicados en la literatura previa practicamos los siguientes análisis:

- Valores mayores de sCD40L y mayor puntuación de SLEDAI de la enfermedad²⁰⁴. Seleccionamos como valores mayores de sCD40L aquellos pacientes con valores superiores al percentil 75 (>8.964 pg/mL). Analizados en global (106 ítems), los pacientes con valores de sCD40L superiores al p75, versus pacientes con valores menores o igual a p75, no mostraron diferencias en los valores de SLEDAI ($7,5 \pm 6,9$ versus $8,8 \pm 7,3$ $p=0,436$); cuando analizamos sólo los pacientes del grupo 123 (considerando cada paciente 2 veces, en situación de brote y en situación de remisión), los pacientes con valores de sCD40L superiores al p75 versus pacientes con valores \leq al p75 presentaron valores menores de SLEDAI ($5,7 \pm 4,3$ versus $9,7 \pm 8,0$ $p=0,035$); cuando analizamos sólo los pacientes del grupo 4 (considerado cada uno 2 veces, en situación de brote y en situación de remisión), los pacientes con valores de sCD40L superiores al p75 versus pacientes con valores \leq a p75 no presentaron diferencias estadísticamente significativas (8.6 ± 8.1 versus 7.3 ± 5.8 $p=0,555$).

- Valores de SLEDAI ≥ 10 y mayores valores de sCD40L²⁰⁵. Analizados en global (106 ítems), los pacientes con puntuación de SLEDAI ≥ 10 ($n=40$) presentaron valores menores de

sCD40L que los pacientes con puntuación de SLEDAI entre 2 y 9 (n=51) (3.888 (7.709) versus 6.496 (5.849) pg/mL $p=0,013$); cuando analizamos sólo los pacientes del grupo 123, objetivamos que aquéllos con puntuación de SLEDAI ≥ 10 tenían valores menores de sCD40L que aquéllos con menores puntuaciones (2.616 (4.365) versus 6.496 (4.848) pg/mL $p<0,001$); cuando analizamos sólo los pacientes del grupo 4, no objetivamos diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con SLEDAI ≥ 10 y SLEDAI de 2 a 9 en cuanto a los valores de sCD40L (8.475 (12.502) versus 6.141 (7.842) pg/mL $p=0,882$).

- Gravedad brote (brote grave versus moderado o leve) y mayores valores de sCD40L¹⁸². Analizado de forma global (53 ítems), los pacientes con brote grave versus moderado o leve, no presentaron diferencias significativas entre los valores de sCD40L en brote (3.882 (7.502) versus 3.222 (6.136) pg/mL $p=0,972$); cuando analizamos el grupo 123 no objetivamos diferentes valores de sCD40L en brote en relación a mayor gravedad del mismo (2.632 (3.760) versus 2.361 (4.144) pg/mL $p=0,722$); en el análisis del grupo 4 no hubo tampoco diferencias significativas entre los valores de sCD40L en brote y mayor gravedad (6.284 (11.239) versus 3.623 (6.662) pg/mL $p=0,852$).

CAPÍTULO 6

DISCUSIÓN

La bibliografía publicada hasta el momento permite afirmar que los pacientes con LES tienen más aterosclerosis respecto a la población general y ésta ocurre de forma precoz .

La posibilidad de que la inflamación asociada con el LES pueda promover la aterosclerosis es de particular interés, pues la patogenia de la aterosclerosis parece estar mediada por la inflamación. Estudios previos de importante difusión^{29, 50, 51} no han encontrado significación estadística entre marcadores de inflamación sistémica y aterosclerosis subclínica ni entre actividad de enfermedad y aterosclerosis subclínica. Sin embargo, se trató de estudios transversales en los que la valoración de la actividad del LES se realizó en ese momento temporal, actividad que no refleja el curso real de la enfermedad, y en los que se analizaron diferentes pacientes con diferentes grados de actividad de LES. Así pues, el papel que juega el grado de actividad de la enfermedad lúpica en la aterosclerosis por la bibliografía publicada hasta el momento no queda bien descrito, pues hasta ahora no se ha practicado ningún estudio longitudinal para valorar el comportamiento del perfil lipídico y/o diversos biomarcadores en relación a la aterosclerosis en un mismo paciente durante 2 situaciones diferentes de actividad de la enfermedad (brote y remisión). Sólo existen estudios de estas características para sVCAM-1 y sICAM-1.

En nuestro estudio se dispuso de una muestra sanguínea de cada paciente en 2 momentos diferentes de actividad (brote y remisión), clasificando a los pacientes en 2 grupos (A y B) en función del riesgo de aterosclerosis coronaria. Una vez constituido cada grupo, los diferentes

valores que adoptaron los parámetros determinados se atribuyeron a los cambios de actividad de la enfermedad en cada uno de los grupos.

6.1 MUESTRA A ESTUDIO

Se trató de una muestra representativa de nuestros pacientes con LES: relación mujer/hombre que se acerca a la proporción 9/1 y raza caucásica.

Dispusimos de una muestra de pacientes jóvenes (edad media entre brote y remisión de 31,1 años) con poco tiempo de evolución de la enfermedad (edad media de diagnóstico 26 años, tiempo de evolución desde el diagnóstico y hasta la remisión de 6,7 años), bajo SLICC y 3 brotes previos como mediana.

En global, pacientes con bajo riesgo vascular valorado mediante escalas de riesgo vascular adaptadas a la población española, tanto por Regicor como por Dorica.

La clínica presentada más frecuentemente fue brote renal, seguida por afectación músculoesquelética y mucocutánea.

Resultó ser una muestra de pacientes muy tratados (75,5% habían recibido alguna vez en su vida dosis superiores a 10 mg/día de prednisona durante más de 2 meses). En el momento del brote sólo un 9,4% estaban sin ningún tratamiento inmunosupresor o corticoideo, y ningún paciente en remisión se encontraba sin tratamiento inmunosupresor o corticoideo (el fármaco-grupo más utilizado en remisión fue micofenolato/azatioprina). Habiendo ya iniciado tratamiento del brote en el 41,5% de los casos (aumentando o introduciendo tratamiento corticoideo).

6.1.1 SUBGRUPOS ATEROSCLEROSIS

En cuanto a los dos grupos que obtuvimos (A y B) tras aplicar los 2 factores de riesgo identificados con mayor consistencia en los distintos estudios (edad mayor en el momento del diagnóstico e hipercolesterolemia) cabe mencionar que el resto de factores de riesgo asociados a aterosclerosis en pacientes con LES en la literatura médica se distribuyeron de forma asimétrica y con significación estadística entre los 2 grupos (mayormente en grupo B) siendo:

- Obesidad²⁰ ; en el grupo B había un 29% de obesos mientras que en el grupo A sólo un 4,3% de los pacientes eran obesos.

- Menopausia²¹; en el grupo B se encontraban todas las mujeres menopáusicas.
- Hipertensión arterial^{20, 34}; en el grupo B un 48,4% de los pacientes eran hipertensos, mientras que sólo un 13% lo eran en el grupo A.
- Hipertrigliceridemia (>160 mg/dL)³⁴, en el grupo B objetivamos un 35,5% de los pacientes versus 4,5% en el grupo A.

Las escalas de riesgo vascular (Regicor y Dorica), también se presentaron más patológicas en el grupo B. En el grupo B los pacientes presentaron puntuaciones mayores que en el grupo A, tanto en la escala Regicor ($2,1 \pm 1,1$) versus $1,2 \pm 0,6$) como en la escala Dorica ($2,4 \pm 2,0$ versus $1,0 \pm 0,6$); aunque dichas puntuaciones correspondieron a la clasificación de bajo riesgo. Este hecho se ha objetivado también en estudios previos³³.

A destacar que no se objetivaron diferencias entre ambos grupos en cuanto a:

- mayor duración de la enfermedad^{20, 21} (valorada en nuestro estudio como tiempo de evolución desde el diagnóstico y hasta la remisión) siendo en el grupo A de $5,8 \pm 4,3$ años y en el grupo B de $7,6 \pm 6,2$ años. Las diferencias descritas en el estudio de Petri et al²⁰ fueron de 8,1 años en el grupo sin enfermedad coronaria versus 12,3 años en el grupo con enfermedad coronaria; y las descritas por Manzi et al²¹ fueron de 10 años en el grupo sin enfermedad coronaria y de 13 años en el grupo con enfermedad coronaria.
- mayor duración de tratamiento corticoideo^{20, 21}, siendo en el grupo A de $4,5 \pm 3,7$ años y en el grupo B de $6,2 \pm 5,5$ años; aunque el grupo B sí presentó mayor dosis media diaria acumulada de prednisona (12,9 (15,3) mg/día) que la dosis media diaria acumulada de prednisona del grupo A (10,8 (9,0) mg/día). Las diferencias descritas en el estudio de Petri et al²⁰ fueron de 7,2 años en el grupo sin enfermedad coronaria, versus 14,3 años en el grupo con enfermedad coronaria; y las descritas por Manzi et al²¹ fueron de 7 años en el grupo sin enfermedad coronaria y de 11 años en el grupo con enfermedad coronaria.

La ausencia de significación estadística en nuestro estudio de estas 2 variables se debe probablemente al hecho de tratarse de una muestra de pacientes con poco tiempo de evolución de LES (comparada con los estudios de referencia citados).

Hubo mayor porcentaje de pacientes con afectación renal durante el brote y nefropatía persistente en remisión en el grupo B que en el grupo A, y también mayor porcentaje de pacientes en remisión bajo tratamiento con micofenolato/azatioprina.

6.2 ANALISIS LIPIDOS

No hay ningún estudio en pacientes con LES en el que se haya evaluado el perfil lipídico a un mismo paciente en dos momentos diferentes de la enfermedad con la finalidad de evaluar la influencia del brote/remisión en los valores del perfil lipídico.

En nuestro estudio recogimos el perfil lipídico de 54 pacientes con LES en brote y remisión para cada uno de ellos.

De las asociaciones descritas entre los parámetros de perfil lipídico y variables a estudio, cabe destacar:

- Correlación entre CT y cLDL (tanto en brote como en remisión), de hecho es esperable pues los valores de CT no dejan de incluir los de cLDL, suponiendo la mayor contribución a los mismos.
- Correlación entre cLDL o cLDL/cHDL (tanto en brote como en remisión) y proteinuria (por la asociación previa, también CT en remisión; el cociente cLDL/cHDL a su vez correlacionó con cociente CT/cHDL y también este último se asoció a proteinuria en remisión). Formiga et al²⁸⁴, describieron correlación entre niveles de CT y proteinuria.
- Correlación negativa entre cHDL y cocientes (tanto en brote como en remisión) de los que forma parte en el denominador. CT no correlacionó con cociente CT/cHDL aunque sí cLDL con cociente cLDL/cHDL tanto en brote como en remisión. Los valores de TAG correlacionaron con cociente CT/cHDL tanto en brote como en remisión. En varios estudios se ha demostrado interacción entre TAG y cociente CT/cHDL²⁸⁵. Los cocientes correlacionaron entre sí tanto en brote como en remisión.
- Correlación entre dosis de prednisona y niveles de TAG tanto en brote como en remisión e independientemente de toma o no de tratamiento antipalúdico durante el brote (aunque los pacientes en tratamiento antipalúdico tuvieron tendencia a mostrar valores menores de TAG en brote que los pacientes sin tratamiento antipalúdico), y sólo en el grupo sin tratamiento antipalúdico en la remisión (el tratamiento antipalúdico compensaría parcialmente el aumento de

TAG en brote y protegería del perfil lipídico patológico durante la remisión. Este efecto del tratamiento antilipídico en combinación con corticoides ha sido ya descrito en la literatura previa^{67, 68}). En remisión y sólo para aquellos pacientes sin tratamiento simultáneo con antilipídicos, las dosis de prednisona correlacionaron con los valores de cLDL y cociente CT/cHDL. En la literatura previa, Formiga et al²⁸⁴ ya habían descrito correlación entre TAG y dosis de prednisona así como entre cLDL y dosis de prednisona.

- Relación entre niveles de CT, cHDL, cLDL o TAG y fiebre, observando que aquellos pacientes que presentaron fiebre durante el brote, tuvieron valores menores de CT, cHDL y cLDL en brote que los pacientes apiréticos y valores mayores de TAG que los pacientes apiréticos. Los pacientes con fiebre presentaron durante el brote valores mayores de cocientes de CT/cHDL que los pacientes apiréticos (pues disminuyó tanto CT como cHDL), empeorando por tanto el riesgo vascular. En la literatura previa se ha descrito que el perfil lipídico se altera por la respuesta de fase aguda que se asocia a trauma quirúrgico, infección o infarto agudo de miocardio²⁸⁶. La presencia *per se* de fiebre se ha descrito en estudios experimentales²⁸⁷ y en niños²⁸⁸ como causa de alteración del perfil lipídico, independientemente del proceso que cause la misma. El daño tisular genera proteínas de fase aguda que deterioran la producción de lipoproteínas hepáticas y su metabolismo²⁸⁹. Tras un infarto agudo de miocardio, la alteración del perfil lipídico se prolonga hasta unos dos meses tras el evento²⁸⁶. En los pacientes con fiebre, no existieron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo de evolución entre el brote y la remisión, de forma que la mediana de tiempo transcurrido fue claramente superior a los 2 meses.
- Los pacientes con brote renal, independientemente de si presentaron o no persistencia de la nefropatía en remisión, mostraban valores mayores de CT en remisión que los pacientes con otro tipo de brote. Los pacientes con brote renal presentaron valores de cLDL mayores en brote y en remisión que los pacientes con otro tipo de brote. Ambos hallazgos, CT y cLDL elevados se han asociado a nefritis lúpica. Kiss et al²⁹⁰ estudiaron 50 pacientes con LES, 30 con nefritis lúpica y 20 sin nefritis lúpica. Observaron que los pacientes con nefritis presentaban frente a los pacientes sin nefritis valores mayores de CT y cLDL entre otros. Svenungsson et al²⁹¹ también describieron correlación entre niveles de CT y nefritis.

Sólo se observaron diferencias estadísticas en la muestra global entre los valores de brote y de remisión para ambos cocientes (ambos mejoraron en remisión). Se ha constatado que los valores altos de los cocientes se asocian a inflamación e inestabilidad de las placas de ateroma²⁷⁵ y que poseen un alto valor como predictores de cardiopatía isquémica en estudios epidemiológicos²⁷⁶. Varios estudios han señalado que el CT/cHDL es el parámetro lipídico con mayor poder predictivo de la presencia, gravedad y extensión de aterosclerosis coronaria en la mujer²⁷⁴. El perfil lipídico empeoró en brote, de acuerdo con estudios previos en los que se valoraron pacientes activos frente a pacientes inactivos^{36, 37}. En estos artículos^{36, 37} se describió el 'patrón de lupus': elevación de TAG y VLDL y disminución de cHDL (siendo elevación de TAG y disminución de cHDL los dos parámetros del perfil lipídico que se valoran para el diagnóstico de síndrome metabólico²⁶). En ambos estudios, ningún paciente presentaba nefropatía ni estaba bajo ningún tratamiento. Estos dos criterios de inclusión, en nuestra muestra sólo los cumplieron 2 de nuestros 54 pacientes en brote y ninguno de ellos en remisión; de estos 2 pacientes, uno de ellos presentó TAG elevados (valor patológico) y el otro disminución de cHDL (por debajo del valor mínimo), ambos rasgos dentro del esperable 'patrón de lupus'.

Por lo descrito en la literatura previa, en los pacientes con LES el perfil lipídico se ve influido principalmente por el tratamiento corticoideo^{63, 64, 284} y la presencia o no de nefropatía^{38, 284, 290, 292}. Al subdividir el grupo en función de estas dos características obtuvimos por un lado que sólo los pacientes con brote renal y sin nefropatía persistente en remisión, mostraron los cambios descritos en ambos cocientes, y por otro, que sólo los pacientes recibiendo dosis de prednisona superiores a 10 mg/día en el momento de la extracción analítica del brote y simultáneamente sin tratamiento antipalúdico, mostraron los cambios descritos en ambos cocientes y, además, disminución en remisión de CT y TAG (los que estaban sin antipalúdicos en el momento del brote y recibiendo dosis de prednisona >10mg/día presentaron en general valores más altos en brote de los parámetros lipídicos, con diferencias estadísticamente significativas en los valores de TAG en relación a los presentados en el grupo con dosis de prednisona ≤10 mg/día). Los antipalúdicos en brote compensaron el perfil lipídico adverso (en cuanto a hipertrigliceridemia se refiere) secundario a dosis de prednisona >10 mg/día. De forma paralela a estudios previos^{63, 64, 284}, encontramos que aquellos pacientes con dosis >10 mg/día de prednisona presentaron valores de TAG superiores a los pacientes con dosis iguales o inferiores a 10 mg/día.

Cuando dividimos la muestra en 2 grupos (A y B) en función del riesgo de aterosclerosis (vale la pena mencionar que entre los 2 grupos tanto en brote como en remisión no existieron diferencias estadísticamente significativas entre presencia de fiebre ni número de pacientes con dosis de prednisona >10 mg/día, ni siquiera en el porcentaje de pacientes que

simultáneamente estaban bajo tratamiento antipalúdico; sí fueron diferentes en que en el grupo B hubo más pacientes que presentaron brote renal), objetivamos que sólo el grupo A mostró cambios significativos estadísticamente entre los valores de brote y remisión, observando valores más bajos en remisión que en brote de TAG y de cociente CT/cHDL. En el grupo A en brote tanto los valores de TAG como los de cHDL correlacionaron con la actividad de la enfermedad, cuantificada por SLEDAI. De hecho Svenungsson E et al²⁹¹ describieron en un modelo de regresión logística múltiple que los niveles de TAG fueron determinantes independientes de la actividad de la enfermedad, objetivando correlación entre SLEDAI y niveles de TAG. El grupo B no mostró correlación entre niveles de TAG y SLEDAI. En el grupo A, se produjo una mejoría del perfil lipídico durante la remisión (mejoría que no ocurrió en el grupo B).

Hemos objetivado globalmente en la muestra mayor porcentaje de pacientes con valores patológicos de cociente cLDL/cHDL en brote que en remisión. En el análisis por grupos de riesgo de aterosclerosis coronaria sólo el grupo A presentó mayor porcentaje de pacientes con valor patológico en brote que en remisión en las variables CT y TAG. De nuevo el grupo A mostró en remisión tendencia a mejoría del perfil lipídico respecto a los parámetros del brote.

Cuando comparamos con la población sana, nuestros pacientes mostraron globalmente una proporción superior a la esperada en población sana sólo en brote para TAG y tanto en brote como en remisión para todos los otros parámetros.

El análisis por grupos de riesgo aterosclerótico, muestra divergencias de comportamiento. El grupo A presentó en remisión porcentajes dentro de lo esperable para una población sana en todas las variables lipídicas excepto en cHDL; y en brote, ningún porcentaje dentro de lo esperable para una población sana. De hecho, valores de cHDL patológicos forman parte del 'patrón de lupus'. El grupo B, sin embargo, sólo presentó porcentajes dentro de lo esperable para una población sana para TAG, tanto en brote como en remisión, y para cHDL sólo en remisión (comportamiento contrario al grupo A). En remisión, el grupo B no muestra ningún parámetro patológico de los que hemos analizado del 'patrón de lupus', siéndolo el resto de parámetros. El comportamiento en cuanto al 'patrón de lupus' se refiere se sigue presentando si analizamos sólo los pacientes del grupo A que presentaron nefropatía durante el brote (presentaron 'patrón de lupus' en el brote) y si analizamos sólo los pacientes del grupo B sin nefropatía durante el brote (no presentaron ningún parámetro de 'patrón de lupus en remisión'). Un paciente en cada grupo estuvo en tratamiento con estatinas.

Al analizar diferencias entre los grupos de riesgo aterosclerótico en una misma situación de la enfermedad (brote o remisión) observamos:

- Tanto en brote como en remisión: CT y cLDL valores más elevados en grupo B que grupo A. También mayor porcentaje de patológicos en el grupo B que en el grupo A (excepto en CT para situación de Brote).
- Sólo en brote: cHDL valores menores en grupo A que en grupo B (y también más patológicos). El grupo A presentó mayor porcentaje de TAG en rango patológico que el grupo B. Empeoramiento del 'patrón de lupus' en brote en el grupo A.
- Sólo en remisión: los 2 cocientes y TAG más elevados en grupo B que en grupo A, aunque no más patológicos.

6.2.1 VISIÓN RESUMIDA GRUPOS ATEROSCLEROSIS Y PERFIL LIPÍDICO

Los únicos pacientes que sufrieron cambios entre el brote y la remisión fueron los del grupo A, teniendo valores menores durante la remisión que durante el brote de TAG (se objetivaron niveles en remisión mayores en el grupo B que en el grupo A), y de cociente CT/cHDL (se observaron niveles en remisión mayores en el grupo B que en el grupo A); presentando mayor porcentaje de valores patológicos en brote que en remisión de CT (se objetivó mayor porcentaje en remisión de valores patológicos en el grupo B que en el grupo A) y de TAG (se detectó mayor porcentaje en brote de valores patológicos en el grupo A que en el grupo B). En el grupo A en brote TAG y cHDL correlacionaron con SLEDAI.

Para el resto de parámetros de perfil lipídico en los que el grupo A no mostró cambios entre el brote y la remisión, los hallazgos estadísticamente significativos se resumirían de la siguiente manera: el grupo B presentó valores mayores al grupo A, para:

- CT y cLDL (brote y remisión). Presentando para cLDL mayor porcentaje de valores patológicos que el grupo A tanto en brote como en remisión.
- Cociente cLDL/cHDL en remisión.
- cHDL en brote, presentando mayor porcentaje de valores patológicos el grupo A que el grupo B en brote.

El grupo A presentó en remisión porcentajes dentro de lo esperable para una población sana en todas las variables lipídicas excepto en cHDL; y en brote, ningún porcentaje dentro de lo esperable para una población sana (incluidos TAG y cHDL: 'patrón de lupus'). El grupo B, sin embargo, sólo presentó porcentajes dentro de lo esperable en una población sana para TAG, tanto en brote como en remisión, y para cHDL sólo en remisión.

De cara a interpretar los resultados podríamos postular que tal vez el grupo B, en el que existe más riesgo de aterosclerosis, presentó un patrón lipídico más aterogénico que el grupo A (tanto en brote como en remisión presentaron más elevados los valores de CT y de cLDL, con mayor porcentaje de valores patológicos respecto al grupo A de cLDL; sólo en remisión presentaron valores mayores que el grupo A de: TAG, cociente CT/cHDL y cociente cLDL/cHDL; y mayor porcentaje de valores patológicos de CT), patrón que no se modificó por la inflamación del brote (no disminuyeron, por ejemplo como ocurrió en el grupo A los niveles de cHDL).

En el grupo A, el brote condicionó un empeoramiento del patrón lipídico respecto a la situación de remisión a expensas sobretudo de valores de TAG (presentando también mayor porcentaje de pacientes con valores patológicos en brote que durante la remisión, y objetivando mayor porcentaje de valores patológicos en brote que el grupo B); de valores de cociente CT/cHDL, que en remisión se corrigieron; y de valores de cHDL que en brote fueron menores a los del grupo B (presentando también mayor porcentaje de valores patológicos en brote el grupo A que el grupo B). Los valores de TAG y cHDL correlacionaron con la actividad de la enfermedad. En este grupo A observamos el 'patrón de lupus' en cuanto que presentó mayor porcentaje que la población sana de valores patológicos de TAG y cHDL en brote (y también del resto de parámetros que describen el perfil lipídico) y sólo de cHDL en remisión.

El grupo B, sin embargo, sólo presentó porcentajes dentro de lo esperable en una población sana para TAG en brote y remisión y cHDL sólo durante la remisión (presentando, por tanto en remisión la imagen inversa al 'patrón de lupus').

6.3 ANALISIS BIOMARCADORES

No hay ningún estudio en pacientes con LES en el que se haya evaluado análisis de sMPO, IL-6, PCR o FvW:Ag a un mismo paciente en dos momentos diferentes de la enfermedad. Kato et al²⁰⁵ determinaron sCD40L a un sólo paciente de forma prospectiva, que mostró valores menores en remisión que durante el brote. Para sVCAM-1 y s-ICAM-1 existen varios estudios, ninguno de ellos con una muestra mayor que la nuestra: Ikeda et al¹⁴⁵ en un subgrupo de 11 pacientes con glomerulonefritis lúpica determinaron valores en brote y en remisión de sVCAM-1 y sICAM-1, objetivando disminución en remisión de los valores de sVCAM-1; Sprong et al¹⁴⁷ realizaron análisis seriados a 22 pacientes con LES observando valores mayores también de sVCAM-1 a mayor SLEDAI y mayores en los pacientes con brote renal versus sin afectación renal y sin observar diferencias significativas en cuanto a sICAM-1; Horak et al¹⁵² siguieron durante 6 meses a 52 pacientes tomando 3 determinaciones sanguíneas durante este periodo y valorando el índice de actividad de la

enfermedad en cada momento. Ninguno de ellos objetivó correlación entre índice de actividad y valores de sVCAM-1 o sICAM-1.

En nuestro estudio recogimos muestra sanguínea de 54 pacientes con LES para cada uno de ellos en brote y en remisión.

De las asociaciones objetivadas entre biomarcadores y variables de estudio, cabe destacar:

- sVCAM-1 correlacionó tanto en brote como en remisión con los valores de FvW:Ag en brote y remisión respectivamente. Ambos son parámetros de actividad endotelial, y en ambos se ha descrito aumento de la expresión tras estímulo con anticuerpos anti-dsDNA^{150, 270}. También, ambos parámetros correlacionaron con cociente CT/cHDL y cLDL/cHDL en brote, y sólo FvW:Ag también en remisión. Un estudio practicado por Nilsson et al²⁵⁵ no objetivó correlación entre FvW:Ag y perfil lipídico y tampoco Richter et al¹³⁰ objetivaron correlación entre sVCAM-1 y perfil lipídico (en ninguno de los 2 estudios se midieron cocientes). Nuestros resultados son contrarios a lo sugerido por Sprong et al¹⁴⁷, al no encontrar asociación entre brote renal y niveles de sVCAM-1. Tampoco encontramos asociación entre sVCAM-1 y SLEDAI, asociación descrita por estos autores¹⁴⁷. De acuerdo con nuestros resultados, se encontraría el estudio de Horak et al¹⁵², realizado con una muestra mayor de pacientes con LES que el estudio previo. Los valores de FvW:Ag en brote fueron más elevados en pacientes con fiebre en el brote o insuficiencia renal durante el brote. La IL-1, también conocida como pirógeno endógeno, tiene entre otras acciones principales la producción de fiebre, y se ha descrito en estudios *in vitro* secretora de FvW vía aumento de la producción de trombina²⁹³. Se ha asociado la presencia de insuficiencia renal con valores incrementados sostenidos en plasma de FvW, sin poder especificar si es resultado de un aumento en la síntesis o de un déficit de aclaramiento²⁹⁴. La presencia de brote renal se asoció a valores más elevados de FvW:Ag durante la remisión y la presencia de afectación del aparato músculoesquelético a valores menores de FvW:Ag durante la remisión. Esta relación la podemos interpretar considerando que la presencia de brote renal versus otros tipos de brotes (siendo el segundo en frecuencia de presentación la afectación del aparato músculoesquelético), se asoció en remisión a criterios de insuficiencia renal de forma casi estadísticamente significativa y a nefropatía persistente. Tanto el cumplir criterios de insuficiencia renal en remisión como la nefropatía persistente se asociaron a valores de FvW:Ag más elevados en remisión que los de los pacientes sin criterios de

insuficiencia renal en remisión y sin nefropatía persistente respectivamente. De forma contraria, la afectación del aparato músculoesquelético durante el brote se asoció en remisión a la no presencia de criterios de insuficiencia renal ni a la persistencia de nefropatía.

- Correlación entre valores de IL-6 y PCR tanto en situación de brote como en situación de remisión respectivamente. PCR se produce principalmente en el hepatocito, teniendo como principal estímulo la citocina IL-6²²³. Los pacientes obesos presentaron niveles más elevados de IL-6 y de PCR en remisión que los pacientes con sobrepeso o normopeso, confirmando el comportamiento ya descrito en la literatura previa conforme que los niveles de PCR¹⁵⁵ y de IL-6²⁰⁷ aumentan con el almacenamiento de tejido graso. La afectación durante el brote del aparato músculoesquelético se asoció a mayores niveles de IL-6; de hecho IL-6 es un biomarcador de inflamación y daño muscular y articular²⁹⁵. Los pacientes con fiebre presentaron valores más elevados de PCR que aquéllos que se mantuvieron apiréticos. Se han practicado estudios en los que se ha valorado en personas la temperatura corporal, no encontrándose correlación entre ésta y los niveles de PCR²⁹⁶; sin embargo, en pacientes con infarto agudo de miocardio la fiebre que aparecía correlacionaba con niveles de PCR, interpretándose la misma como reflejo de la mayor extensión del infarto²⁹⁷.

Sólo se observaron diferencias estadísticas en la muestra global entre los valores de brote y de remisión para sVCAM-1, IL-6 y PCR (con valores mayores en brote que en remisión) y para sCD40L (con valores menores en brote que en remisión).

Cuando dividimos la muestra en 2 grupos (A y B) en función del riesgo de aterosclerosis, sólo el grupo A mostró valores menores en remisión que en brote de PCR; sólo el grupo B presentó valores más elevados en brote que en remisión de sVCAM-1. En ambos subgrupos sCD40L fue mayor en remisión que en brote e IL-6 rozó la significación estadística.

Los valores de PCR en el grupo A fueron menores durante la remisión que durante el brote. A destacar que en el grupo B este cambio no se produjo, pues en remisión los pacientes del grupo B mantuvieron valores elevados de PCR (el grupo con riesgo vascular mantuvo valores elevados en remisión). Los valores de PCR en brote del grupo A no guardaron relación con actividad de la enfermedad (ni con SLEDAI, ni con anti-dsDNA, ni con niveles de complemento), como ya se ha descrito en estudios previos²⁵⁰. Así pues, podríamos interpretar que el aumento de los valores de PCR durante el brote respecto a la remisión en el grupo A podría manifestar un aumento de riesgo vascular respecto a la situación de

remisión en este grupo, siendo la mediana en este grupo superior a 0,3 mg/dL sólo durante el brote (y correspondiendo por tanto en la clasificación de alto riesgo de la Asociación Americana del Corazón (AHA)). Se ha descrito mayor riesgo vascular con mayores valores de PCR²⁹⁸ y en pacientes con LES el estudio LUMINA³² describió PCR como predictor independiente de episodio clínico cardiovascular.

Los valores de PCR independientemente del grupo en el que se estudiaron presentaron correlación tanto en brote como en remisión con los valores de IL-6 respectivamente. Por tanto, podríamos postular que los niveles sanguíneos de PCR en nuestros pacientes provinieron del hígado, tras estimulación de los hepatocitos por IL-6²²³.

En cuanto a los valores más elevados de sVCAM-1 en el grupo B durante el brote que durante la remisión, a destacar que en el grupo A este cambio no se produjo, pues en brote los pacientes del grupo A mantuvieron valores sVCAM-1 similares a los de remisión. El hecho de que sVCAM-1 aumente durante el brote sólo en el grupo con riesgo de aterosclerosis, tal vez refleje la disfunción endotelial aumentada por el brote, durante el cual inmunocomplejos y anticuerpos anti-dsDNA pueden estimular en las células endoteliales la expresión de sVCAM-1, como se ha demostrado en estudios *in vitro*^{150, 151}. Se ha vinculado la presencia de anticuerpos anti-dsDNA (que en muchos casos aumentan durante el brote), en base a estudios *in vitro*, con aumento de apoptosis endotelial, contribuyendo a la pérdida de la integridad endotelial⁷², y consecuentemente al inicio de la aterosclerosis²⁹⁹; y con capacidad de inducción de la metilación de la arginina para formar dimetilarginina asimétrica (ADMA)⁷⁴. ADMA es un inhibidor endógeno del óxido nítrico. Niveles elevados de ADMA se han asociado a disfunción endotelial y elevado riesgo de eventos coronarios agudos⁷⁵; así como con hiperexpresión endotelial de VCAM-1¹⁵⁰. De hecho, en el grupo B, sVCAM-1 correlacionó con el ratio anticuerpos anti-dsDNA (y no en el grupo A) y no correlacionó con SLEDAI, de forma que podríamos vincular el aumento de los anticuerpos al aumento de expresión endotelial de VCAM-1 y consecuente aumento en sangre de sVCAM-1, e incluso podríamos postular que podría ser que estos anticuerpos anti-dsDNA sólo estimulasen cierto tipo de células endoteliales, aquellas envueltas en un proceso más avanzado de aterosclerosis, pues los pacientes del grupo A no aumentaron durante el brote los valores de sVCAM-1. El hecho que la correlación entre anti-dsDNA y sVCAM-1 en remisión no se objective, sugiere que los anticuerpos anti-dsDNA por si solos no serían suficientes para el estímulo del endotelio durante la situación de brote.

Los valores de sVCAM-1 correlacionaron de forma negativa con los niveles de complemento C3 (asociación encontrada para el grupo global y sólo en el grupo B). Cabe recordar que VCAM-1 no se expresa en células de forma constitutiva. Después de un estímulo con IL-1, *endotoxinas* o agregados del complejo inmune C1q³⁰⁰, las células endoteliales sintetizan y

expresan VCAM-1 en su superficie. Estos mismos agregados C1q pueden activar la vía clásica del complemento, generando una C3 convertasa que a su vez contribuirá a disminuir los niveles de C3 sanguíneos (C3 convertasa escindirá C3 en C3b y C3a).

Hemos practicado estudios estadísticos con el objetivo de demostrar que el comportamiento de sVCAM-1 elevado en brote respecto a la remisión era propio de los pacientes del grupo B y no secundario a que en dicho grupo B hubo un mayor porcentaje de pacientes que en el grupo A con brote renal, con nefropatía persistente y recibiendo micofenolato/azatioprina en remisión.

Por lo que se refiere a los valores mayores de sCD40L en remisión que en brote, ambos grupos mostraron similar comportamiento. Hasta ahora, en la literatura médica se habían descrito en brote, mayores valores de sCD40L a mayor índice de actividad de la enfermedad^{204, 205}. Sin embargo, en ningún estudio se había analizado prospectivamente a los mismos pacientes en dos momentos diferentes de actividad. Un estudio publicado recientemente reporta niveles de sCD40L menores en enfermedad activa que en inactiva²⁰⁶ (aunque no se practicó estudio estadístico). Al crear un modelo explicativo de este fenómeno (sCD40L mayor en remisión que en brote) obtuvimos que se asociaba a: dosis de prednisona en el momento de la extracción de la muestra superiores a 15 mg/día, cambio de SLEDAI entre brote y remisión inferior al 80% y plaquetas en brote inferiores o iguales a $192.000 \times 10^6/L$. Analizamos, a continuación, la relación entre SLEDAI y sCD40L controlando las variables prednisona >15 mg/día en el momento del brote y plaquetas $\leq 192.000 \times 10^6/L$. Los pacientes en brote con puntuaciones de SLEDAI bajas (menores o iguales al percentil 50) disminuyeron los valores de sCD40L respecto a los valores de remisión. Sin embargo, con puntuaciones de SLEDAI altas (superiores a la mediana), aquellos pacientes con plaquetas en brote $\leq 192.000 \times 10^6/L$ y/o dosis de prednisona en el momento de la extracción analítica de la muestra >15 mg/día, mostraron valores de sCD40L menores que los de los pacientes con puntuaciones de SLEDAI bajas y también menores a los valores en remisión; el resto de pacientes mostraron niveles de sCD40L mayores que los pacientes con puntuaciones de SLEDAI bajas (aunque sin llegar a ser estadísticamente significativas), y tampoco mostraron diferencias respecto a los valores que adoptaron en remisión. Los valores de sCD40L correlacionaron con la puntuación de SLEDAI, en el grupo con plaquetas en brote $\leq 192.000 \times 10^6/L$ y/o dosis de prednisona en el momento de la extracción analítica de la muestra >15 mg/día de forma negativa, y en el otro grupo de forma positiva. Ante estos hallazgos podríamos postular que los niveles de sCD40L en los pacientes con LES en brote disminuyen con bajas puntuaciones de SLEDAI (tal vez por un proceso de consumo, pues la forma soluble, que es la que medimos, es biológicamente activa^{182, 205}). A elevadas puntuaciones de SLEDAI, si no hay suficientes plaquetas (por encima de $192.000 \times 10^6/L$) y/o

en presencia de dosis elevadas de prednisona (>15 mg/día), los niveles de sCD40L disminuyen aún más; pero en el resto de casos los niveles de sCD40L en brote no muestran diferencias estadísticamente significativas con respecto a los valores de remisión ni con respecto a los valores de sCD40L en los pacientes con bajas puntuaciones de SLEDAI (igual o menores a la mediana). Estos resultados nos indican que tanto las plaquetas como las dosis de prednisona administradas juegan un papel importante en los niveles séricos de sCD40L durante el brote muy activo. Revisando a posteriori los estudios publicados describiendo niveles de sCD40L en pacientes con LES mayores a mayor actividad, no aportan datos sobre dosis de prednisona en el momento de la extracción de la muestra ni sobre el número de plaquetas circulantes. Las plaquetas pueden ser una fuente de sCD40L por ellas mismas, y en estudios practicados en pacientes con angina inestable se han postulado como principales contribuyentes a los niveles elevados de sCD40L^{180, 181}.

La prednisona podría actuar modificando potenciales fuentes de sCD40L (pues las células para expresar CD40L en su superficie requieren estar activadas). Como ya se ha mencionado en la introducción, CD40L se halla ampliamente distribuido en las células de la vasculatura: células leucocitarias (linfocitos T y B en general, monocitos/macrófagos/células dendríticas, basófilos/mastocitos, eosinófilos) y células no leucocitarias (células endoteliales, células epiteliales, células del músculo liso, plaquetas y fibroblastos), pero su expresión en la membrana sólo ocurre en células activadas. Se han efectuado estudios *in vitro* con linfocitos de pacientes con LES objetivando hiperexpresión de CD40L tras activación^{198, 200}.

Se ha descrito que los glucocorticoides promueven la transcripción de RNA mensajero (mRNA) de CD40L y la expresión en la membrana celular de la proteína en monocitos humanos, y en linfocitos T y B purificados. Este efecto se produce tras actuar sobre receptores de glucocorticoides celulares³⁰¹. En nuestro estudio observamos que aquellos pacientes con dosis mayores a 15 mg/día de prednisona presentaron valores menores de sCD40L. Tal vez sea porque a dichas dosis los efectos de la prednisona se dan por interacción directa con las membranas biológicas y no por actuar sobre receptores celulares. Los corticoides presentan efectos inmunológicos al interaccionar con las membranas biológicas o al actuar sobre receptores celulares para glucocorticoides, bien sea en el genoma o en la superficie celular. Hay autores que postulan tres efectos terapéuticos distintos³⁰²: genómicos (los receptores citosólicos genómicos con alta afinidad se afectarían con bajos niveles de esteroides y alterarían la expresión de genes específicos, afectándose receptores citosólicos de forma aditiva a medida que la concentración de prednisona aumentase), no-genómicos específicos (mediados por receptores de membrana selectivos) y no-genómicos inespecíficos (sólo ocurren dichos efectos a elevadas dosis de glucocorticoides y parecen ser resultado de una interacción directa con las membranas

biológicas, pudiendo disminuir o prevenir la respuesta inmune tras interferir con los procesos - como el aumento de la concentración de calcio intracelular - que son esenciales para la activación inmediata y sostenida de los linfocitos). A elevadas dosis, aunque no hay estudios en humanos (sólo se han practicado estudios *in vitro*) no se objetivan efectos genómicos, es decir, efectos en síntesis de proteínas, sino sólo efectos a nivel del funcionalismo celular. Por otro lado, también se ha demostrado *in vitro* que la administración de prednisona inhibe de una forma dosis-dependiente la actividad de los monocitos como células presentadoras de antígeno, manifestándose en inhibición de la respuesta proliferativa linfocítica³⁰³, y comportando entre otros efectos disminución en el número de linfocitos T circulantes^{304, 305}. La prednisona por lo tanto podría influir disminuyendo el número de linfocitos, y consecuentemente reduciendo una fuente identificada de CD40L en los pacientes con LES.

Nuestro trabajo induce a seguir estudiando con mayor detalle el motivo por el que elevadas dosis de prednisona así como bajos niveles de plaquetas interactúan en los niveles de sCD40L. Un estudio exhaustivo en esta dirección quizás nos permitirá una mejor comprensión de los mecanismos que vinculan sCD40L y la enfermedad lúpica.

Hemos objetivado en la muestra en global mayor proporción de pacientes con “valores elevados” en brote que en remisión de PCR y mayor proporción de pacientes con “valores elevados” en remisión que en brote de sCD40L.

En el análisis por grupos de riesgo de aterosclerosis coronaria, el grupo A presentó mayor porcentaje de pacientes con “valor elevado” en brote que en remisión en las variable FvW:Ag y ambos grupos presentaron mayor porcentaje de “valores elevados” en remisión que en brote de sCD40L.

Cuando comparamos con la población sana, nuestros pacientes mostraron globalmente una proporción superior de “valores elevados” mayores que lo esperable en la población sana tanto en brote como en remisión para todos los biomarcadores, excepto para sICAM-1 (con proporción de “valores elevados” tanto en brote como en remisión similar a lo esperable en población sana). Este hallazgo ya se describe en la literatura previa, con valores no superiores a la población sana de sICAM-1^{145, 148}. Para el resto de parámetros, exceptuando sICAM (ICAM-1 se expresa en las células endoteliales normales y se objetiva en segmentos arteriales sanos), independientemente del grado de actividad de la enfermedad siempre hay mayor porcentaje de valores patológicos que los esperables en población sana. Capper et al³⁰⁶ ya describieron niveles elevados de citocinas inflamatorias tanto en periodos de actividad como de inactividad del LES. Tal vez ésta sería una manifestación objetiva del grado de inflamación crónica existente en pacientes con LES, que justifica que, aunque los

pacientes se encuentren poco activos en cuanto a enfermedad lúpica se refiere, sigan presentando mayor riesgo ateroesclerótico⁵⁰.

En el análisis por subgrupos, de nuevo sICAM-1 tanto en brote como en remisión presentó proporción de “valores elevados” similar a la esperada en la población sana en ambos subgrupos. El grupo A presentó en remisión porcentajes dentro de lo esperable para una población sana también para las variables IL-6 y FvW:Ag.

Al analizar diferencias entre los grupos de riesgo ateroesclerótico en una misma situación de la enfermedad (brote o remisión) observamos:

- En brote, el grupo con más riesgo de ateroesclerosis presentó valores menores de sMPO que el grupo A. Ambos grupos no presentaron diferencias en cuanto a número de leucocitos durante el brote. Ambos grupos tuvieron un elevado número de pacientes que durante el brote presentaban valores superiores a los esperados en población sana. Sin embargo, objetivamos valores medianos menores durante el brote en el grupo B que en el grupo A. Estos valores disminuidos tal vez sean debidos a un mayor consumo de MPO. Se ha demostrado que la MPO del torrente sanguíneo puede ser acumulada en el espacio subendotelial a través de la célula endotelial por un proceso transcitótico¹⁶⁹ (tal vez la inflamación del brote comporte mayor avidéz del endotelio de los pacientes con riesgo ateroesclerótico, frente a los pacientes con bajo riesgo ateroesclerótico).

- En remisión, observamos que el grupo B presentó valores más elevados y más patológicos de FvW:Ag que el grupo A (que presentó porcentajes de valores patológicos de FvW:Ag similares a los esperados en población sana). Podríamos interpretar que el brote condicionó daño endotelial en ambos grupos, y ambos elevaron los valores de FvW:Ag durante el mismo, pero mientras que el grupo A en remisión disminuyó los valores e incluso los normalizó, el grupo B persistió en remisión con valores elevados. Los valores elevados de FvW:Ag se han postulado como marcadores de disfunción endotelial^{252, 253} o de actividad endotelial²⁵⁴.

6.3.1 VISIÓN RESUMIDA GRUPOS ATEROESCLEROSIS Y BIOMARCADORES

En ambos grupos se observaron valores mayores en remisión que en brote de sCD40L (presentando también mayor proporción de valores patológicos elevados en remisión que en brote). También en ambos grupos, observamos proporción de “valores elevados” de sICAM similar a la observada en población sana tanto en brote como en remisión.

El grupo A presentó valores menores en remisión que en brote de PCR y mayor porcentaje de ‘valores elevados’ en brote que en remisión para FvW:Ag (y en remisión presentó similar

porcentaje de “valores elevados” a la población sana). El grupo A en remisión presentó porcentajes dentro de lo esperable para una población sana para IL-6, FvW:Ag, sICAM-1 (éste último es común al grupo B).

El grupo B mostró valores superiores en brote que en remisión de sVCAM y valores menores en brote de sMPO que el grupo A. El grupo B en remisión no presentó ningún porcentaje dentro de lo esperable para una población sana (excepto para sICAM-1). En remisión valores mayores FvW:Ag que el grupo A (y mayor porcentaje en remisión de valores elevados que A). Este grupo, con mayor riesgo de aterosclerosis coronaria presentó elevados los valores de biomarcadores de actividad endotelial: sVCAM-1 (que aumentó durante el brote respecto a la remisión) y FvW:Ag (con valores más elevados en remisión que en el grupo A).

6.4 VISIÓN CONJUNTA: PERFIL LIPÍDICO Y BIOMARCADORES EN FUNCIÓN DEL RIESGO VASCULAR

Objetivamos pues, que en ambos grupos la actividad de la enfermedad aumentó el riesgo cardiovascular: en el grupo con bajo riesgo coronario, aumentando PCR y parámetros del perfil lipídico (TAG y cociente CT/cHDL); y en el grupo con riesgo coronario, aumentando sVCAM en correlación con niveles de anticuerpos anti-dsDNA y complemento C3.

Nuestras observaciones apoyan la teoría de que los pacientes con LES tienen un estatus de inflamación sistémica dinámica que podría afectar al riesgo coronario y que durante el brote aumenta. El hecho de que dependiendo del riesgo vascular los pacientes muestren cambios en diferentes marcadores, tal vez refleje distintos comportamientos de los biomarcadores y de los lípidos en función del estado de la vasculatura en cuanto al proceso de la aterosclerosis se refiere, concepto que algunos autores ya propugnan respecto a la utilidad de los biomarcadores en distintas etapas de la evolución de la enfermedad¹¹⁶.

En remisión, en los pacientes con bajo riesgo vascular la mayoría de los parámetros disminuyeron sus valores respecto al brote, mientras que en los pacientes con riesgo vascular estos parámetros persistieron elevados. Sin embargo, en remisión, en ambos grupos objetivamos parámetros con mayor porcentaje de valores patológicos que el presentado en población sana: para el grupo A (cHDL, sVCAM-1, sCD40L, PCR) y para el grupo B (CT, cLDL, cociente CT/cHDL y cociente cLDL/cHDL, sVCAM-1, sCD40L, IL-6, PCR, FvW:Ag). En la literatura previa se había descrito en brote el ‘patrón de lupus’ en cuanto a lípidos se refiere. En el brote se ha descrito en los pacientes con LES, en la enfermedad activa no tratada un patrón lipídico proaterogénico caracterizado por una elevación de triglicéridos y de las cVLDL con reducción de los niveles de cHDL y

apolipoproteína A-1³⁶. Sólo los pacientes del grupo de bajo riesgo presentaron tanto en brote como en remisión niveles patológicos de cHDL, mientras que en el grupo de riesgo elevado fue el único parámetro del perfil lipídico en el que los pacientes no presentaron valores más patológicos que los esperados en la población sana. A destacar que el grupo B presentó en remisión valores elevados de FvW:Ag que se han postulado como marcadores de disfunción endotelial^{252, 253}. Los pacientes del grupo A en remisión, al igual que los del grupo B, presentaron un porcentaje elevado de valores patológicos de sVCAM-1 respecto al esperado en población sana, tratándose de un biomarcador que sólo se expresa en endotelio estimulado¹²⁶. El elevado porcentaje de biomarcadores con valores patológicos en remisión en ambos grupos de riesgo aterosclerótico apoya la teoría del LES como una enfermedad inflamatoria crónica, que conlleva, pese a presentar escasos brotes de la enfermedad, mayor riesgo cardiovascular⁵⁰. EL LES sería un estado proinflamatorio caracterizado por desregulación crónica de la respuesta de las células inflamatorias y actividad del sistema inmune con niveles elevados de citocinas inflamatorias tanto en periodos de actividad como de inactividad³⁰⁶, indicando que hay una inflamación crónica elevada persistente, que se incrementa en los periodos de exacerbación.

En conclusión, del análisis practicado objetivamos que mientras el grupo de bajo riesgo vascular durante el brote experimenta empeoramiento de parámetros de perfil lipídico y aumento respecto a los valores de remisión de PCR, el grupo de mayor riesgo aterosclerótico sólo experimenta aumento de sVCAM-1 en brote respecto a los valores de remisión, mostrando tanto en brote como en remisión valores similarmente elevados de PCR y de parámetros de perfil lipídico. Es imposible discernir si el incremento de los valores de estos parámetros inflamatorios durante el brote lleva implicada una evolución del proceso aterosclerótico, o simplemente traduce una respuesta de fase aguda sistémica en relación al brote. Pero se puede postular en base a que cada uno de los grupos de riesgo presenta un comportamiento diferente, que podría tratarse de diferentes respuestas del organismo a los cambios de inflamación que comporta la actividad del LES en función del grado de aterosclerosis: aquéllos sin aterosclerosis, con aumento de PCR, TAG y cociente CT/cHDL; y aquéllos con aterosclerosis mostrando mayor actividad endotelial (sVCAM-1). En contra de tratarse de un simple aumento en relación a la inflamación de la enfermedad, objetivamos que ni PCR ni sVCAM-1 correlacionaron con puntuación de SLEDAI.

CAPÍTULO 7

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Una de las principales limitaciones del estudio en cuanto a metodología es que en muchas ocasiones la extracción de la muestra y la valoración clínica no fue posible practicarlas el mismo día. El motivo fue por razones logísticas y comodidad de los pacientes, la mayoría de ellos laboralmente activos. Los pacientes en nuestro servicio, suelen acudir a la consulta para ser valorados clínica y analíticamente, de forma que para disponer de los resultados analíticos en el momento de la visita, se suelen extraer las muestras sanguíneas unas semanas previas al momento de la misma. Sólo aquellos pacientes que acuden a visitarse de lugares lejanos a nuestro centro acostumbran a programarse el mismo día la extracción analítica y la consulta (se contacta telefónicamente con ellos si existen hallazgos analíticos llamativos). En otras ocasiones, el paciente acudió sólo para ser visitado clínicamente, no disponiendo de analítica reciente (en pacientes con LES estable solemos programarlas como máximo anualmente). Si en ese momento fue detectado un cambio clínico (brote o remisión) se programó al paciente extracción analítica en la semana siguiente.

Además, en algunas ocasiones ocurrió que la extracción analítica del brote fue practicada tras inicio del tratamiento del mismo, bien fuera porque el paciente acudiese a otro facultativo que inició el tratamiento corticoideo, bien fuera por iniciativa propia del paciente o bien porque la gravedad del cuadro clínico presentado motivó la rapidez en empezar el tratamiento.

Otra limitación importante de nuestro estudio fue la no disposición de grupo control, teniendo que asumir resultados de otros estudios con grupo control o límites de normalidad de nuestro

laboratorio. En un principio, el estudio pretendía sólo la comparación de cada enfermo consigo mismo en los dos momentos de la enfermedad (brote y remisión). El afán científico hizo que quisiéramos comparar los resultados obtenidos con los esperables en población sana.

Por otro lado, en situación de remisión todos los pacientes se encontraban bajo tratamiento (inmunosupresor o corticoideo). Se trató pues de una remisión de enfermedad lúpica controlada por el tratamiento inmunosupresor. Sería interesante repetir el análisis en pacientes en remisión sin tratamiento y valorar en ellos el comportamiento de los parámetros sanguíneos analizados.

Es discutible el criterio elegido para clasificación del riesgo vascular. Planteamos otras posibilidades que se mencionan, pero la edad media de los pacientes hacía preveer una baja incidencia de patología, por lo que el estudio estadístico carecería de equidad entre los grupos.

CAPÍTULO 8

CONCLUSIONES

- 1 Los pacientes con LES han mostrado cambios entre el brote y la remisión, con aumento de los valores de sCD40L y descenso de sVCAM-1, IL-6, PCR, cociente CT/cHDL y cociente cLDL/cHDL.
- 2 Los cambios en el perfil lipídico entre el brote y la remisión se objetivaron en los pacientes en tratamiento con dosis de prednisona superiores a 10 mg/día y sin tratamiento antipalúdico. En el brote los valores de TAG se elevaron mucho más en los pacientes que recibían dosis de prednisona >10 mg/día sin antipalúdicos.
- 3 La presencia de fiebre en el brote se asoció a una disminución de CT, cHDL, cLDL y aumento de TAG, aumentando el cociente CT/cHDL, y empeorando por tanto el perfil lipídico.
- 4 Ni los valores, ni el porcentaje de valores patológicos de sICAM-1, se asociaron a cambios de actividad del LES. Tampoco los pacientes mostraron mayor porcentaje de valores patológicos de sICAM-1 que los esperados en población sana.
- 5 La agrupación de los pacientes con riesgo de aterosclerosis coronaria por la edad en el diagnóstico del lupus mayor a 34 años y/o CT >200 mg/dL en el momento de la remisión del brote, resultó muy acertada. En este grupo quedaron incluidos también todos aquellos otros factores de riesgo descritos por la literatura asociados a pacientes con

coronariopatía clínica y LES a excepción de dosis acumulada de prednisona y tiempo de evolución.

- 6 El brote provocó un empeoramiento de algunos de los parámetros de riesgo vascular respecto de los valores de remisión, mostrando un comportamiento diferente en función del grupo de riesgo de aterosclerosis al que pertenecía el paciente:
 - a. El grupo de bajo riesgo vascular mostró cambios entre brote y remisión para: TAG, cociente CT/cHDL y PCR (disminución en remisión respecto a lo que ocurrió en el grupo B, cuyos integrantes persistieron con niveles elevados). Este comportamiento tal vez nos traduzca un aumento del riesgo vascular durante el brote en el grupo de bajo riesgo vascular.
 - b. El grupo de riesgo vascular sólo mostró cambios para sVCAM-1 entre el brote y la remisión (aumentó en brote respecto a lo que ocurrió en el grupo A). Este comportamiento tal vez esté manifestando un aumento de la actividad endotelial durante el brote en pacientes con un supuesto endotelio patológico.
 - c. La diferente respuesta de los biomarcadores en el brote en función del grupo de riesgo vascular, pone en evidencia la diferente utilidad de los biomarcadores en función de la fase evolutiva del proceso aterosclerótico.

- 7 El brote condicionó un empeoramiento del porcentaje de valores patológicos de los parámetros de riesgo vascular, mostrando un comportamiento diferente en función del grupo de riesgo de aterosclerosis al que pertenece el paciente:
 - a. El grupo de bajo riesgo vascular mostró cambios entre brote y remisión para: CT, TAG y FvW:Ag. Pasando todos ellos de porcentajes patológicos en brote superiores a los esperados en población sana a porcentajes en remisión similares a los esperados en población sana.
 - b. El grupo de riesgo vascular no mostró cambios entre el brote y la remisión.

- 8 En brote, el grupo de mayor riesgo vascular mostró valores de sMPO menores a los del grupo con menor riesgo vascular. Una hipótesis podría ser el consumo por el endotelio de sMPO.

- 9 En remisión, el grupo de mayor riesgo vascular mostró valores de FvW:Ag mayores a los del grupo de menor riesgo (presentando el grupo B mayor proporción de valores en el rango patológico respecto a lo esperado en población sana; y el grupo A porcentaje similar al esperado en población sana). Tal vez estos valores elevados reflejan la disfunción endotelial mantenida del grupo de riesgo elevado.
- 10 En brote, sólo mostraron patrón lipídico proaterogénico con TAG elevados y cHDL disminuido (patrón de lupus) los pacientes de bajo riesgo vascular (de hecho, en este grupo todos los parámetros lipídicos durante el brote presentaron porcentajes elevados respecto a los esperados en población sana). Los pacientes con elevado riesgo vascular sólo mostraron normalidad de los parámetros característicos del 'patrón de lupus' en remisión, presentando también durante el brote normalidad sólo para TAG.
- 11 Los pacientes con LES presentaron un estado crónico inflamatorio con porcentajes de valores patológicos superiores a los esperados en población sana para sVCAM-1, sMPO, sCD40L, PCR en ambos grupos y tanto en brote como en remisión. El grupo de menor riesgo vascular, en remisión también presentó porcentajes de valores patológicos similares a los de la población sana para IL-6 y FvW:Ag.
- 12 Los valores de sCD40L fueron mayores durante la remisión que durante el brote (presentando también mayor porcentaje de valores patológicos en remisión que en brote, y siempre mayor porcentaje del esperado en población sana). Esto sucedió siempre a bajas puntuaciones de SLEDAI durante el brote e incluso a elevadas puntuaciones en presencia de elevadas dosis de prednisona (>15 mg/día) y/o insuficientes plaquetas ($\leq 192.000 \times 10^6/L$). En este caso, la reducción fue mayor que la observada a bajas puntuaciones de SLEDAI. En el resto de casos, a elevadas puntuaciones de SLEDAI no existieron diferencias significativas entre el brote y la remisión. Estos resultados sugieren que la actividad de la enfermedad confiere consumo de sCD40L y que a elevado grado de actividad existen mecanismos en relación a las plaquetas e inhibidos por elevadas dosis de corticoides que conllevan un aumento de los niveles sanguíneos de sCD40L.

BIBLIOGRAFÍA

1. ter Borg EJ, Horst G, Hummel EJ, Limburg PC, Kallenberg CG. Measurement of increases in anti-double-stranded DNA antibody levels as a predictor of disease exacerbation in systemic lupus erythematosus. A long-term, prospective study. *Arthritis Rheum* 1990;33(5):634-43.
2. McHugh NJ. Systemic lupus erythematosus and dysregulated apoptosis-what is the evidence? *Rheumatology (Oxford)* 2002;41(3):242-5.
3. Barcellini W, Rizzardi GP, Borghi MO, et al. In vitro type-1 and type-2 cytokine production in systemic lupus erythematosus: lack of relationship with clinical disease activity. *Lupus* 1996;5(2):139-45.
4. Gomez D, Correa PA, Gomez LM, Cadena J, Molina JF, Anaya JM. Th1/Th2 cytokines in patients with systemic lupus erythematosus: is tumor necrosis factor alpha protective? *Semin Arthritis Rheum* 2004;33(6):404-13.
5. Aringer M, Smolen JS. Tumour necrosis factor and other proinflammatory cytokines in systemic lupus erythematosus: a rationale for therapeutic intervention. *Lupus* 2004;13(5):344-7.
6. Studnicka-Benke A, Steiner G, Petera P, Smolen JS. Tumour necrosis factor alpha and its soluble receptors parallel clinical disease and autoimmune activity in systemic lupus erythematosus. *Br J Rheumatol* 1996;35(11):1067-74.
7. Klashman DJ, Martin RA, Martinez-Maza O, Stevens RH. In vitro regulation of B cell differentiation by interleukin-6 and soluble CD23 in systemic lupus erythematosus B cell subpopulations and antigen-induced normal B cells. *Arthritis Rheum* 1991;34(3):276-86.
8. Linker-Israeli M, Deans RJ, Wallace DJ, Prehn J, Ozeri-Chen T, Klinenberg JR. Elevated levels of endogenous IL-6 in systemic lupus erythematosus. A putative role in pathogenesis. *J Immunol* 1991;147(1):117-23.
9. Lacki JK, Leszczynski P, Kelemen J, Muller W, Mackiewicz SH. Cytokine concentration in serum of lupus erythematosus patients: the effect on acute phase response. *J Med* 1997;28(1-2):99-107.
10. Robak E, Sysa-Jedrzejowska A, Stepień H, Robak T. Circulating interleukin-6 type cytokines in patients with systemic lupus erythematosus. *Eur Cytokine Netw* 1997;8(3):281-6.

- 11.Llorente L, Richaud-Patin Y, Fior R, et al. In vivo production of interleukin-10 by non-T cells in rheumatoid arthritis, Sjogren's syndrome, and systemic lupus erythematosus. A potential mechanism of B lymphocyte hyperactivity and autoimmunity. *Arthritis Rheum* 1994;37(11):1647-55.
- 12.Amerio P, Frezzolini A, Abeni D, et al. Increased IL-18 in patients with systemic lupus erythematosus: relations with Th-1, Th-2, pro-inflammatory cytokines and disease activity. IL-18 is a marker of disease activity but does not correlate with pro-inflammatory cytokines. *Clin Exp Rheumatol* 2002;20(4):535-8.
- 13.Plana M, Font J, Vinas O, Martorell J, Ingelmo M, Vives J. Responsiveness of T lymphocytes from systemic lupus erythematosus to signals provided through CD26 antigen. *Clin Immunol Immunopathol* 1994;72(2):227-32.
- 14.Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997;40(9):1725.
- 15.Urowitz MB, Gladman DD, Abu-Shakra M, Farewell VT. Mortality studies in systemic lupus erythematosus. Results from a single center. III. Improved survival over 24 years. *J Rheumatol* 1997;24(6):1061-5.
- 16.Merrell M, Shulman LE. Determination of prognosis in chronic disease, illustrated by systemic lupus erythematosus. *J Chronic Dis* 1955;1(1):12-32.
- 17.Gladman DD. Prognosis and treatment of systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 1995;7(5):402-8.
- 18.Urowitz MB, Bookman AA, Koehler BE, Gordon DA, Smythe HA, Ogryzlo MA. The bimodal mortality pattern of systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1976;60(2):221-5.
- 19.Abu-Shakra M, Urowitz MB, Gladman DD, Gough J. Mortality studies in systemic lupus erythematosus. Results from a single center. I. Causes of death. *J Rheumatol* 1995;22(7):1259-64.
- 20.Petri M, Perez-Gutthann S, Spence D, Hochberg MC. Risk factors for coronary artery disease in patients with systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1992;93(5):513-9.

21. Manzi S, Meilahn EN, Rairie JE, et al. Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: comparison with the Framingham Study. *Am J Epidemiol* 1997;145(5):408-15.
22. Ward MM. Premature morbidity from cardiovascular and cerebrovascular diseases in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1999;42(2):338-46.
23. Bruce IN, Urowitz MB, Gladman DD, Hallett DC. Natural history of hypercholesterolemia in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1999;26(10):2137-43.
24. Esdaile JM, Abrahamowicz M, Grodzicky T, et al. Traditional Framingham risk factors fail to fully account for accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2001;44(10):2331-7.
25. Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998;339(4):229-34.
26. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *Jama* 2001;285(19):2486-97.
27. Wajed J, Ahmad Y, Durrington PN, Bruce IN. Prevention of cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus--proposed guidelines for risk factor management. *Rheumatology (Oxford)* 2004;43(1):7-12.
28. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004;364(9438):937-52.
29. Manzi S, Selzer F, Sutton-Tyrrell K, et al. Prevalence and risk factors of carotid plaque in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1999;42(1):51-60.
30. Svenungsson E, Jensen-Urstad K, Heimbürger M, et al. Risk factors for cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Circulation* 2001;104(16):1887-93.

- 31.Rahman P, Urowitz MB, Gladman DD, Bruce IN, Genest J, Jr. Contribution of traditional risk factors to coronary artery disease in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1999;26(11):2363-8.
- 32.Toloza SM, Uribe AG, McGwin G, Jr., et al. Systemic lupus erythematosus in a multiethnic US cohort (LUMINA). XXIII. Baseline predictors of vascular events. *Arthritis Rheum* 2004;50(12):3947-57.
- 33.Chung CP, Oeser A, Avalos I, Raggi P, Stein CM. Cardiovascular risk scores and the presence of subclinical coronary artery atherosclerosis in women with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2006;15(9):562-9.
- 34.Gladman DD, Urowitz MB. Morbidity in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol Suppl* 1987;14 Suppl 13:223-6.
- 35.Bruce IN, Gladman DD, Urowitz MB. Detection and modification of risk factors for coronary artery disease in patients with systemic lupus erythematosus: a quality improvement study. *Clin Exp Rheumatol* 1998;16(4):435-40.
- 36.Borba EF, Bonfa E. Dyslipoproteinemias in systemic lupus erythematosus: influence of disease, activity, and anticardiolipin antibodies. *Lupus* 1997;6(6):533-9.
- 37.Kashef S, Ghaedian MM, Rajaei A, Ghaderi A. Dyslipoproteinemia during the active course of systemic lupus erythematosus in association with anti-double-stranded DNA (anti-dsDNA) antibodies. *Rheumatol Int* 2007;27(3):235-41.
- 38.Sari RA, Polat MF, Taysi S, Bakan E, Capoglu I. Serum lipoprotein(a) level and its clinical significance in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 2002;21(6):520-4.
- 39.Reichlin M, Fesmire J, Quintero-Del-Rio AI, Wolfson-Reichlin M. Autoantibodies to lipoprotein lipase and dyslipidemia in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2002;46(11):2957-63.
- 40.Kronenberg F. Dyslipidemia and nephrotic syndrome: recent advances. *J Ren Nutr* 2005;15(2):195-203.

41. Jonsson H, Nived O, Sturfelt G. Outcome in systemic lupus erythematosus: a prospective study of patients from a defined population. *Medicine (Baltimore)* 1989;68(3):141-50.
42. Petri M, Roubenoff R, Dallal GE, Nadeau MR, Selhub J, Rosenberg IH. Plasma homocysteine as a risk factor for atherothrombotic events in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1996;348(9035):1120-4.
43. Manzi S. Systemic lupus erythematosus: a model for atherogenesis? *Rheumatology (Oxford)* 2000;39(4):353-9.
44. Ordonez JD, Hiatt RA, Killebrew EJ, Fireman BH. The increased risk of coronary heart disease associated with nephrotic syndrome. *Kidney Int* 1993;44(3):638-42.
45. Bruce IN. 'Not only, but also': factors that contribute to accelerated atherosclerosis and premature coronary heart disease in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2005;44(12):1492-502.
46. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340(2):115-26.
47. Mohan IK, Das UN. Oxidant stress, anti-oxidants and essential fatty acids in systemic lupus erythematosus. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997;56(3):193-8.
48. McMahon M, Grossman J, FitzGerald J, et al. Proinflammatory high-density lipoprotein as a biomarker for atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006;54(8):2541-9.
49. Kabakov AE, Tertov VV, Saenko VA, Poverenny AM, Orekhov AN. The atherogenic effect of lupus sera: systemic lupus erythematosus-derived immune complexes stimulate the accumulation of cholesterol in cultured smooth muscle cells from human aorta. *Clin Immunol Immunopathol* 1992;63(3):214-20.
50. Roman MJ, Shanker BA, Davis A, et al. Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003;349(25):2399-406.
51. Asanuma Y, Oeser A, Shintani AK, et al. Premature coronary-artery atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003;349(25):2407-15.

- 52.Selzer F, Sutton-Tyrrell K, Fitzgerald SG, et al. Comparison of risk factors for vascular disease in the carotid artery and aorta in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2004;50(1):151-9.
- 53.Simantov R, LaSala JM, Lo SK, et al. Activation of cultured vascular endothelial cells by antiphospholipid antibodies. *J Clin Invest* 1995;96(5):2211-9.
- 54.Vaarala O. Autoantibodies to modified LDLs and other phospholipid-protein complexes as markers of cardiovascular diseases. *J Intern Med* 2000;247(3):381-4.
- 55.Abu-Shakra M, Gladman DD, Urowitz MB, Farewell V. Anticardiolipin antibodies in systemic lupus erythematosus: clinical and laboratory correlations. *Am J Med* 1995;99(6):624-8.
- 56.de Bandt M, Benali K, Guillevin L, et al. Longitudinal determination of antiphospholipid antibodies in lupus patients without previous manifestations of antiphospholipid syndrome. A prospective study. *J Rheumatol* 1999;26(1):91-6.
- 57.Hahn BH. Systemic lupus erythematosus and accelerated atherosclerosis. *N Engl J Med* 2003;349(25):2379-80.
- 58.Janssen BA, Luqmani RA, Gordon C, et al. Correlation of blood levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1 with disease activity in systemic lupus erythematosus and vasculitis. *Br J Rheumatol* 1994;33(12):1112-6.
- 59.Reiss AB, Awadallah NW, Malhotra S, et al. Immune complexes and IFN-gamma decrease cholesterol 27-hydroxylase in human arterial endothelium and macrophages. *J Lipid Res* 2001;42(11):1913-22.
- 60.Petri M, Spence D, Bone LR, Hochberg MC. Coronary artery disease risk factors in the Johns Hopkins Lupus Cohort: prevalence, recognition by patients, and preventive practices. *Medicine (Baltimore)* 1992;71(5):291-302.
- 61.Doria A, Shoenfeld Y, Wu R, et al. Risk factors for subclinical atherosclerosis in a prospective cohort of patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2003;62(11):1071-7.

62. Bhagat K, Vallance P. Inflammatory cytokines impair endothelium-dependent dilatation in human veins in vivo. *Circulation* 1997;96(9):3042-7.
63. Ettinger WH, Goldberg AP, Applebaum-Bowden D, Hazzard WR. Dyslipoproteinemia in systemic lupus erythematosus. Effect of corticosteroids. *Am J Med* 1987;83(3):503-8.
64. MacGregor AJ, Dhillon VB, Binder A, et al. Fasting lipids and anticardiolipin antibodies as risk factors for vascular disease in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 1992;51(2):152-5.
65. A randomized study of the effect of withdrawing hydroxychloroquine sulfate in systemic lupus erythematosus. The Canadian Hydroxychloroquine Study Group. *N Engl J Med* 1991;324(3):150-4.
66. Hodis HN, Quismorio FP, Jr., Wickham E, Blankenhorn DH. The lipid, lipoprotein, and apolipoprotein effects of hydroxychloroquine in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1993;20(4):661-5.
67. Petri M, Lakatta C, Magder L, Goldman D. Effect of prednisone and hydroxychloroquine on coronary artery disease risk factors in systemic lupus erythematosus: a longitudinal data analysis. *Am J Med* 1994;96(3):254-9.
68. Rahman P, Gladman DD, Urowitz MB, Yuen K, Hallett D, Bruce IN. The cholesterol lowering effect of antimalarial drugs is enhanced in patients with lupus taking corticosteroid drugs. *J Rheumatol* 1999;26(2):325-30.
69. Jonasson L, Holm J, Hansson GK. Cyclosporin A inhibits smooth muscle proliferation in the vascular response to injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988;85(7):2303-6.
70. Lima DS, Sato EI, Lima VC, Miranda F, Jr., Hatta FH. Brachial endothelial function is impaired in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2002;29(2):292-7.
71. Rajagopalan S, Somers EC, Brook RD, et al. Endothelial cell apoptosis in systemic lupus erythematosus: a common pathway for abnormal vascular function and thrombosis propensity. *Blood* 2004;103(10):3677-83.

- 72.Lai KN, Leung JC, Lai KB, Lai CK. Effect of anti-DNA autoantibodies on the gene expression of interleukin 8, transforming growth factor-beta, and nitric oxide synthase in cultured endothelial cells. *Scand J Rheumatol* 1997;26(6):461-7.
- 73.Nakamura N, Ban T, Yamaji K, Yoneda Y, Wada Y. Localization of the apoptosis-inducing activity of lupus anticoagulant in an annexin V-binding antibody subset. *J Clin Invest* 1998;101(9):1951-9.
- 74.Sun KH, Tang SJ, Wang YS, Lin WJ, You RI. Autoantibodies to dsDNA cross-react with the arginine-glycine-rich domain of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2 (hnRNP A2) and promote methylation of hnRNP A2. *Rheumatology (Oxford)* 2003;42(1):154-61.
- 75.Fliser D. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): the silent transition from an 'uraemic toxin' to a global cardiovascular risk molecule. *Eur J Clin Invest* 2005;35(2):71-9.
- 76.Bultink IE, Teerlink T, Heijst JA, Dijkmans BA, Voskuyl AE. Raised plasma levels of asymmetric dimethylarginine are associated with cardiovascular events, disease activity, and organ damage in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2005;64(9):1362-5.
- 77.Burke GL, Evans GW, Riley WA, et al. Arterial wall thickness is associated with prevalent cardiovascular disease in middle-aged adults. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Stroke* 1995;26(3):386-91.
- 78.Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation* 1993;87(3 Suppl):II56-65.
- 79.Adams MR, Nakagomi A, Keech A, et al. Carotid intima-media thickness is only weakly correlated with the extent and severity of coronary artery disease. *Circulation* 1995;92(8):2127-34.
- 80.O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK, Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1999;340(1):14-22.

- 81.Ebrahim S, Papacosta O, Whincup P, et al. Carotid plaque, intima media thickness, cardiovascular risk factors, and prevalent cardiovascular disease in men and women: the British Regional Heart Study. *Stroke* 1999;30(4):841-50.
- 82.Spence JD. Ultrasound measurement of carotid plaque as a surrogate outcome for coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2002;89(4A):10B-5B; discussion 5B-6B.
- 83.Rader DJ. Noninvasive procedures for subclinical atherosclerosis risk assessment. *Am J Med* 1999;107(2A):25S-7S.
- 84.Budoff MJ, Shaw LJ, Liu ST, et al. Long-term prognosis associated with coronary calcification: observations from a registry of 25,253 patients. *J Am Coll Cardiol* 2007;49(18):1860-70.
- 85.Hall FC, Dalbeth N. Disease modification and cardiovascular risk reduction: two sides of the same coin? *Rheumatology (Oxford)* 2005;44(12):1473-82.
- 86.World Health Organization. The World Health Report 2006 (<http://www.who.int/whr/en>). 2007. (Accessed at <http://www.who.int/whr/en>.)
- 87.Masana Marin L. [Determination of the overall cardiovascular risk: an utopia?]. *Med Clin (Barc)* 2004;123(18):702-3.
- 88.Ridker PM. C-reactive protein in 2005. Interview by Peter C. Block. *J Am Coll Cardiol* 2005;46(1):CS2-5.
- 89.Tracy RP. Inflammation in cardiovascular disease: cart, horse, or both? *Circulation* 1998;97(20):2000-2.
- 90.Plutzky J. Inflammatory pathways in atherosclerosis and acute coronary syndromes. *Am J Cardiol* 2001;88(8A):10K-5K.
- 91.Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107(3):499-511.

92. Keaney JF, Jr. Atherosclerosis: from lesion formation to plaque activation and endothelial dysfunction. *Mol Aspects Med* 2000;21(4-5):99-166.
93. Verma S, Buchanan MR, Anderson TJ. Endothelial function testing as a biomarker of vascular disease. *Circulation* 2003;108(17):2054-9.
94. Abu-Soud HM, Hazen SL. Nitric oxide is a physiological substrate for mammalian peroxidases. *J Biol Chem* 2000;275(48):37524-32.
95. Raitakari OT, Celermajer DS. Flow-mediated dilatation. *Br J Clin Pharmacol* 2000;50(5):397-404.
96. Williams KJ, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of atherogenesis reinforced. *Curr Opin Lipidol* 1998;9(5):471-4.
97. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 1995;26(5):1235-41.
98. Dimmeler S, Hermann C, Zeiher AM. Apoptosis of endothelial cells. Contribution to the pathophysiology of atherosclerosis? *Eur Cytokine Netw* 1998;9(4):697-8.
99. Tricot O, Mallat Z, Heymes C, Belmin J, Leseche G, Tedgui A. Relation between endothelial cell apoptosis and blood flow direction in human atherosclerotic plaques. *Circulation* 2000;101(21):2450-3.
100. Bombeli T, Karsan A, Tait JF, Harlan JM. Apoptotic vascular endothelial cells become procoagulant. *Blood* 1997;89(7):2429-42.
101. Aicher A, Heeschen C, Mildner-Rihm C, et al. Essential role of endothelial nitric oxide synthase for mobilization of stem and progenitor cells. *Nat Med* 2003;9(11):1370-6.
102. Hill JM, Zalos G, Halcox JP, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2003;348(7):593-600.
103. Hansson GK, Libby P, Schonbeck U, Yan ZQ. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ Res* 2002;91(4):281-91.

- 104.Podrez EA, Schmitt D, Hoff HF, Hazen SL. Myeloperoxidase-generated reactive nitrogen species convert LDL into an atherogenic form in vitro. *J Clin Invest* 1999;103(11):1547-60.
105. Maseri A, Fuster V. Is there a vulnerable plaque? *Circulation* 2003;107(16):2068-71.
- 106.Saren P, Welgus HG, Kovanen PT. TNF-alpha and IL-1beta selectively induce expression of 92-kDa gelatinase by human macrophages. *J Immunol* 1996;157(9):4159-65.
107. Mamode N, Cobbe S, Pollock JG. Infarcts after surgery. *Bmj* 1995;310(6989):1215-6.
- 108.Vallance P, Collier J, Bhagat K. Infection, inflammation, and infarction: does acute endothelial dysfunction provide a link? *Lancet* 1997;349(9062):1391-2.
- 109.Bhagat K, Moss R, Collier J, Vallance P. Endothelial "stunning" following a brief exposure to endotoxin: a mechanism to link infection and infarction? *Cardiovasc Res* 1996;32(5):822-9.
- 110.Yoshizumi M, Perrella MA, Burnett JC, Jr., Lee ME. Tumor necrosis factor downregulates an endothelial nitric oxide synthase mRNA by shortening its half-life. *Circ Res* 1993;73(1):205-9.
- 111.Libby P. Do vascular wall cytokines promote atherogenesis? *Hosp Pract (Off Ed)* 1992;27(10):51-8.
- 112.Fleet JC, Clinton SK, Salomon RN, Lopnow H, Libby P. Atherogenic diets enhance endotoxin-stimulated interleukin-1 and tumor necrosis factor gene expression in rabbit aortae. *J Nutr* 1992;122(2):294-305.
- 113.Hingorani AD, Cross J, Kharbanda RK, et al. Acute systemic inflammation impairs endothelium-dependent dilatation in humans. *Circulation* 2000;102(9):994-9.
- 114.Bruschke AV, Kramer JR, Jr., Bal ET, Haque IU, Detrano RC, Goormastic M. The dynamics of progression of coronary atherosclerosis studied in 168 medically treated patients who underwent coronary arteriography three times. *Am Heart J* 1989;117(2):296-305.

115.Libby P, Egan D, Skarlatos S. Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research. *Circulation* 1997;96(11):4095-103.

116.Marcovina SM, Crea F, Davignon J, et al. Biochemical and bioimaging markers for risk assessment and diagnosis in major cardiovascular diseases: a road to integration of complementary diagnostic tools. *J Intern Med* 2007;261(3):214-34.

117.Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005;352(16):1685-95.

118.Binder CJ, Hartvigsen K, Chang MK, et al. IL-5 links adaptive and natural immunity specific for epitopes of oxidized LDL and protects from atherosclerosis. *J Clin Invest* 2004;114(3):427-37.

119.Mallat Z, Besnard S, Duriez M, et al. Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis. *Circ Res* 1999;85(8):e17-24.

120.Fei GZ, Svenungsson E, Frostegard J, Padyukov L. The A-1087IL-10 allele is associated with cardiovascular disease in SLE. *Atherosclerosis* 2004;177(2):409-14.

121.Braunwald E. Shattuck lecture--cardiovascular medicine at the turn of the millennium: triumphs, concerns, and opportunities. *N Engl J Med* 1997;337(19):1360-9.

122.Dzau VJ. Markers of malign across the cardiovascular continuum: interpretation and application. *Circulation* 2004;109(25 Suppl 1):IV1-2.

123.van der Meer IM, de Maat MP, Bots ML, et al. Inflammatory mediators and cell adhesion molecules as indicators of severity of atherosclerosis: the Rotterdam Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22(5):838-42.

124.Blankenberg S, Barboux S, Tiret L. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2003;170(2):191-203.

125.Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, et al. 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(12):4219-25.

- 126.Carlos TM, Schwartz BR, Kovach NL, et al. Vascular cell adhesion molecule-1 mediates lymphocyte adherence to cytokine-activated cultured human endothelial cells. *Blood* 1990;76(5):965-70.
- 127.Gearing AJ, Newman W. Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol Today* 1993;14(10):506-12.
- 128.De Caterina R, Basta G, Lazzerini G, et al. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 as a biohumoral correlate of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(11):2646-54.
- 129.Nakai K, Itoh C, Kawazoe K, et al. Concentration of soluble vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) correlated with expression of VCAM-1 mRNA in the human atherosclerotic aorta. *Coron Artery Dis* 1995;6(6):497-502.
- 130.Richter V, Rassoul F, Purschwitz K, Hentschel B, Reuter W, Kuntze T. Circulating vascular cell adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in dependence on aging. *Gerontology* 2003;49(5):293-300.
- 131.Nakashima Y, Raines EW, Plump AS, Breslow JL, Ross R. Upregulation of VCAM-1 and ICAM-1 at atherosclerosis-prone sites on the endothelium in the ApoE-deficient mouse. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18(5):842-51.
- 132.Davies MJ, Gordon JL, Gearing AJ, et al. The expression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PECAM, and E-selectin in human atherosclerosis. *J Pathol* 1993;171(3):223-9.
- 133.O'Brien KD, Allen MD, McDonald TO, et al. Vascular cell adhesion molecule-1 is expressed in human coronary atherosclerotic plaques. Implications for the mode of progression of advanced coronary atherosclerosis. *J Clin Invest* 1993;92(2):945-51.
- 134.Libby P, Li H. Vascular cell adhesion molecule-1 and smooth muscle cell activation during atherogenesis. *J Clin Invest* 1993;92(2):538-9.
- 135.Rohde LE, Lee RT, Rivero J, et al. Circulating cell adhesion molecules are correlated with ultrasound-based assessment of carotid atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18(11):1765-70.

- 136.Hulthe J, Wikstrand J, Mattsson-Hulten L, Fagerberg B. Circulating ICAM-1 (intercellular cell-adhesion molecule 1) is associated with early stages of atherosclerosis development and with inflammatory cytokines in healthy 58-year-old men: the Atherosclerosis and Insulin Resistance (AIR) study. *Clin Sci (Lond)* 2002;103(2):123-9.
- 137.de Lemos JA, Hennekens CH, Ridker PM. Plasma concentration of soluble vascular cell adhesion molecule-1 and subsequent cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(2):423-6.
- 138.Jager A, van Hinsbergh VW, Kostense PJ, et al. Increased levels of soluble vascular cell adhesion molecule 1 are associated with risk of cardiovascular mortality in type 2 diabetes: the Hoorn study. *Diabetes* 2000;49(3):485-91.
- 139.Semaan HB, Gurbel PA, Anderson JL, et al. Soluble VCAM-1 and E-selectin, but not ICAM-1 discriminate endothelial injury in patients with documented coronary artery disease. *Cardiology* 2000;93(1-2):7-10.
- 140.Peter K, Nawroth P, Conradt C, et al. Circulating vascular cell adhesion molecule-1 correlates with the extent of human atherosclerosis in contrast to circulating intercellular adhesion molecule-1, E-selectin, P-selectin, and thrombomodulin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(3):505-12.
- 141.Mulvihill NT, Foley JB, Murphy R, Crean P, Walsh M. Evidence of prolonged inflammation in unstable angina and non-Q wave myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(4):1210-6.
- 142.Blankenbergh S, Rupprecht HJ, Bickel C, et al. Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001;104(12):1336-42.
- 143.Pasceri V, Wu HD, Willerson JT, Yeh ET. Modulation of vascular inflammation in vitro and in vivo by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activators. *Circulation* 2000;101(3):235-8.
- 144.Nyberg F, Acevedo F, Stephansson E. Different patterns of soluble adhesion molecules in systemic and cutaneous lupus erythematosus. *Exp Dermatol* 1997;6(5):230-5.

145. Ikeda Y, Fujimoto T, Ameno M, Shiiki H, Dohi K. Relationship between lupus nephritis activity and the serum level of soluble VCAM-1. *Lupus* 1998;7(5):347-54.
146. Lee AB, Godfrey T, Rowley KG, et al. Traditional risk factor assessment does not capture the extent of cardiovascular risk in systemic lupus erythematosus. *Intern Med J* 2006;36(4):237-43.
147. Spronk PE, Bootsma H, Huitema MG, Limburg PC, Kallenberg CG. Levels of soluble VCAM-1, soluble ICAM-1, and soluble E-selectin during disease exacerbations in patients with systemic lupus erythematosus (SLE); a long term prospective study. *Clin Exp Immunol* 1994;97(3):439-44.
148. Mrowka C, Sieberth HG. Detection of circulating adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin in Wegener's granulomatosis, systemic lupus erythematosus and chronic renal failure. *Clin Nephrol* 1995;43(5):288-96.
149. Belmont HM, Buyon J, Giorno R, Abramson S. Up-regulation of endothelial cell adhesion molecules characterizes disease activity in systemic lupus erythematosus. The Schwartzman phenomenon revisited. *Arthritis Rheum* 1994;37(3):376-83.
150. Lai KN, Leung JC, Lai KB, Wong KC, Lai CK. Upregulation of adhesion molecule expression on endothelial cells by anti-DNA autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol Immunopathol* 1996;81(3):229-38.
151. Chan TM, Yu PM, Tsang KL, Cheng IK. Endothelial cell binding by human polyclonal anti-DNA antibodies: relationship to disease activity and endothelial functional alterations. *Clin Exp Immunol* 1995;100(3):506-13.
152. Horak P, Scudla V, Hermanovo Z, et al. Clinical utility of selected disease activity markers in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 2001;20(5):337-44.
153. Jang Y, Lincoff AM, Plow EF, Topol EJ. Cell adhesion molecules in coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1994;24(7):1591-601.
154. Walpola PL, Gotlieb AI, Cybulsky MI, Langille BL. Expression of ICAM-1 and VCAM-1 and monocyte adherence in arteries exposed to altered shear stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15(1):2-10.

- 155.Mora S, Lee IM, Buring JE, Ridker PM. Association of physical activity and body mass index with novel and traditional cardiovascular biomarkers in women. *Jama* 2006;295(12):1412-9.
- 156.Hashimoto H, Kitagawa K, Kuwabara K, et al. Circulating adhesion molecules are correlated with ultrasonic assessment of carotid plaques. *Clin Sci (Lond)* 2003;104(5):521-7.
- 157.Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, Stampfer MJ, Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet* 1998;351(9096):88-92.
- 158.Blann AD, McCollum CN. Circulating endothelial cell/leukocyte adhesion molecules in atherosclerosis. *Thromb Haemost* 1994;72(1):151-4.
- 159.Haught WH, Mansour M, Rothlein R, et al. Alterations in circulating intercellular adhesion molecule-1 and L-selectin: further evidence for chronic inflammation in ischemic heart disease. *Am Heart J* 1996;132(1 Pt 1):1-8.
- 160.Mrowka C, Sieberth HG. Circulating adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin in systemic vasculitis: marked differences between Wegener's granulomatosis and systemic lupus erythematosus. *Clin Investig* 1994;72(10):762-8.
- 161.Sugiyama S, Okada Y, Sukhova GK, Virmani R, Heinecke JW, Libby P. Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes. *Am J Pathol* 2001;158(3):879-91.
- 162.Heinecke JW. Mechanisms of oxidative damage of low density lipoprotein in human atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1997;8(5):268-74.
- 163.Schmitt D, Shen Z, Zhang R, et al. Leukocytes utilize myeloperoxidase-generated nitrating intermediates as physiological catalysts for the generation of biologically active oxidized lipids and sterols in serum. *Biochemistry* 1999;38(51):16904-15.
- 164.Shabani F, McNeil J, Tippet L. The oxidative inactivation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) by hypochlorous acid (HOCl) is suppressed by anti-rheumatic drugs. *Free Radic Res* 1998;28(2):115-23.

- 165.Fu X, Kassim SY, Parks WC, Heinecke JW. Hypochlorous acid oxygenates the cysteine switch domain of pro-matrilysin (MMP-7). A mechanism for matrix metalloproteinase activation and atherosclerotic plaque rupture by myeloperoxidase. *J Biol Chem* 2001;276(44):41279-87.
- 166.Daugherty A, Dunn JL, Rateri DL, Heinecke JW. Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 1994;94(1):437-44.
- 167.Malle E, Waeg G, Schreiber R, Grone EF, Sattler W, Grone HJ. Immunohistochemical evidence for the myeloperoxidase/H₂O₂/halide system in human atherosclerotic lesions: colocalization of myeloperoxidase and hypochlorite-modified proteins. *Eur J Biochem* 2000;267(14):4495-503.
- 168.Hazen SL, Heinecke JW. 3-Chlorotyrosine, a specific marker of myeloperoxidase-catalyzed oxidation, is markedly elevated in low density lipoprotein isolated from human atherosclerotic intima. *J Clin Invest* 1997;99(9):2075-81.
- 169.Baldus S, Eiserich JP, Mani A, et al. Endothelial transcytosis of myeloperoxidase confers specificity to vascular ECM proteins as targets of tyrosine nitration. *J Clin Invest* 2001;108(12):1759-70.
- 170.Vita JA, Brennan ML, Gokce N, et al. Serum myeloperoxidase levels independently predict endothelial dysfunction in humans. *Circulation* 2004;110(9):1134-9.
- 171.Exner M, Minar E, Mlekusch W, et al. Myeloperoxidase predicts progression of carotid stenosis in states of low high-density lipoprotein cholesterol. *J Am Coll Cardiol* 2006;47(11):2212-8.
- 172.Brennan ML, Penn MS, Van Lente F, et al. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. *N Engl J Med* 2003;349(17):1595-604.
- 173.Zhang R, Brennan ML, Fu X, et al. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *Jama* 2001;286(17):2136-42.
- 174.Buffon A, Biasucci LM, Liuzzo G, D'Onofrio G, Crea F, Maseri A. Widespread coronary inflammation in unstable angina. *N Engl J Med* 2002;347(1):5-12.

175. Baldus S, Heeschen C, Meinertz T, et al. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;108(12):1440-5.
176. Morgan PE, Sturges AD, Davies MJ. Increased levels of serum protein oxidation and correlation with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2005;52(7):2069-79.
177. Minota S, Horie S, Yamada A, et al. Circulating myeloperoxidase and anti-myeloperoxidase antibody in patients with vasculitis. *Scand J Rheumatol* 1999;28(2):94-9.
178. Schonbeck U, Libby P. The CD40/CD154 receptor/ligand dyad. *Cell Mol Life Sci* 2001;58(1):4-43.
179. Mazzei GJ, Edgerton MD, Losberger C, et al. Recombinant soluble trimeric CD40 ligand is biologically active. *J Biol Chem* 1995;270(13):7025-8.
180. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, et al. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2003;348(12):1104-11.
181. Aukrust P, Muller F, Ueland T, et al. Enhanced levels of soluble and membrane-bound CD40 ligand in patients with unstable angina. Possible reflection of T lymphocyte and platelet involvement in the pathogenesis of acute coronary syndromes. *Circulation* 1999;100(6):614-20.
182. Vakkalanka RK, Woo C, Kirou KA, Koshy M, Berger D, Crow MK. Elevated levels and functional capacity of soluble CD40 ligand in systemic lupus erythematosus sera. *Arthritis Rheum* 1999;42(5):871-81.
183. Mach F, Schonbeck U, Sukhova GK, et al. Functional CD40 ligand is expressed on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implications for CD40-CD40 ligand signaling in atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94(5):1931-6.
184. Schonbeck U, Gerdes N, Varo N, et al. Oxidized low-density lipoprotein augments and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors limit CD40 and CD40L expression in human vascular cells. *Circulation* 2002;106(23):2888-93.

185. Alderson MR, Armitage RJ, Tough TW, Strockbine L, Fanslow WC, Spriggs MK. CD40 expression by human monocytes: regulation by cytokines and activation of monocytes by the ligand for CD40. *J Exp Med* 1993;178(2):669-74.
186. Karmann K, Hughes CC, Schechner J, Fanslow WC, Pober JS. CD40 on human endothelial cells: inducibility by cytokines and functional regulation of adhesion molecule expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92(10):4342-6.
187. Schonbeck U, Mach F, Sukhova GK, et al. Regulation of matrix metalloproteinase expression in human vascular smooth muscle cells by T lymphocytes: a role for CD40 signaling in plaque rupture? *Circ Res* 1997;81(3):448-54.
188. Urbich C, Mallat Z, Tedgui A, Clauss M, Zeiher AM, Dimmeler S. Upregulation of TRAF-3 by shear stress blocks CD40-mediated endothelial activation. *J Clin Invest* 2001;108(10):1451-8.
189. Mach F, Schonbeck U, Sukhova GK, Atkinson E, Libby P. Reduction of atherosclerosis in mice by inhibition of CD40 signalling. *Nature* 1998;394(6689):200-3.
190. Lutgens E, Gorelik L, Daemen MJ, et al. Requirement for CD154 in the progression of atherosclerosis. *Nat Med* 1999;5(11):1313-6.
191. Lutgens E, Cleutjens KB, Heeneman S, Koteliansky VE, Burkly LC, Daemen MJ. Both early and delayed anti-CD40L antibody treatment induces a stable plaque phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(13):7464-9.
192. de Lemos JA, Zirlik A, Schonbeck U, et al. Associations between soluble CD40 ligand, atherosclerosis risk factors, and subclinical atherosclerosis: results from the Dallas Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25(10):2192-6.
193. Schonbeck U, Varo N, Libby P, Buring J, Ridker PM. Soluble CD40L and cardiovascular risk in women. *Circulation* 2001;104(19):2266-8.
194. Tayebjee MH, Lip GY, Tan KT, Patel JV, Hughes EA, MacFadyen RJ. Plasma matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor of metalloproteinase-2, and CD40 ligand levels in patients with stable coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2005;96(3):339-45.

- 195.Li J, Peng DQ, Zhao SP. [Serum soluble CD40L level and its application in coronary heart disease]. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2003;28(6):611-4.
- 196.Cipollone F, Mezzetti A, Porreca E, et al. Association between enhanced soluble CD40L and prothrombotic state in hypercholesterolemia: effects of statin therapy. *Circulation* 2002;106(4):399-402.
- 197.Varo N, de Lemos JA, Libby P, et al. Soluble CD40L: risk prediction after acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;108(9):1049-52.
- 198.Desai-Mehta A, Lu L, Ramsey-Goldman R, Datta SK. Hyperexpression of CD40 ligand by B and T cells in human lupus and its role in pathogenic autoantibody production. *J Clin Invest* 1996;97(9):2063-73.
- 199.Devi BS, Van Noord S, Krausz T, Davies KA. Peripheral blood lymphocytes in SLE--hyperexpression of CD154 on T and B lymphocytes and increased number of double negative T cells. *J Autoimmun* 1998;11(5):471-5.
- 200.Koshy M, Berger D, Crow MK. Increased expression of CD40 ligand on systemic lupus erythematosus lymphocytes. *J Clin Invest* 1996;98(3):826-37.
- 201.Kalunian KC, Davis JC, Jr., Merrill JT, Totoritis MC, Wofsy D. Treatment of systemic lupus erythematosus by inhibition of T cell costimulation with anti-CD154: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2002;46(12):3251-8.
- 202.Kawai T, Andrews D, Colvin RB, Sachs DH, Cosimi AB. Thromboembolic complications after treatment with monoclonal antibody against CD40 ligand. *Nat Med* 2000;6(2):114.
- 203.Bijl M, Horst G, Limburg PC, Kallenberg CG. Expression of costimulatory molecules on peripheral blood lymphocytes of patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2001;60(5):523-6.
- 204.Goules A, Tzioufas AG, Manousakis MN, Kirou KA, Crow MK, Routsias JG. Elevated levels of soluble CD40 ligand (sCD40L) in serum of patients with systemic autoimmune diseases. *J Autoimmun* 2006;26(3):165-71.
- 205.Kato K, Santana-Sahagun E, Rassenti LZ, et al. The soluble CD40 ligand sCD154 in systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1999;104(7):947-55.

206.Ciferska H, Horak P, Hermanova Z, et al. The levels of sCD30 and of sCD40L in a group of patients with systemic lupus erythematoses and their diagnostic value. Clin Rheumatol 2006.

207.Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, et al. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. J Clin Endocrinol Metab 1997;82(12):4196-200.

208.Haddy N, Sass C, Drosch S, et al. IL-6, TNF-alpha and atherosclerosis risk indicators in a healthy family population: the STANISLAS cohort. Atherosclerosis 2003;170(2):277-83.

209.Rus HG, Vlaicu R, Niculescu F. Interleukin-6 and interleukin-8 protein and gene expression in human arterial atherosclerotic wall. Atherosclerosis 1996;127(2):263-71.

210.Seino Y, Ikeda U, Ikeda M, et al. Interleukin 6 gene transcripts are expressed in human atherosclerotic lesions. Cytokine 1994;6(1):87-91.

211.Amar J, Fauvel J, Drouet L, et al. Interleukin 6 is associated with subclinical atherosclerosis: a link with soluble intercellular adhesion molecule 1. J Hypertens 2006;24(6):1083-8.

212.Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. Circulation 2000;101(15):1767-72.

213.Harris TB, Ferrucci L, Tracy RP, et al. Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. Am J Med 1999;106(5):506-12.

214.Cesari M, Penninx BW, Newman AB, et al. Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the Health ABC study. Circulation 2003;108(19):2317-22.

215.Pradhan AD, Manson JE, Rossouw JE, et al. Inflammatory biomarkers, hormone replacement therapy, and incident coronary heart disease: prospective analysis from the Women's Health Initiative observational study. Jama 2002;288(8):980-7.

216.Pai JK, Pischon T, Ma J, et al. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. N Engl J Med 2004;351(25):2599-610.

- 217.Casiglia E, Palatini P. Cardiovascular risk factors in the elderly. *J Hum Hypertens* 1998;12(9):575-81.
- 218.Erren M, Reinecke H, Junker R, et al. Systemic inflammatory parameters in patients with atherosclerosis of the coronary and peripheral arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19(10):2355-63.
- 219.Biasucci LM, Vitelli A, Liuzzo G, et al. Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina. *Circulation* 1996;94(5):874-7.
- 220.Biasucci LM, Liuzzo G, Fantuzzi G, et al. Increasing levels of interleukin (IL)-1Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events. *Circulation* 1999;99(16):2079-84.
- 221.Lindmark E, Diderholm E, Wallentin L, Siegbahn A. Relationship between interleukin 6 and mortality in patients with unstable coronary artery disease: effects of an early invasive or noninvasive strategy. *Jama* 2001;286(17):2107-13.
- 222.Asanuma Y, Chung CP, Oeser A, et al. Increased concentration of proatherogenic inflammatory cytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to cardiovascular risk factors. *J Rheumatol* 2006;33(3):539-45.
- 223.Kushner I. The phenomenon of the acute phase response. *Ann N Y Acad Sci* 1982;389:39-48.
- 224.Meier-Ewert HK, Ridker PM, Rifai N, Price N, Dinges DF, Mullington JM. Absence of diurnal variation of C-reactive protein concentrations in healthy human subjects. *Clin Chem* 2001;47(3):426-30.
- 225.Ockene IS, Matthews CE, Rifai N, Ridker PM, Reed G, Stanek E. Variability and classification accuracy of serial high-sensitivity C-reactive protein measurements in healthy adults. *Clin Chem* 2001;47(3):444-50.
- 226.Torzewski J, Torzewski M, Bowyer DE, et al. C-reactive protein frequently colocalizes with the terminal complement complex in the intima of early atherosclerotic lesions of human coronary arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18(9):1386-92.

227.Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation* 2001;103(9):1194-7.

228.Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, McGeer PL. Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol* 2001;158(3):1039-51.

229.Paul A, Ko KW, Li L, et al. C-reactive protein accelerates the progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2004;109(5):647-55.

230.Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000;102(18):2165-8.

231.Torzewski M, Rist C, Mortensen RF, et al. C-reactive protein in the arterial intima: role of C-reactive protein receptor-dependent monocyte recruitment in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(9):2094-9.

232.Nakagomi A, Freedman SB, Geczy CL. Interferon-gamma and lipopolysaccharide potentiate monocyte tissue factor induction by C-reactive protein: relationship with age, sex, and hormone replacement treatment. *Circulation* 2000;101(15):1785-91.

233.Folsom AR, Pankow JS, Tracy RP, et al. Association of C-reactive protein with markers of prevalent atherosclerotic disease. *Am J Cardiol* 2001;88(2):112-7.

234.Redberg RF, Rifai N, Gee L, Ridker PM. Lack of association of C-reactive protein and coronary calcium by electron beam computed tomography in postmenopausal women: implications for coronary artery disease screening. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(1):39-43.

235.Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997;336(14):973-9.

236.Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000;342(12):836-43.

- 237.Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 2002;347(20):1557-65.
- 238.Folsom AR, Chambless LE, Ballantyne CM, et al. An assessment of incremental coronary risk prediction using C-reactive protein and other novel risk markers: the atherosclerosis risk in communities study. *Arch Intern Med* 2006;166(13):1368-73.
- 239.Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1994;331(7):417-24.
- 240.Berk BC, Weintraub WS, Alexander RW. Elevation of C-reactive protein in "active" coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1990;65(3):168-72.
- 241.Heinrich J, Schulte H, Schonfeld R, Kohler E, Assmann G. Association of variables of coagulation, fibrinolysis and acute-phase with atherosclerosis in coronary and peripheral arteries and those arteries supplying the brain. *Thromb Haemost* 1995;73(3):374-9.
- 242.Arenillas JF, Alvarez-Sabin J, Molina CA, et al. C-reactive protein predicts further ischemic events in first-ever transient ischemic attack or stroke patients with intracranial large-artery occlusive disease. *Stroke* 2003;34(10):2463-8.
- 243.Haverkate F, Thompson SG, Pyke SD, Gallimore JR, Pepys MB. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *Lancet* 1997;349(9050):462-6.
- 244.Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med* 1995;332(10):635-41.
- 245.Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, et al. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation* 1998;98(9):839-44.

- 246.Haffner SM, Greenberg AS, Weston WM, Chen H, Williams K, Freed MI. Effect of rosiglitazone treatment on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circulation* 2002;106(6):679-84.
- 247.Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, et al. Statin therapy, LDL cholesterol, C-reactive protein, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005;352(1):29-38.
- 248.Ridker PM, Cannon CP, Morrow D, et al. C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *N Engl J Med* 2005;352(1):20-8.
- 249.Suh CH, Jeong YS, Park HC, et al. Risk factors for infection and role of C-reactive protein in Korean patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol* 2001;19(2):191-4.
- 250.Barnes EV, Narain S, Naranjo A, et al. High sensitivity C-reactive protein in systemic lupus erythematosus: relation to disease activity, clinical presentation and implications for cardiovascular risk. *Lupus* 2005;14(8):576-82.
- 251.Karadag O, Calguneri M, Atalar E, et al. Novel cardiovascular risk factors and cardiac event predictors in female inactive systemic lupus erythematosus patients. *Clin Rheumatol* 2007;26(5):695-9.
- 252.Mannucci PM. von Willebrand factor: a marker of endothelial damage? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18(9):1359-62.
- 253.de Jong SC, Stehouwer CD, van den Berg M, Vischer UM, Rauwerda JA, Emeis JJ. Endothelial marker proteins in hyperhomocysteinemia. *Thromb Haemost* 1997;78(5):1332-7.
- 254.Bounameaux H, Kruihof EK. On the association of elevated tPA/PAI-1 complex and von Willebrand factor with recurrent myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(8):1857-9.
- 255.Nilsson TK, Boman K, Bjerle P, Hallmans G, Hellsten G. von Willebrand factor and fibrinolytic variables are differently affected in the insulin resistance syndrome. *J Intern Med* 1994;235(5):419-23.

256. De Meyer GR, Hoylaerts MF, Kockx MM, Yamamoto H, Herman AG, Bult H. Intimal deposition of functional von Willebrand factor in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19(10):2524-34.
257. Haverkate F. Levels of haemostatic factors, arteriosclerosis and cardiovascular disease. *Vascul Pharmacol* 2002;39(3):109-12.
258. Whincup PH, Danesh J, Walker M, et al. von Willebrand factor and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *Eur Heart J* 2002;23(22):1764-70.
259. Thogersen AM, Jansson JH, Boman K, et al. High plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator levels in plasma precede a first acute myocardial infarction in both men and women: evidence for the fibrinolytic system as an independent primary risk factor. *Circulation* 1998;98(21):2241-7.
260. Folsom AR, Wu KK, Rosamond WD, Sharrett AR, Chambless LE. Prospective study of hemostatic factors and incidence of coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* 1997;96(4):1102-8.
261. Cortellaro M, Boschetti C, Cofrancesco E, et al. The PLAT Study: hemostatic function in relation to atherothrombotic ischemic events in vascular disease patients. Principal results. PLAT Study Group. Progetto Lombardo Atero-Trombosi (PLAT) Study Group. *Arterioscler Thromb* 1992;12(9):1063-70.
262. Folsom AR, Wu KK, Shahar E, Davis CE. Association of hemostatic variables with prevalent cardiovascular disease and asymptomatic carotid artery atherosclerosis. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. *Arterioscler Thromb* 1993;13(12):1829-36.
263. Cucuianu MP, Cristea A, Roman S, Rus H, Missits I, Pechet L. Comparative behaviour of the components of the factor VIII complex in acute myocardial infarction. *Thromb Res* 1983;30(5):487-97.
264. Jansson JH, Nilsson TK, Johnson O. von Willebrand factor in plasma: a novel risk factor for recurrent myocardial infarction and death. *Br Heart J* 1991;66(5):351-5.

265. Wiman B, Andersson T, Hallqvist J, Reuterwall C, Ahlbom A, deFaire U. Plasma levels of tissue plasminogen activator/plasminogen activator inhibitor-1 complex and von Willebrand factor are significant risk markers for recurrent myocardial infarction in the Stockholm Heart Epidemiology Program (SHEEP) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(8):2019-23.

266. Blann AD, Hopkins J, Winkles J, Wainwright AC. Plasma and serum von Willebrand factor antigen concentrations in connective tissue disorders. *Ann Clin Biochem* 1992;29 (Pt 1):67-71.

267. Doria A, Ghirardello A, Boscaro M, et al. Fibrinolysis and coagulation abnormalities in systemic lupus erythematosus. Relationship with Raynaud's phenomenon, disease activity, inflammatory indices, anticardiolipin antibodies and corticosteroid therapy. *Rheumatol Int* 1995;14(5):207-11.

268. Matsuda J, Tsukamoto M, Gohchi K, Saitoh N, Miyajima Y, Kazama M. Effect of total-body cold exposure on plasma concentrations of von Willebrand factor, endothelin-1 and thrombomodulin in systemic lupus erythematosus patients with or without Raynaud's phenomenon. *Acta Haematol* 1992;88(4):189-93.

269. Byron MA, Allington MJ, Chapel HM, Mowat AG, Cederholm-Williams SA. Indications of vascular endothelial cell dysfunction in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 1987;46(10):741-5.

270. Lai KN, Leung JC, Lai KB, Lai FM, Wong KC. Increased release of von Willebrand factor antigen from endothelial cells by anti-DNA autoantibodies. *Ann Rheum Dis* 1996;55(1):57-62.

271. Vollmann J, Winau R. Informed consent in human experimentation before the Nuremberg code. *Bmj* 1996;313(7070):1445-9.

272. Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE. *Arthritis Rheum* 1992;35(6):630-40.

273. Ramsey-Goldman R, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus measures: British Isles Lupus Assessment Group (BILAG), European Consensus Lupus Activity

Measurement (ECLAM), Systemic Lupus Activity Measure (SLAM), Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI), and Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology-Damage Index (SLICC/ACR-DI; SDI). *Arthritis Rheum* 2003;49(Suppl 5):S225-33.

274.Hong MK, Romm PA, Reagan K, Green CE, Rackley CE. Usefulness of the total cholesterol to high-density lipoprotein cholesterol ratio in predicting angiographic coronary artery disease in women. *Am J Cardiol* 1991;68(17):1646-50.

275.Burke AP, Farb A, Malcom GT, Liang YH, Smialek J, Virmani R. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. *N Engl J Med* 1997;336(18):1276-82.

276.Ascaso JF, Fernandez-Cruz A, Gonzalez Santos P, et al. Significance of high density lipoprotein-cholesterol in cardiovascular risk prevention: recommendations of the HDL Forum. *Am J Cardiovasc Drugs* 2004;4(5):299-314.

277.Ramos R, Solanas P, Cordon F, et al. [Comparison of population coronary heart disease risk estimated by the Framingham original and REGICOR calibrated functions]. *Med Clin (Barc)* 2003;121(14):521-6.

278.Aranceta J, Perez Rodrigo C, Foz Sala M, et al. [Tables of coronary risk evaluation adapted to the Spanish population: the DORICA study]. *Med Clin (Barc)* 2004;123(18):686-91.

279.Gordon T, Kannel WB. Multiple risk functions for predicting coronary heart disease: the concept, accuracy, and application. *Am Heart J* 1982;103(6):1031-9.

280.Giron-Gonzalez JA, Martinez-Sierra C, Rodriguez-Ramos C, et al. Adhesion molecules as a prognostic marker of liver cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 2005;40(2):217-24.

281.Shern-Brewer R, Santanam N, Wetzstein C, White-Welkley J, Parthasarathy S. Exercise and cardiovascular disease: a new perspective. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18(7):1181-7.

282.Hetzel J, Balletshofer B, Rittig K, et al. Rapid effects of rosiglitazone treatment on endothelial function and inflammatory biomarkers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25(9):1804-9.

283.Ertan T, Keskek M, Kilic M, et al. Effects of gender difference in early cytokine levels in trauma patients. *Bratisl Lek Listy* 2007;108(3):128-32.

284.Formiga F, Meco JF, Pinto X, Jacob J, Moga I, Pujol R. Lipid and lipoprotein levels in premenopausal systemic lupus erythematosus patients. *Lupus* 2001;10(5):359-63.

285.Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, et al. A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *Jama* 1996;276(11):882-8.

286.Rosenson RS. Myocardial injury: the acute phase response and lipoprotein metabolism. *J Am Coll Cardiol* 1993;22(3):933-40.

287.Lukina TD. [Serum and liver cholesterol in experimental fever]. *Biull Eksp Biol Med* 1975;79(4):46-7.

288.Sanchez Bayle M, Arias Alvarez MA, Fernandez Ruiz ML. Influence of fever on total cholesterol and triglyceride levels in childhood. *Acta Paediatr* 2000;89(3):367-8.

289.Ettinger WH, Varma VK, Sorci-Thomas M, et al. Cytokines decrease apolipoprotein accumulation in medium from Hep G2 cells. *Arterioscler Thromb* 1994;14(1):8-13.

290.Kiss E, Fazekas B, Tarr T, Muszbek L, Zeher M, Szegedi G. [Lipid profile in patients with systemic lupus erythematosus, with special focus on lipoprotein(a) in lupus nephritis]. *Orv Hetil* 2004;145(5):217-22.

291.Svenungsson E, Gunnarsson I, Fei GZ, Lundberg IE, Klareskog L, Frostegard J. Elevated triglycerides and low levels of high-density lipoprotein as markers of disease activity in association with up-regulation of the tumor necrosis factor alpha/tumor necrosis factor receptor system in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2003;48(9):2533-40.

292.Leong KH, Koh ET, Feng PH, Boey ML. Lipid profiles in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1994;21(7):1264-7.

293.Paleolog EM, Crossman DC, McVey JH, Pearson JD. Differential regulation by cytokines of constitutive and stimulated secretion of von Willebrand factor from endothelial cells. *Blood* 1990;75(3):688-95.

294.Brozovic M. Physiological mechanisms in coagulation and fibrinolysis. *Br Med Bull* 1977;33(3):231-8.

295.Kim HJ, Lee YH, Kim CK. Biomarkers of muscle and cartilage damage and inflammation during a 200 km run. *Eur J Appl Physiol* 2007;99(4):443-7.

296.Rogowski O, Shapira I, Toker S, Shirom A, Melamed S, Berliner S. Oral temperature in daily life. A new look in the era of microinflammation. *Inflammation* 2005;29(2-3):103-7.

297.Ben-Dor I, Haim M, Rechavia E, et al. Body temperature - a marker of infarct size in the era of early reperfusion. *Cardiology* 2005;103(4):169-73.

298.Bansal S, Ridker PM. Comparison of characteristics of future myocardial infarctions in women with baseline high versus baseline low levels of high-sensitivity C-reactive protein. *Am J Cardiol* 2007;99(11):1500-3.

299.Stoneman VE, Bennett MR. Role of apoptosis in atherosclerosis and its therapeutic implications. *Clin Sci (Lond)* 2004;107(4):343-54.

300.Lozada C, Levin RI, Huie M, et al. Identification of C1q as the heat-labile serum cofactor required for immune complexes to stimulate endothelial expression of the adhesion molecules E-selectin and intercellular and vascular cell adhesion molecules 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92(18):8378-82.

301.Jabara HH, Brodeur SR, Geha RS. Glucocorticoids upregulate CD40 ligand expression and induce CD40L-dependent immunoglobulin isotype switching. *J Clin Invest* 2001;107(3):371-8.

302.Buttgereit F. Mechanisms and clinical relevance of nongenomic glucocorticoid actions. *Z Rheumatol* 2000;59 Suppl 2:II/119-23.

303.Gerrard TL, Cupps TR, Jurgensen CH, Fauci AS. Hydrocortisone-mediated inhibition of monocyte antigen presentation: dissociation of inhibitory effect and expression of DR antigens. *Cell Immunol* 1984;85(2):330-9.

304.Slade JD, Hepburn B. Prednisone-induced alterations of circulating human lymphocyte subsets. *J Lab Clin Med* 1983;101(3):479-87.

305.Arya SK, Wong-Staal F, Gallo RC. Dexamethasone-mediated inhibition of human T cell growth factor and gamma-interferon messenger RNA. *J Immunol* 1984;133(1):273-6.

306.Capper ER, Maskill JK, Gordon C, Blakemore AI. Interleukin (IL)-10, IL-1ra and IL-12 profiles in active and quiescent systemic lupus erythematosus: could longitudinal studies reveal patient subgroups of differing pathology? *Clin Exp Immunol* 2004;138(2):348-56.