

# Inflamación, hemostasia y enfermedad coronaria. La proteína C reactiva y el dímero D como marcadores del proceso de la arteriosclerosis

J.A. Gómez Gerique

Servicio de Bioquímica Clínica. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

---

## Introducción

Algunas evidencias recientes derivadas de estudios experimentales, epidemiológicos y clínicos han rescatado el concepto de la participación de los procesos inflamatorios en el desarrollo de la arteriosclerosis<sup>1</sup>. En la actualidad, no sólo se considera que la inflamación ejerce un papel importante en el inicio de la “degeneración ateromatosa”, sino también en su desarrollo y en los procesos que llevan a la aparición de complicaciones, como la desestabilización de la placa y los procesos trombóticos sobre la misma<sup>2</sup>. Tanto es así, que existen diversos marcadores de inflamación o de hemostasia que han sido utilizados para detectar el grado de enfermedad o incluso para predecir la aparición de episodios cardiovasculares futuros. Entre estos marcadores destaca la concentración de la proteína C reactiva (PCR)<sup>3</sup> y el dímero D<sup>4</sup>, que sin que sea posible considerarlos como factores de riesgo en sí mismos, han demostrado un importante valor como marcadores del proceso arteriosclerótico y sus complicaciones, y serán el objetivo de esta revisión.

## Desarrollo de la arteriosclerosis

La arteriosclerosis es un proceso que se inicia en la infancia y que progresa con una velocidad que

depende del impacto de los diversos factores de riesgo cardiovascular. Así, en los estudios que analizan el grado de afección arterial a diferentes edades ha podido observarse que no existe una edad concreta para el inicio del depósito de lípidos en la pared arterial y que este depósito es continuo durante toda la vida del individuo<sup>5</sup>. En un estudio reciente que han analizado las aortas de un grupo de niños que fallecieron por accidentes u otras causas; se objetivó que en todos ellos existían estrías grasas antes de los 3 años de edad, y que los niños de madres que habían sido hipercolesterolémicas durante el embarazo presentaban un cierto grado de regresión en estos primeros 3 años de vida. No obstante, posteriormente, las lesiones progresaban más deprisa en los hijos de madres hipercolesterolémicas, aunque ellos fueran normocolesterolémicos, que en los hijos de madres normolipémicas<sup>6</sup>.

Este proceso se caracteriza por la formación de placas de ateroma, que están presentes en número variable a lo largo del árbol arterial. Las características que definen la placa de ateroma son varias. Su crecimiento es muy lento, a lo largo de años, y su extensión en la pared arterial no es difusa ni uniforme, sino focal y, por lo general, excéntrica. Por otra parte, la lesión afecta a la íntima y, secundariamente, a la media de determinadas zonas de las arterias de grueso y mediano calibre, fundamentalmente aorta, coronarias, carótidas, basílicas, ilíacas y femorales. La placa viene determinada por la acumulación local de lípidos y tejido conectivo, como los glucosaminoglicanos y el colágeno, los productos derivados de la sangre y los producidos por diversas estirpes celulares, fundamentalmente macrófagos, sus derivados, las células espumosas, y las células musculares lisas. Todos estos elementos, lípidos, células y componente conecti-

### Palabras clave:

Inflamación. Enfermedad cardiovascular. Proteína C reactiva. Dímero D.

---

Correspondencia: Dr. J.A. Gómez Gerique.  
Fundación Jiménez Díaz.  
Servicio de Bioquímica Clínica.  
Avda. Reyes Católicos, 2.  
28040 Madrid.  
Correo electrónico: jagomez@meditex.es

vo, están en proporciones muy variables, según el estadio de la placa de ateroma. Ésta tiene una distribución local, que generalmente coincide con zonas hemodinámicamente comprometidas, como son las bifurcaciones, las flexuras y las ramificaciones, donde existen zonas de turbulencias y enlentecimientos del flujo. De hecho, hace algunos años que se ha empezado a reconocer el carácter de lesión inflamatoria crónica que tienen las lesiones ateromatosas<sup>7,8</sup>. No obstante, se debe aclarar que se trata de una lesión inflamatoria peculiar, por cuanto tiene un carácter muy localizado, lo que pone de manifiesto la importancia de los fenómenos de flujo y cizallamiento asociados, de modo que no es raro encontrar en la misma persona zonas con una ateromatosis muy intensa, y lesiones mínimas en la arteria adyacente. Esta selectividad de las lesiones de la aterosclerosis la distingue, junto a otros aspectos, de otras lesiones arteriales inflamatorias como las vasculitis, que tienen un carácter mucho más difuso.

Clásicamente, y desde el siglo pasado, existen dos teorías patogénicas que inciden en los dos principales participantes en la evolución de la aterosclerosis: el depósito de material lipídico en el espacio subendotelial y los fenómenos trombóticos. La teoría "insudativa" o "infiltrativa", propuesta por Virchow<sup>9</sup>, consideraba que había un paso aumentado de distintos componentes plasmáticos que se depositaban en el espacio intimal. Sería el desequilibrio entre las fuerzas, que facilitaría la acumulación y la salida de tales sustancias, lo que determinaría el crecimiento o no de la placa de ateroma. Por otra parte, la teoría "incrustativa", defendida por Von Rokitansky<sup>10</sup>, y más tarde ampliada por Duguid<sup>11</sup>, consideraba que lo principal era el engrosamiento de la íntima como resultado del depósito de fibrina, con la ulterior organización del trombo. Sin embargo, una consideración más precisa de la aterogénesis obliga a presentarlo como un ejemplo de proceso inflamatorio crónico de origen multifactorial, de lenta evolución, con complicaciones agudas, como una mayor o menor rotura del endotelio, y cuyo elemento histopatológico sustancial es la "placa de ateroma", lesión que afecta inicialmente a la capa íntima arterial y, de forma secundaria, a la capa media, generalmente en arterias de mediano y grueso calibre. La "aterosclerosis", así constituida, es la forma más frecuente y representativa, aunque no la única, de "arteriosclerosis".

La placa de ateroma tiene algunos elementos característicos: infiltración de células mononucleares (macrófagos), proliferación de células musculares lisas, importante cantidad de tejido conectivo, de-

pósito (intra y extracelular) de lípidos y, frecuentemente, fenómenos trombóticos. Estos elementos se encuentran en distintas proporciones, según el momento evolutivo de la enfermedad, y también definen el grado de "vulnerabilidad" o fragilidad de la placa. Aquellas placas ateromatosas que son ricas en células musculares lisas y tejido conectivo, y relativamente pobres en lípidos, son consideradas como placas estables, que rara vez se rompen generando un proceso trombótico sobre las mismas, independientemente de su tamaño. Por otra parte, las placas ricas en lípidos y con un menor recubrimiento de células musculares y tejido conectivo son más frágiles y más sensibles a la acción de las metaloproteínas, lo que puede permitir con mayor frecuencia la exposición al torrente circulatorio de los lípidos que contienen y la puesta en marcha de un fenómeno trombótico sobre las mismas. Este segundo tipo de placas consideradas "vulnerables", aunque sean de menor tamaño que las estables, suelen ser el sustrato sobre el que se desarrollan los síndromes coronarios agudos. De hecho, si analizamos la evolución de la arteriosclerosis, observamos que ésta tiene un desarrollo lento, que dura décadas. Éste estaría determinado por la evolución del proceso ateromatoso, y suele seguir un curso clínico silente. De forma breve, se podría resumir como sigue:

Las lipoproteínas, en concreto las de baja densidad (LDL), empezarían a depositarse en el intersticio intimal, ya en los primeros años de vida. Esta leve alteración de la pared arterial se podría clasificar como lesión endotelial estadio I, de acuerdo con el criterio del grupo de Fuster<sup>12</sup>, es decir, habría lesión funcional pero no morfológica del endotelio. Ese depósito de lipoproteínas podría justificar el aumento de permeabilidad del endotelio en esos puntos con lesión mecánica crónica<sup>13</sup>. Esas mínimas lesiones mantenidas, que por sí solas bastarían para dar lugar a las lesiones ateromatosas iniciales<sup>14</sup>, se podrían ver potenciadas por situaciones concomitantes, como la hipercolesterolemia<sup>15</sup>, los inmunocomplejos circulantes<sup>16</sup> o los irritantes químicos, como la nicotina del tabaco<sup>17</sup>. No obstante, están por definir las circunstancias endógenas o ambientales que determinan la velocidad de ese depósito de lipoproteínas subendoteliales. De cualquier manera, a la aparición de monocitos-macrófagos hay que añadir el hecho de que las LDL oxidadas inducen también la migración de las células musculares lisas de la capa muscular del vaso hacia el espacio subintimal<sup>18</sup>. La captación no regulada de LDL oxidada por parte de los macrófa-

gos favorece la formación de células espumosas, y cuando se supera la capacidad de la HDL para la recaptación de colesterol, la lesión evoluciona hacia la forma de estría grasa. La estría grasa es visible macroscópicamente como una zona algo más amarillenta en la superficie endotelial y aparece en los primeros años de vida. La evolución de estas lesiones iniciales, si no cambian las condiciones desfavorables, implica que las células espumosas mueran en una mayor proporción, depositándose los cristales de colesterol en el medio extracelular simultáneamente con una importante cantidad de proteasas y otras hidrolasas. Esta evolución es lo que consideramos como "estadio de preateroma", y el depósito que conlleva puede ir aumentando y progresar al estadio de ateroma, en el que puede detectarse un auténtico depósito o "core" de lípidos en la íntima arterial. La placa de ateroma podría empezar a aparecer al final de la pubertad. Los depósitos seguirán creciendo mientras aquellas condiciones no sean modificadas, y la pared arterial reacciona ante esta situación sustituyendo fibras elásticas extracelulares por fibras colágenas, para aumentar su resistencia a la presión y evolucionando al estadio de fibroateroma. Durante todo este proceso las placas van creciendo lentamente, originando un progresivo compromiso del árbol arterial. Se ha descrito que la superficie que pueden ocupar las lesiones arterioscleróticas en las arterias coronarias suele ser del 1% a los 20 años de edad y aumenta hasta el 30% al llegar a los 60 años<sup>19</sup>. Por otra parte, se podría aceptar la idea de que la fibrosis de la placa de ateroma sería un mecanismo de estabilización que evitaría la rotura o fisura de la placa de ateroma blanda o "joven", y que a lo largo de su formación daría tiempo a que se formaran vasos colaterales que permitirían compensar la estenosis. De hecho, la oclusión definitiva de las estenosis más graves, con un buen sistema de vasos colaterales, da lugar a infartos pequeños o silentes, o incluso no da lugar a necrosis<sup>20</sup>.

Con la evolución de la placa de ateroma expuesta hasta ahora, podría parecer que la propia fibrosis constituye un mecanismo para solucionar el depósito subendotelial de colesterol. No obstante, hay momentos de la evolución de la placa en la que ésta es especialmente sensible a presentar fisuras en su superficie, con la consiguiente puesta en marcha de los fenómenos de agregación plaquetaria y coagulación, que pueden desencadenar accidentes obstructivos agudos. Las manifestaciones últimas de la enfermedad ateromatosa son debidas a la isquemia distal, a la zona de estenosis de la luz producida por la placa de ateroma, isquemia que

puede ser intermitente (angina) o definitiva (infarto), en función del grado de estenosis, la aparición o no de vasospasmo, las demandas de mayores o menores cantidades de oxígeno distales a la estenosis y, posiblemente, sobre todo, a la aparición de agregaciones plaquetarias o de verdaderos trombos de fibrina. La mayor o menor capacidad de disolución del trombo, o fibrinólisis, tendrá también su importancia. Aquí se comprende que vuelva a destacarse la idea de "lesión o disfunción endotelial" que ocurre sobre la superficie de las placas de ateroma. Las placas de ateroma que presentan suficiente relieve sobre la superficie endotelial sufren con facilidad pequeñas fisuras o desgarros, posiblemente a causa de las fuerzas de rozamiento y de los cambios de presión parietal, exponiéndose el material subendotelial a la luz vascular, lo que inmediatamente pone en marcha los fenómenos de agregación plaquetaria, e incluso de trombosis local<sup>21</sup>, que son los principales desencadenantes de la aparición de los síntomas clínicos de la enfermedad ateromatosa coronaria (angina o infarto)<sup>22</sup>.

Es conocido que la evolución de las lesiones ateromatosas guarda un cierto sincronismo con la edad. El comienzo de los síntomas clínicos suele ser a partir de los 40 años y hoy sabemos que las lesiones críticas no son las lesiones fibroateromatosas finales. Éstas, endurecidas y resistentes por su riqueza en colágeno y células musculares lisas, aun cuando vayan reduciendo la luz vascular lentamente después de una larga evolución o produzcan la oclusión total, pueden ser incluso sintomáticas por haber dado tiempo a la formación de colaterales<sup>20</sup>. Las lesiones "vulnerables" serían placas jóvenes, de crecimiento acelerado por el rápido depósito de material lipídico subendotelial, y de mediano tamaño, ricas en material lipídico y en macrófagos. Éstas tienen, probablemente, un importante componente inflamatorio agudo, con presencia de proteasas y otras hidrolasas en el área intercelular subendotelial que debilitan todavía más el entramado intercelular. Este tipo de placas jóvenes y blandas estarían especialmente predispuestas a sufrir fisuras y roturas en su superficie y, por tanto, a sopor tar la adhesión plaquetaria e incluso fenómenos de trombosis<sup>20,22</sup>.

Se puede afirmar, por tanto que, al menos desde el punto de vista teórico, una vez que la placa ha alcanzado un determinado tamaño y riqueza de células macrofágicas, las situaciones que podrían favorecer los fenómenos trombóticos o dificultar la fibrinólisis, ya sea de forma local (lesión o disfunción endotelial) o sistémica (concentración plasmática elevada de factores de la coagulación o de

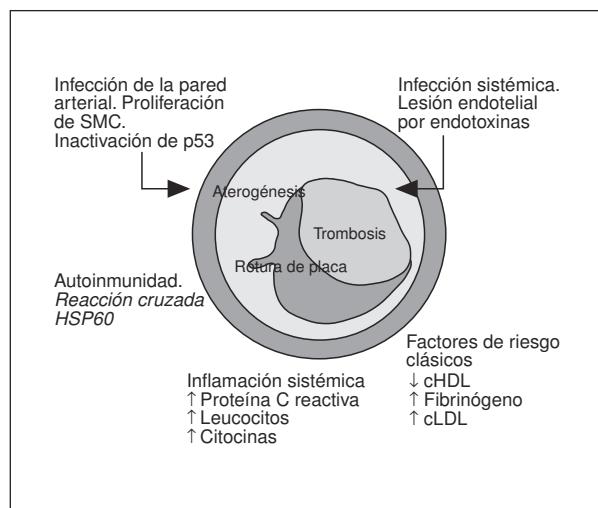


Figura 1. Fases del desarrollo de la arteriosclerosis. La arteriosclerosis es un proceso en que podemos distinguir diversas fases en su desarrollo: un proceso lento, en el que se desarrolla la placa de ateroma y en el que participan los diversos factores que se incluyen en la figura, un proceso de rotura de la placa que depende en gran medida de la composición de la placa y una última fase en la que se desarrolla un proceso de trombosis sobre la placa fracturada.

los inhibidores de la fibrinólisis, o baja de los factores de la fibrinólisis), podrían tener un efecto negativo sobre la evolución de la placa de ateroma. Parece que los productos de degradación de la fibrina, los fibrinopéptidos, tienen un efecto quimiotáctico sobre los macrófagos, promueven la migración y proliferación de las células musculares lisas y producen efectos vasoactivos<sup>23</sup>, y pueden inducir la secreción de u-PA, IL-1, PAI-2 y factor tisular en células de estirpe monocitaria, lo que pone de relieve, una vez más, la interrelación entre los distintos sistemas implicados en la aterogénesis.

Estas últimas ideas llevan al concepto de una segunda fase de crecimiento rápido, incluso a veces brusco, de la placa de ateroma, que comenzaría una vez que ésta adquiere un cierto tamaño, a partir de esas placas blandas, y que es en la que suelen aparecer los síntomas clínicos. Frente a la fase de crecimiento lento, la progresión de la placa en esta fase es mucho más rápida, y puede durar de minutos a días. En la figura 1 se exponen los diferentes factores que influyen en las diversas fases del desarrollo de la placa de ateroma y de los fenómenos trombóticos que se asientan sobre la misma. En la tabla 1 se describen los factores que inducen disfunción endotelial y que, en consecuencia, favorecen el desarrollo de la arteriosclerosis. En la tabla 2 se exponen los principales factores que favorecen la rotura de la placa de ateroma.

Tabla 1. Factores que inducen disfunción endotelial

Factores de riesgo de arteriosclerosis	Factores de riesgo clásicos	Factores genéticos
Hipertensión	↓ cHDL	Homocisteína
Tabaco	↑ Fibrinógeno	Lipoproteína (a)
Hipercolesterolemia	↑ cLDL	Hipercolesterolemia familiar
Sexo		Hipertrigliceridemia
Edad		
Historia familiar de IAM		
Factores ambientales		
Hipoxia		
Flujo turbulento		
Oxidantes		

Tabla 2. Factores que favorecen la rotura de la placa

Factores mecánicos
Aumento de la circunferencia de estrés
Vasospasmo
Flujo turbulento
Aumento de fluidez del núcleo lipídico
Capa fibrosa fina
Constituyentes de la placa
Aumento del colesterol esterificado
Descenso de la matriz extracelular
Aumento de las metaloproteínasas
Presencia de células T y macrófagos
Capa fibrosa
Disminución de la síntesis de colágeno
Degradación del colágeno
Pérdida de células musculares lisas
Aumento de la presencia de citocinas

### Inflamación y enfermedad coronaria. Proteína C reactiva

Entre los marcadores de inflamación destaca la concentración de la PCR, miembro de la familia de las proteínas pentraxínicas, caracterizada por tener una estructura pentamérica cíclica y una simetría radial<sup>24</sup>, formada por cinco protómeros de 24 kD y 206 aminoácidos, que están unidos entre sí mediante enlaces no covalentes y tiene capacidad de unirse a una gran variedad de sustancias, como fosfocolina, fibronectina, cromatina, histonas y ribonucleoproteínas. Su papel fisiológico no está bien establecido y, de hecho, *in vitro* la PCR presenta tanto efectos antiinflamatorios como proinflamatorios; entre estos últimos se encuentra su capacidad, tras unirse a determinados ligandos, de activar el sistema del complemento. Forma parte del grupo de las proteínas consideradas como reactantes de fase aguda, aumentando su concentración en un rango de 1.000 veces, en respuesta rápida a la infección y otras situaciones de estrés metabólico (p, ej., traumatismos, isquemia y quemaduras), razón por la que tradicionalmente su

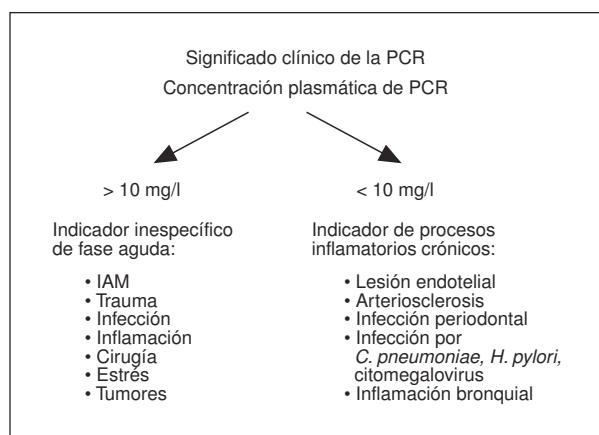


Figura 2. Rangos de concentración de la proteína C reactiva (PCR). La PCR es un reactante de fase aguda, cuyas concentraciones plasmáticas pueden ser observadas en dos rangos distintos. Cuando la concentración de esta proteína está por encima de 10 mg/l, usualmente es debido a la existencia de una situación de fase aguda. Por debajo de 10 mg/l, la variabilidad en sus concentraciones depende de otros factores, entre los que se encuentra la denominada inflamación crónica de bajo nivel.

cuantificación ha sido utilizada de forma clínica con el fin de detectar o monitorizar estas condiciones de fase aguda. La aparición de métodos ultrasensibles para la determinación de PCR ha permitido establecer la existencia de dos rangos de valores para la concentración de esta proteína (fig. 2): a) por encima de 10 mg/l, detectable mediante los mé-

todos analíticos de rutina, donde se comportaría como un clásico reactante de fase aguda y que es donde se encuentran sus concentraciones en respuesta a las situaciones de estrés metabólico, y b) por debajo de 10 mg/l, medible gracias a los nuevos métodos ultrasensibles, que es donde se encuentra la concentración de esta proteína en más del 95% de la población. Las variaciones de la concentración de PCR en este rango ultrasensible son las que han sido atribuidas a la situación que se ha denominado inflamación crónica o de "bajo nivel". A su vez, esta inflamación de "bajo nivel" ha sido identificada como un potente marcador de enfermedad coronaria<sup>25-27</sup>.

Por otra parte, numerosos estudios han intentado identificar los componentes de la variabilidad en las concentraciones de PCR, encontrándose numerosas asociaciones con la mayoría de los factores de riesgo cardiovascular<sup>28</sup>. Probablemente, muchas de estas situaciones implican un aumento de la activación del NF<sub>κ</sub>B (fig. 3), como podría ser la mediada por un aumento de la concentración de TNF-α, potente inductor de la síntesis de interleu- cina (IL) 6. A su vez, la IL-6 parece haber sido identificada como la señal que desencadena la síntesis hepática de PCR (fig. 4). De cualquier manera, no existen por el momento datos consistentes que permitan eliminar el efecto confusor de la interacción entre los diferentes factores de riesgo en adultos, por lo que la concentración de PCR parece re-

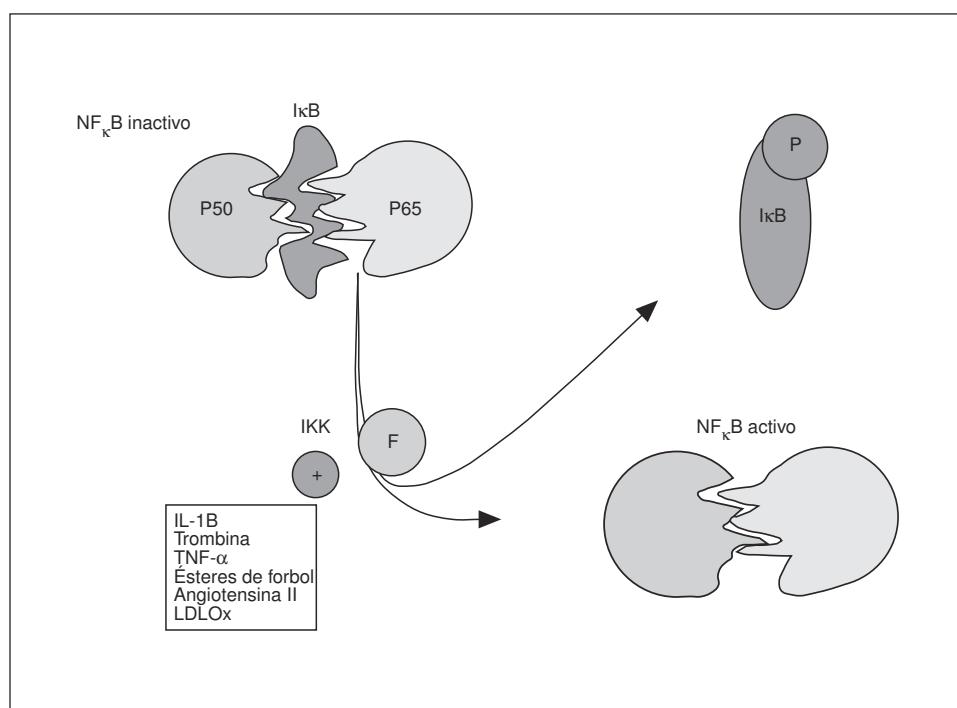


Figura 3. Activación del factor de transcripción nuclear NF<sub>κ</sub>B por efecto de distintos agentes. El NF<sub>κ</sub>B es un heterodímero que en forma inactiva, está bloqueado por el factor IκB. La cinasa IKK, activada por diversos factores, fosforila al IκB, hace que cambie de configuración y permite que se active el NF<sub>κ</sub>B que migra al núcleo y active determinados genes relacionados con el proceso inflamatorio.

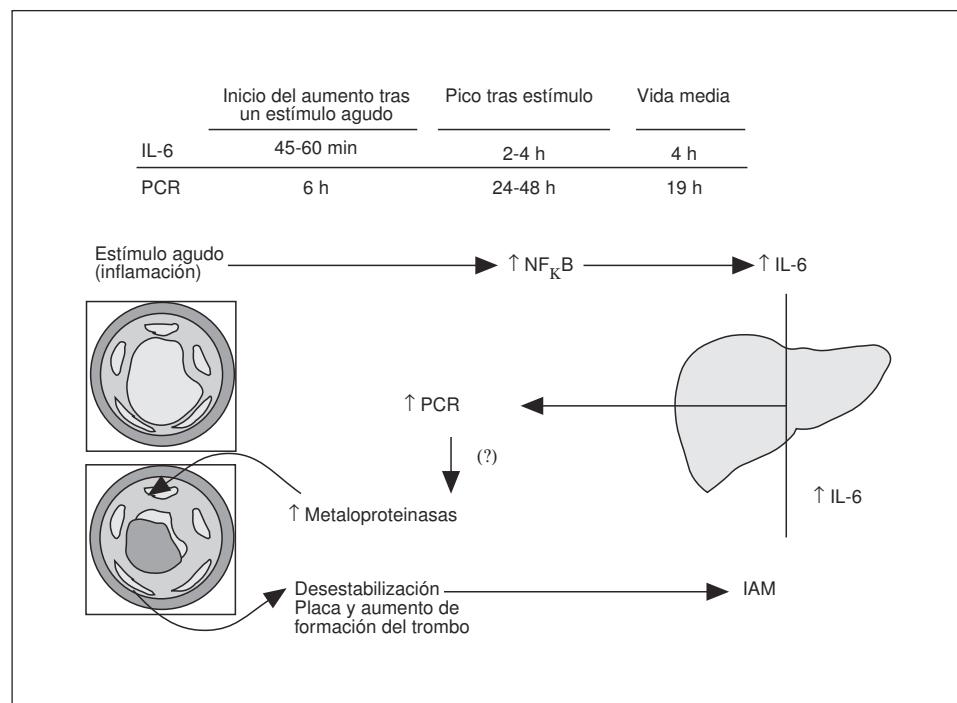


Figura 4. Dinámica de síntesis de la PCR tras un estímulo agudo. La activación del NF<sub>κ</sub>B, entre otras, estimula la síntesis local de interleucina 6 (IL-6), la cual induce la síntesis hepática de PCR. A su vez, la PCR podría tener efectos sobre la estabilidad de la placa de ateroma, quizás aumentando la actividad de metaloproteínasas. De cualquier manera, una situación aguda, como es el infarto de miocardio, desencadena una mayor síntesis de IL-6, que a su vez amplifica de forma importante la síntesis hepática de PCR.

flejar el daño acumulado asociado con el riesgo arteriosclerótico<sup>29</sup>. Es decir, algunos autores consideran que la elevación de la concentración de PCR podría ser considerada como un reflejo de la disfunción endotelial de causa múltiple (variable sustitutiva de disfunción endotelial), reflejando la cantidad y la gravedad del proceso arteriosclerótico, mediada por la liberación de diferentes citocinas proinflamatorias que serían los factores de riesgo reales (fig. 6). En este contexto, un trabajo reciente ha aportado evidencias directas de la asociación entre la disfunción endotelial y la inflamación de bajo grado, demostrando además que la elevación de la concentración de PCR se correlacionaba con un descenso en la producción basal de óxido nítrico<sup>30</sup>. En este mismo estudio, pudo demostrarse una significativa correlación entre la concentración de leptina, marcador de masa grasa, y la concentración de PCR. No obstante, estos hechos no son comunes a otros reactantes de fase aguda como la  $\alpha_1$ -glucoproteína ácida o la  $\alpha_1$ -antitrombina, que no se asocian con la enfermedad cardiovascular.

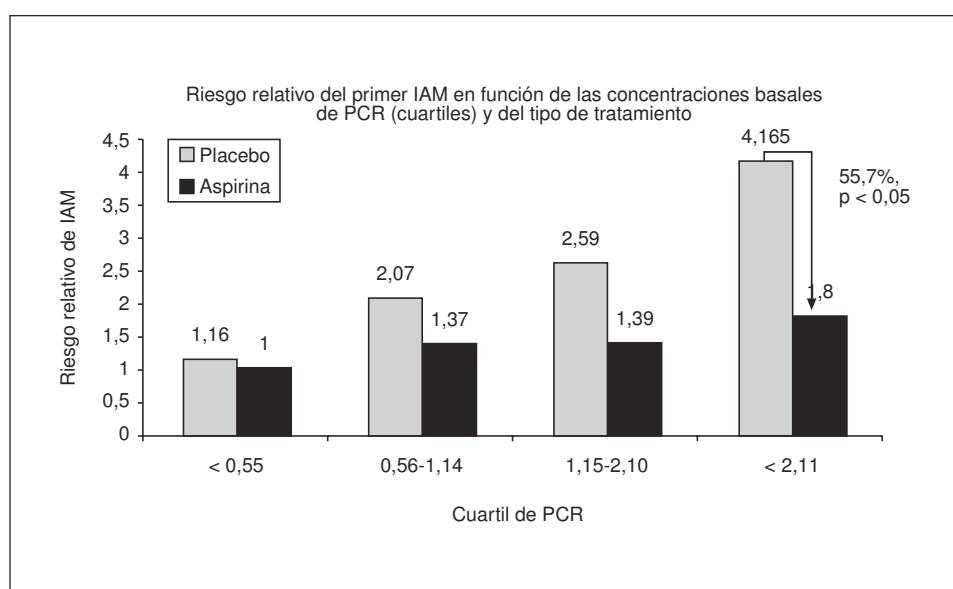
Otra cuestión a considerar podría ser la de la etiología infecciosa de la arteriosclerosis<sup>1</sup>. La concentración de PCR aumenta en respuesta a diversos agentes infecciosos que inducen reacciones inflamatorias en los vasos, y las infecciones crónicas en sí mismas también se han asociado con un aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular.

Así, infecciones previas por *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, virus del herpes simple o citomegalovirus pueden ser una fuente de inflamación crónica detectable por elevaciones de la concentración de PCR. Además, la secuencia cronológica de la infección por estos patógenos y el inicio y la progresión de la arteriosclerosis aún está por determinar.

Además, recientemente están apareciendo datos significativos que apoyan la teoría de que la PCR no sería un simple marcador de una situación anormal subyacente. Como ya hemos comentado, la PCR también posee componentes proinflamatorios<sup>31</sup> y, ya sea a través de la activación de complemento o por otros mecanismos menos conocidos, puede amplificar una situación de inflamación (fig. 4) y colaborar de forma importante en la propagación de lesiones focales.

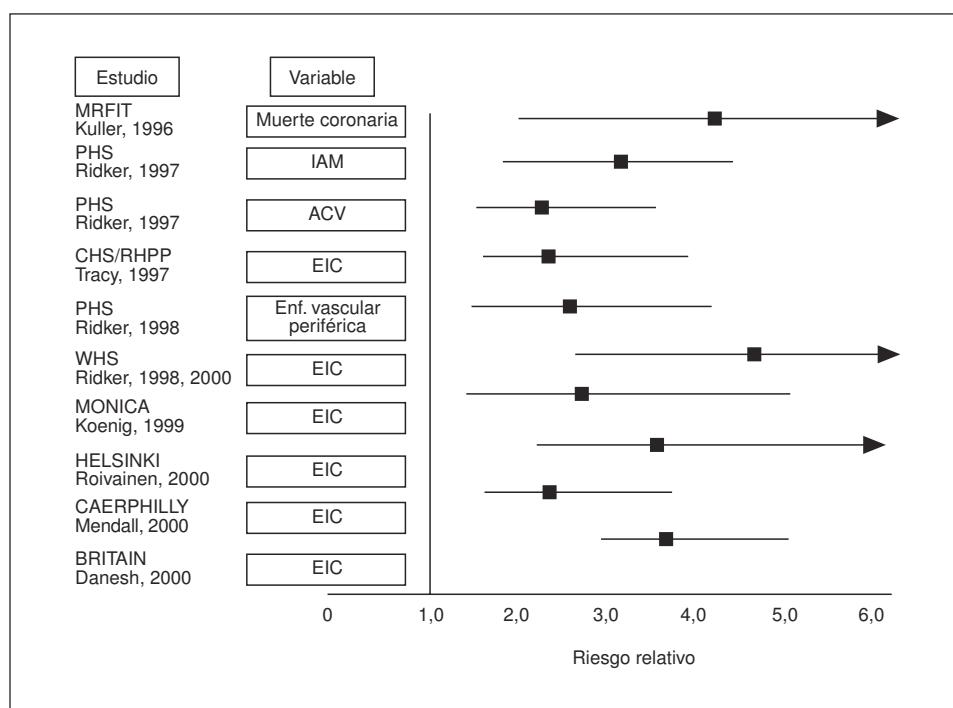
#### Estudios que relacionan la concentración de PCR con el riesgo de enfermedad cardiovascular en prevención primaria

Uno de los primeros estudios prospectivos, realizados con la intención de analizar el valor predictivo de la concentración de PCR, consiguió identificarla como un factor de riesgo en pacientes con enfermedad coronaria preexistente<sup>32</sup>. Con posterioridad, han sido numerosos los resultados que han demostrado el valor predictivo de las concentracio-



nes elevadas (dentro del rango de 0-10 mg/dl) de PCR. Entre ellos, cabe destacar los resultados de un análisis *post hoc* del estudio MRFIT<sup>33</sup>, en el que se analizaron las concentraciones basales de PCR en un grupo que había presentado episodios coronarios después de 7 años de seguimiento, con una media de 12 años tras la extracción de sangre, y en un grupo control de las mismas características pero que no había desarrollado enfermedad coro-

naria. En este análisis, la concentración de PCR parecía predecir el riesgo coronario, incluso durante largos períodos. No obstante, uno de los resultados más llamativos en el Physicians Health Study<sup>34</sup> es el correspondiente al análisis de las concentraciones basales de PCR en un subgrupo de pacientes que desarrollaron enfermedad coronaria, controlados por otro que no lo hizo (fig. 5). Este estudio fue diseñado como un ensayo aleatorizado, doble cie-



go, controlado frente a placebo, del efecto de la aspirina (325 mg en días alternos) y el betacaroteno en la prevención primaria de la enfermedad cardiovascular y el cáncer. Los resultados de este análisis demostraron que la concentración basal de PCR era más alta entre los individuos que desarrollaron una enfermedad coronaria o cerebrovascular que en los que permanecían libres de las mismas tras más de 8 años de seguimiento. Pero, además, pudo constatarse que el uso de aspirina se asoció con una clara reducción del riesgo coronario únicamente en los individuos cuya concentración basal de PCR se encontraba en el cuartil superior. Estos resultados permitieron esbozar la hipótesis de que los agentes antiinflamatorios podían inducir efectos clínicamente beneficiosos en la prevención de la enfermedad cardiovascular, pero fundamentalmente en presencia de la mencionada inflamación de "bajo nivel", detectada por la elevación relativa de la concentración de PCR. A partir de estos y otros estudios<sup>26,35</sup> se ha podido establecer de forma bastante consistente que la elevación de la concentración de PCR predice futuros accidentes cardiovasculares (fig. 6), y que lo hace con la misma potencia tanto en varones como en mujeres de mediana edad<sup>36</sup>. No obstante, si bien mantiene su capacidad predictiva en varones ancianos, no lo hace en mujeres de edad avanzada, y en ambos casos parece perder su valor predictivo a partir de los 80-85 años de edad<sup>37</sup>.

#### La PCR como marcador de riesgo de supervivencia tras el infarto de miocardio

Una situación de fase aguda característica es precisamente el infarto agudo de miocardio (IAM), y existe un notable interés por definir cuáles son los factores pronósticos en estos pacientes y su relación con la intervención aguda. Puesto que se considera que la recanalización precoz tras el IAM puede ser un prerrequisito para reducir la mortalidad de este proceso, y este procedimiento también reduce la reacción inflamatoria post-IAM, recientemente se realizó un estudio que monitorizaba la evolución de las concentraciones de PCR después de la trombólisis en un grupo de pacientes seleccionados para este tipo de tratamiento y se analizó la relación entre el pico máximo de PCR y la supervivencia de estos pacientes<sup>38</sup>. Los resultados de este estudio demostraron que el pico de PCR se producía entre el segundo y el cuarto día tras el IAM y que aquellos pacientes que sobrevivieron 24 meses o más tenían picos de concentración de PCR inferiores a los de aquellos que murieron previamente (de hecho, existió una clara tendencia a presentar

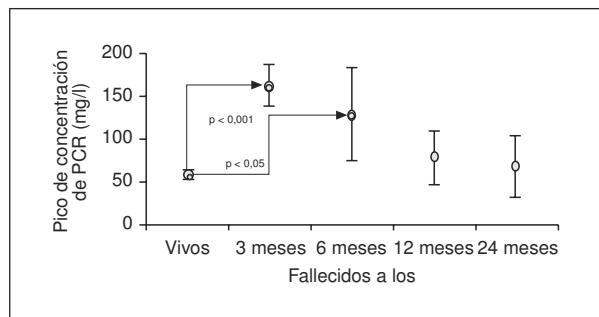


Figura 7. Relación entre el pico de concentración de PCR en la fase aguda y supervivencia posterior. En esta figura se observa cómo los individuos que presentaron mayores picos de PCR son los que sobrevivieron menos de 3 meses. (De Pietila et al<sup>38</sup>.)

picos medios decrecientes en los grupos que sobrevivieron a los 3, 6, 12 y 24 o más meses) (fig. 7). No obstante, era difícil medir la concentración de esta proteína más precozmente, debido fundamentalmente a la sensibilidad de los métodos existentes. Con el desarrollo de métodos ultrasensibles para la determinación de PCR (sensibilidad inferior a 1 mg/l)<sup>39</sup>, ya podía valorarse la concentración de esta proteína en la fase precoz post-IAM (hasta 24 h tras la admisión). Los estudios realizados con estos métodos revelaron que la determinación precoz de la concentración de PCR no permitía predecir el riesgo de accidentes cardíacos precoces durante la hospitalización, al contrario de lo que ocurría con la determinación de la concentración de troponina cardíaca I en las primeras 24 h tras el IAM<sup>40</sup>. No obstante, el aumento de la concentración de PCR en las primeras 24 h sí se acompañaba de un peor pronóstico a medio plazo (un año)<sup>41</sup>, pero no era capaz de correlacionarse con el pronóstico tras un accidente cerebrovascular<sup>42</sup>. De esta manera y aunque la PCR pueda interaccionar con el miocardio infartado y contribuir a la inflamación tisular a través de la activación de complemento, no parece que la respuesta de la PCR tras el IAM refleje simplemente la extensión de la necrosis<sup>29</sup>.

#### La PCR como marcador de riesgo en prevención secundaria

Por el momento, existe poca información acerca del valor de la determinación de PCR en la fase estable tras el IAM y su valor predictivo de recurrencias en estos pacientes. Sólo los datos de un análisis *post hoc* de las muestras de los pacientes incluidos en el estudio CARE<sup>43</sup> han permitido obtener alguna información consistente. En este ensayo se analizaron las muestras basales de los 391 casos observados durante el estudio y de un número

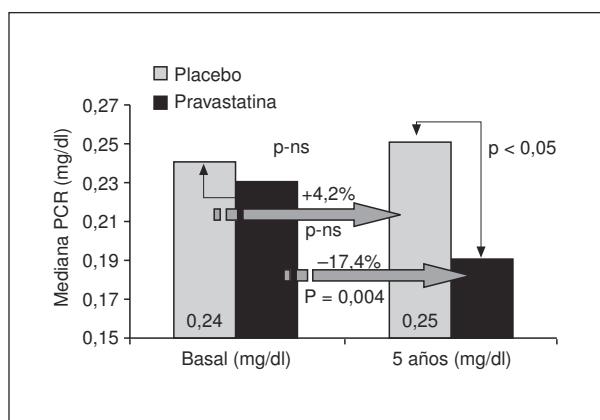


Figura 8. Evolución de la concentración de PCR en los pacientes tratados con placebo o pravastatina en el estudio CARE. En la parte inferior de las barras se indica la concentración media de PCR (mg/l). En los pacientes tratados con placebo, la concentración de PCR prácticamente no se modificó, mientras que en los pacientes tratados con pravastatina se observó un descenso medio del 17,4% en la concentración de esta proteína.

idéntico de controles de la misma edad y sexo, determinándose en las mismas la concentración de PCR y sustancia amiloide A (SAA). Los resultados de este análisis demostraron que los individuos pertenecientes al quintil superior de concentración de PCR tenían un riesgo relativo de recurrencia (IAM no fatal o muerte coronaria) significativamente superior al del resto de individuos.

### Modificación de la concentración de PCR con el tratamiento farmacológico de las dislipemias

Una vez definida la relación de la elevación de la concentración de PCR con el riesgo cardiovascular, independientemente de las lagunas que existen acerca de los mecanismos fisiopatológicos de esta asociación, quedaría por analizar si la intervención, sobre todo farmacológica, capaz de reducir significativamente la morbilidad coronaria tiene algún efecto sobre las concentraciones de PCR.

A pesar de las dudas razonables acerca del beneficio clínico a largo plazo de la terapia hormonal sustitutiva en mujeres posmenopáusicas, sí parecen existir evidencias de su efecto cardioprotector a corto plazo. En un estudio reciente<sup>44</sup>, en que un grupo de mujeres posmenopáusicas con diabetes mellitus tipo 2 fueron tratadas con una combinación de estradiol transdérmico y noretisterona oral durante 6 meses, se evidenció un significativo descenso de las concentraciones de PCR que fue mayor cuanto más elevadas eran las concentraciones basales de esta proteína. Por otra parte, en el estudio CARE<sup>45</sup>, un ensayo de prevención secundaria en que pacientes con concentraciones moderadamente elevadas de cLDL fueron seleccionados aleatoriamente para tomar placebo o 40 mg de pravastatina, y que demostró un claro descenso de la morbilidad coronaria a los 5 años en el grupo con tratamiento activo, se observó también un signifi-

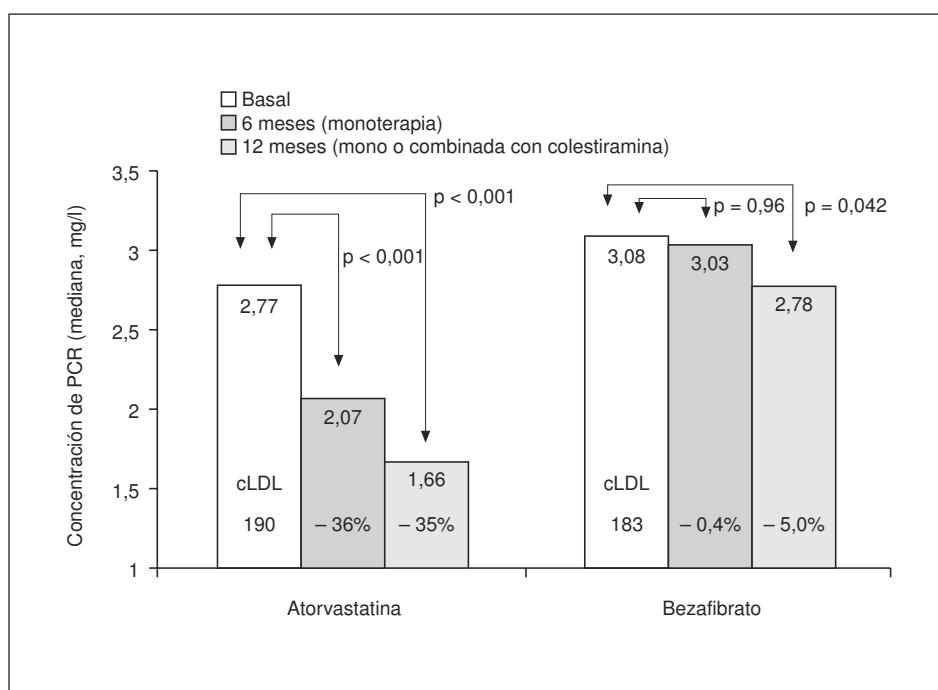


Figura 9. Modificación de la concentración de PCR en el estudio ATOMIX (atorvastatina frente a bezafibrato en hiperlipemia mixta). En la parte superior de las barras puede observarse la concentración media de PCR (mg/dl) y en la parte inferior de las mismas la concentración media de cLDL (mg/dl). En este estudio pudo observarse que los pacientes tratados con atorvastatina redujeron su concentración en PCR a los 6 meses de tratamiento y mantuvieron esta reducción durante los 12 meses del estudio (en ambos casos,  $p < 0,001$ ), mientras que los individuos tratados con bezafibrato tan sólo redujeron ligeramente ( $p = 0,042$ ) su concentración de PCR a los 12 meses.

cativo descenso de la concentración de PCR en el grupo tratado con pravastatina (fig. 8), que además no se relacionó con la magnitud del descenso de cLDL<sup>45</sup>. En ambos casos, el descenso de la concentración de PCR ha sido atribuido al efecto antiinflamatorio de los progestágenos y de las estatinas. En el caso de las estatinas, estos resultados han podido ser reproducidos con atorvastatina en pacientes con obesidad visceral<sup>46</sup> y en pacientes con hiperlipemia mixta<sup>47</sup> (fig. 9), pero no con fluvastatina<sup>48</sup>, también en hiperlipemia mixta.

No obstante, no queda suficientemente esclarecido que el efecto de las estatinas sobre la concentración de PCR pueda atribuirse a su efecto pleiotrópico, o sea a un efecto antiinflamatorio independiente del descenso de la concentración de cLDL. De hecho, todos los resultados significativos corresponden a análisis *post hoc* de estudios diseñados con otra finalidad. Por tanto, es necesario esperar la obtención de resultados de estudios más específicos que permitan valorar adecuadamente el significado de estos descensos de la concentración de PCR en pacientes tratados con estatinas por presentar concentraciones elevadas de colesterol LDL.

### Utilidad práctica de la determinación de PCR ultrasensible

Las alteraciones del perfil lipídico son consideradas actualmente como uno de los principales factores de riesgo cardiovascular, por lo que no es extraño que se haya despertado un gran interés en intentar definir las relaciones entre las concentraciones de PCR y el perfil lipídico, y el tipo de capacidad predictiva que estas posibles asociaciones podrían tener sobre el desarrollo de enfermedad coronaria. Entre los estudios más relevantes que han analizado estas relaciones volvemos a encontrar el Physicians Health Study, cuyos resultados indican que la concentración basal de PCR ejerce un efecto aditivo sobre el valor predictivo de las concentraciones de colesterol total y cHDL<sup>35</sup>. Más aún, el análisis de diversos modelos interactivos aporta la posibilidad de que el efecto conjunto de ambos factores de riesgo sea mayor que el producto de los efectos individuales de cada uno de ellos considerado individualmente<sup>35</sup>. Este hecho se confirma en un reciente estudio realizado en mujeres posmenopáusicas que, además, revela que la concentración de PCR sigue siendo un buen predictor del riesgo coronario incluso en aquellas cuya concentración de cLDL es inferior a 130 mg/dl<sup>36</sup>.

Desde un punto de vista práctico, aunque aún no se dispone de un cuerpo de información suficiente

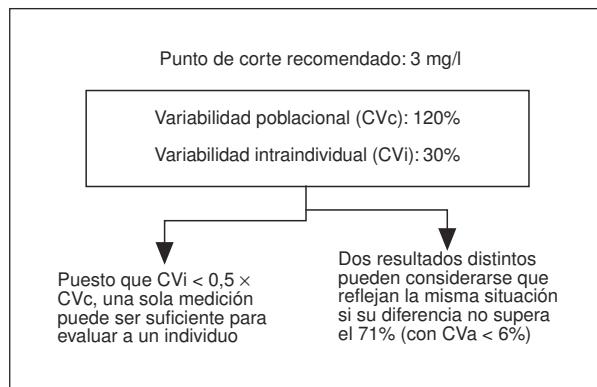


Figura 10. Valores de las diferentes fuentes de variabilidad asociadas con la determinación de PCR.

como para recomendar la determinación universal de PCR ultrasensible<sup>49</sup>, sí se admite el valor de esta determinación como marcador de riesgo<sup>50,51</sup>. Desde este punto de vista se ha llegado a consensuar un punto de corte de 3 mg/l, por encima del cual se admite que existe un elevado riesgo de enfermedad coronaria, mientras que desde el punto de vista técnico se admite que dos resultados consecutivos pueden ser considerados diferentes (coeficiente de variación poblacional del 120%, coeficiente de variación intraindividual del 30% y coeficiente de variación analítico del 6%) cuando la diferencia entre ambos es superior al 70%, y que un valor único de concentración de PCR, sobre todo si es inferior a 3 mg/l, puede permitir su valoración<sup>52,53</sup>. Así, si tenemos en cuenta que en personas mayores la concentración de PCR también puede estar elevada como consecuencia de situaciones de fase aguda, el esquema de actuación que se recomienda actualmente es el siguiente<sup>52</sup> (figs. 10 y 11):

– Determinación de PCR ultrasensible cuando existen dudas acerca de si un individuo tiene un alto riesgo de enfermedad coronaria, sobre todo con el fin de tomar decisiones de intervención.

– En el caso de que la concentración de PCR sea inferior a 3 mg/dl, se acepta que no existe una situación de alto riesgo.

– En el caso de que la concentración de PCR sea superior a 3 mg/l, se recomienda repetir la determinación en el plazo de las 4 semanas siguientes, por lo menos 2 semanas después de la primera determinación, con el fin de descartar una situación de fase aguda si no ha podido excluirse por la historia clínica.

– Si el segundo valor obtenido es superior a 10 mg/l en personas de menos de 70 años, o superior a 20 mg/l en personas de 70 o más años, o se separa

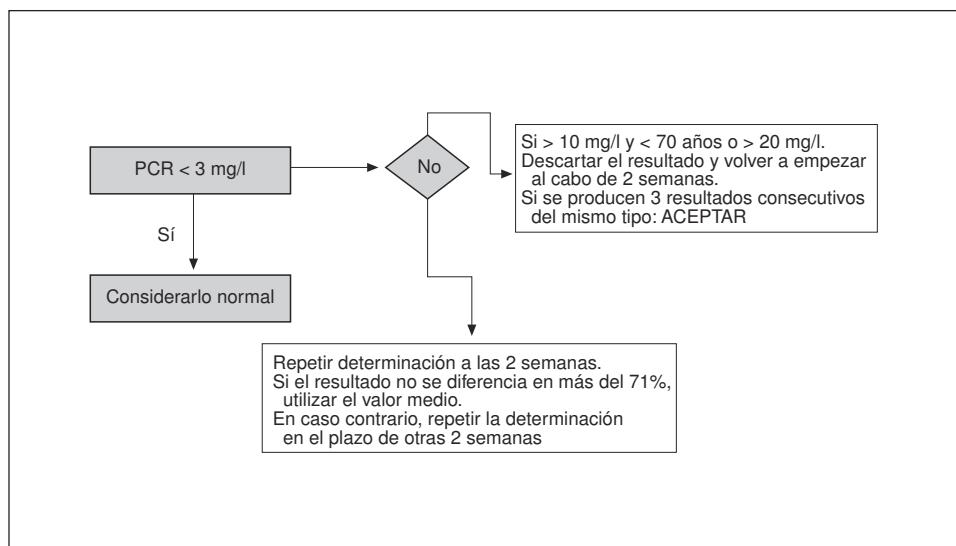


Figura 11. Algoritmo propuesto para la evaluación de la concentración de PCR en un individuo concreto. En el mismo se puede observar que cuando la concentración de PCR es inferior a 3 mg/l no se considera necesaria su repetición, de acuerdo con lo expresado en la figura 10. Asimismo, un valor superior a 10 mg/l (o 20 mg/l, en personas mayores de 70 años) puede ser considerado como representativo de la concentración habitual de PCR si se mantiene estable en el tiempo.

en más de un 70% del resultado obtenido en la primera determinación, se debe realizar una tercera determinación con un intervalo similar al utilizado entre las dos primeras. Si la segunda y tercera de-

terminación no se diferencian en más de un 70%, sea cual sea su valor, hay que aceptar la media de ambas determinaciones como representativa de la concentración real de PCR. En caso contrario, se debe realizar una nueva determinación hasta que dos determinaciones consecutivas se diferencien en menos de un 70%.

– Con un resultado representativo de PCR de más de 3 mg/l, se debe considerar al individuo como de alto riesgo cardiovascular.

De cualquier manera, lo que sí parece evidente en este momento es la clara relación entre los procesos inflamatorios crónicos, sea cual sea su etiología, y el inicio y el progreso del proceso de la arteriosclerosis, así como la posibilidad de que la concentración de PCR pueda ser considerada como un marcador sustitutivo de disfunción endotelial que representa el conjunto de lesiones endoteliales presentes. Asimismo, el descenso de la concentración de PCR con tratamientos farmacológicos (fundamentalmente algunas estatinas) que se acompañan de un claro beneficio de la morbilidad coronaria parece reflejar la relativa reversibilidad de la disfunción que está siendo reflejada por la elevación de la concentración de esta proteína de fase aguda. No obstante, habrá que esperar a los nuevos datos que sin duda surgirán en un futuro próximo para poder profundizar en la relación entre inflamación, arteriosclerosis y el control de ambas.

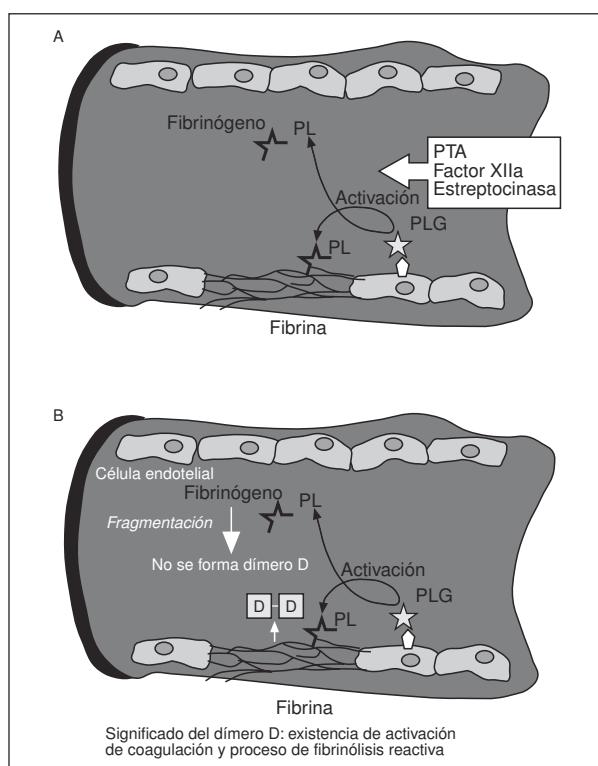


Figura 12. Proceso de activación de la fibrinólisis. El plasminógeno (PLG) puede ser convertido en plasmina (PL) por diferentes mecanismos. La PL formada puede actuar sobre el fibrinógeno o los coágulos de fibrina: sólo en el segundo caso se formarán fragmentos de dímero D.

### Hemostasia y dímero D

Si bien el fibrinógeno y otros factores de coagulación pueden ser considerados como reactan-

**Tabla 3. Tabla comparativa de métodos para la determinación del dímero D**

Método	ELISA	Prueba manual látex	Inmuno-turbidimétrica
Sensibilidad	Muy alta (ng/ml)	Media (μg/ml)	Alta (50 ng/ml)
Coste	Muy elevado	Elevado	Medio
Resultado	Cuantitativo	Exclusión	Cuantitativo
Procedimiento	Horas	Minutos	Minutos
Manipulación	Laboratorio especializado	Sencillo y fácil	Automatizado
Instrumentación	Sí	No se necesitan	Analizadores
Notas	No rutinario	Rutinario/urgencia	Rutinario/urgencia

tes de fase aguda y en la mayoría de los estudios no han añadido valor predictivo a la concentración de PCR, la concentración de dímero D parece comportarse de forma distinta y en alguno de los estudios disponibles parece añadir valor predictivo al de otros marcadores de riesgo coronario, incluyendo la concentración de PCR. El dímero D es un producto específico de la degradación del coágulo de fibrina. Durante la activación de la fibrinólisis, el plasminógeno es convertido en plasmina por acción de diversos factores (fig. 12) y la plasmina resultante puede actuar tanto sobre el fibrinógeno como sobre los coágulos de fibrina. La acción de la plasmina sobre el fibrinógeno genera diversos fragmentos característicos, entre los que no se encuentra el dímero D, que sí se forma, en cambio, por la acción de la plasmina sobre el polímero de fibrina (coágulo de fibrina). Por tanto, la presencia de dímero D en plasma es consecuencia de la existencia de un proceso de coagulación y de un proceso de fibrinólisis reactiva. Por este motivo, la no elevación de la concentración plasmática de dímero D ha sido considerada como un criterio de exclusión para la existencia de afecciones tromboembólicas<sup>54</sup>. Recientemente, la aparición de métodos cuantitativos de elevada (inmuno-turbidimetría) o muy elevada (ELISA) sensibilidad para la determinación del dímero D (tabla 3) ha permitido la extensión de su uso y el análisis de su variabilidad dependiente de otros tipos de procesos patológicos.

#### Evidencias que relacionan la concentración de dímero D con la enfermedad coronaria

Dentro de las nuevas aplicaciones de la determinación del dímero D se encuentran las que lo encuadran como marcador de riesgo cardiovascular. Los principales datos que apoyan esta consideración proceden de varios estudios, por lo que comentaremos los más significativos. En el Cardiovascular Health Study<sup>55</sup> se estudian 5.201 varones y mujeres de más de 65 años de edad, seleccionados aleatoriamente entre las listas de Medicare, una vez excluidos aquellos con enfermedad cardiovascular definida. En este estudio, los participantes son seguidos mediante evaluaciones cada 2 años, registrándose todos los casos de enfermedad coronaria. Se recuperaron las muestras de plasma basales (recogidas en EDTA o citrato, con inhibidores de proteasas y conservadas a -70 °C) de todos los casos y de un número idéntico de controles emparejados por sexo, edad y tiempo de seguimiento sin ningún accidente coronario. En todos ellos se determinó la concentración plasmática de dímero D por ELISA y de los complejos plasmina-antiplasmina (PAP, también por ELISA). Para el análisis de los resultados, los pacientes se distribuyeron por cuartiles de su concentración de dímero D, y pudo observarse que en los individuos pertenecientes a los dos cuartiles superiores el riesgo de IAM o muerte coronaria (variable combinada) era significativamente superior al que presentaban los de los cuartiles inferiores (tabla 4).

**Tabla 4. Riesgo relativo (RR) de episodios por cuartil de dímero D en el Cardiovascular Health Study\***

Cuartil	Valores de dímero D ng/ml	IAM, muerte coronaria o angina RR (IC del 95%)	Angina RR (IC del 95%)	IAM o muerte coronaria RR (IC del 95%)
1	21-74	1	1	1
2	75-123	1,0 (0,5-2,1)	0,4 (0,1-1,2)	2,7 (0,9-6,1)
3	124-191	2,2 (1,1-4,7)	1,2 (0,4-3,3)	5,1 (1,4-18,1)
4	192-4.578	2,1 (1,0-4,4)	1,0 (0,3-2,9)	4,1 (1,2-14,5)
P (tendencia)		0,02	0,49	0,02
n.º		138	68	70

\*Ajustado por hipertensión, tabaco, raza y diabetes. (De Cushman et al<sup>55</sup>).

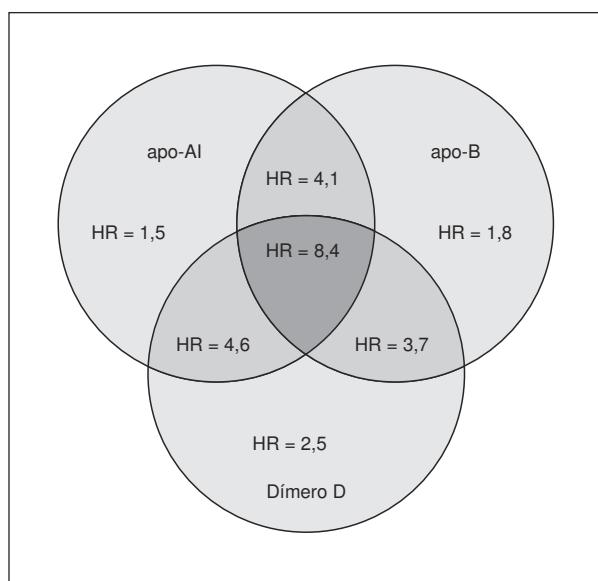


Figura 13. En esta figura se representan las HR (hazard ratio) relacionadas con elevaciones de la concentración de apo-B o dímero D, o descensos de la concentración de apo-AI (cuartil superior o inferior, respectivamente) y los correspondientes a individuos con más de una de estas alteraciones (intersecciones).

Las principales sugerencias que surgen de este estudio fueron que la respuesta inflamatoria y la activación fibrinolítica pueden tener papeles diferentes en la aterogénesis y que la medición de marcadores de ambos procesos podrían producir información aditiva por lo que respecta a la predicción del IAM.

Otro estudio<sup>56</sup>, éste de prevención secundaria, selecciona a 2.407 pacientes de más de 21 años de entre los 5.916 admitidos en unidades coronarias

de 13 hospitales con un IAM documentado entre octubre de 1994 y junio de 1997. De estos pacientes seleccionados 1.161 aceptaron participar en el estudio, que consistió en el análisis de los factores trombogénicos y el seguimiento posterior hasta una fecha fija. El tiempo medio de seguimiento fue de 26 meses y el plasma obtenido en condiciones basales se conservó a -70°C, para la medición en los casos (accidente recurrente: IAM o muerte coronaria) y controles de factores trombogénicos (factor VII, factor VIIa, fibrinógeno, factor von Willebrand y plasminógeno), dímero D y factores lipídicos (colesterol total, cHDL, triglicéridos, apo-AI, apo-B y Lp[a]).

Tras realizar los análisis mencionados, se clasificó a los pacientes en cuartiles de concentración de dímero D, apo-AI y apo-B y se analizó el riesgo relativo observado en los individuos pertenecientes al cuartil superior de apo-B y dímero D y cuartil inferior de apo-AI de forma independiente y conjunta, comparándolo con el resto de individuos. Los principales resultados se detallan en la figura 13, donde podemos observar que la HR atribuible a la elevación de dímero D es la más elevada de las relacionadas con estos tres parámetros y que cualquier asociación de los mismos eleva la HR correspondiente hasta 8.4 en los individuos pertenecientes simultáneamente a los cuartiles superiores de apo-B y dímero D e inferior de apo-AI. Estos resultados sugieren que la elevación de la concentración de dímero D puede reflejar un estado protrombótico sistémico y, posiblemente, una formación focal de fibrina asociada con la actividad de placa ateros-

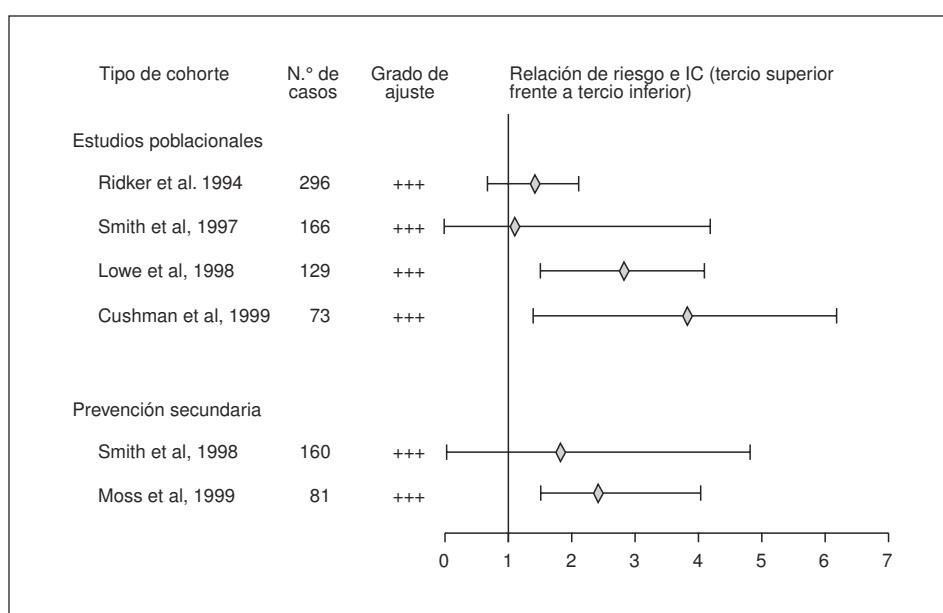


Figura 14. Metaanálisis de los estudios prospectivos, publicados hasta el año 2000, que han utilizado la medición de dímero D y enfermedad coronaria como variable principal, tanto en prevención primaria como secundaria. Muchos de estos estudios han encontrado que la elevación de la concentración de dímero D era predictiva de enfermedad coronaria (nueva o recurrente). (De Danesh et al<sup>57</sup>.)

**Tabla 5. Odds ratio de enfermedad coronaria en varones del tercil superior de dímero D, frente a los del tercil inferior, en el British Regional Heart Study**

Valores de dímero D (ng/ml)	Casos (n)	Controles (n)	OR (IC del 95%)*
Todos los casos y controles			
> 94	264	424	1,79 (1,36-2,36)
49-94	210	430	1,24 (0,94-1,65)
< 49	156	415	1
Casos y controles sin enfermedad coronaria al inicio			
> 94	162	343	1,43 (1,04-1,98)
49-94	135	330	1,16 (0,83-1,62)
< 49	110	337	1

\*Ajustado para edad, tabaco, procedencia, factores de riesgo e indicadores socioeconómicos. (De Danesh et al<sup>57</sup>.)

clerótica inestable. Además, el incremento de la concentración de apo-B o el descenso de la concentración de apo-AI tienen un valor adicional a la elevación del dímero D como marcadores de riesgo cardiovascular.

En el British Regional Heart Study<sup>57</sup> se incluye a 7.735 varones de 40-59 años de edad seleccionados aleatoriamente (5.661 válidos para el estudio), de los que se obtiene una muestra de suero que se congela y se realiza un seguimiento de 16 años. En este período de seguimiento se registran 643 casos coronarios (279 muertes coronarias y 364 IAM no mortales), de los que se rescata la muestra original, así como de 1.278 controles emparejados por edad y procedencia, para el análisis de dímero D, PCR, SAA, parámetros lipídicos y otras magnitudes biológicas. Con los resultados obtenidos se distribuyen los individuos en terciles de concentración de dímero D y se analiza la distribución entre casos y controles de los individuos pertenecientes a cada uno de los terciles obtenidos; los principales resultados indican que tanto en individuos sin enfermedad coronaria previa, como en el grupo completo, en el tercil superior de dímero D hay una mayor proporción de casos que de controles (tabla 5). Por otra parte, el autor realiza un metaanálisis de los estudios prospectivos previos y los compara con los datos obtenidos en este estudio, llegando a la conclusión de que la elevación de la concentración de dímero D está emergiendo como un buen marcador de riesgo cardiovascular (fig. 14). Otros estudios prospectivos, como el Edinburgh Artery Study<sup>58</sup>, el Speedwell Study<sup>59</sup> o el Caerphilly Study<sup>4,60</sup>, así como estudios transversales<sup>61</sup>, obtienen resultados similares, en los que se confirma el valor aditivo de la elevación de la concentración de dímero D como marcador de riesgo cardiovascular. Es más, incluso en hijos de individuos con enfermedad coronaria prematura se observan elevaciones de esta magnitud biológica<sup>62</sup>.

### Valor actual de la determinación de dímero D

De acuerdo con los resultados de los estudios que hemos expuesto, podemos llegar a la conclusión de que la concentración de dímero D tiene un buen valor predictivo negativo para la trombosis venosa profunda y el embolismo pulmonar, y que la elevación de la concentración de dímero D parece revelarse como un buen indicador de un estado de hipercoagulabilidad y está emergiendo como un buen marcador de riesgo cardiovascular. No obstante, es necesario progresar de forma clara en la estandarización de la medición de esta magnitud biológica y hacer el esfuerzo adecuado para establecer puntos de corte que nos permitan delimitar el valor de dímero D como marcador negativo de la trombosis venosa profunda y el embolismo pulmonar, por una parte, y del riesgo cardiovascular, por otra.

### Bibliografía

1. Nieto FJ. Infections and atherosclerosis: new clues from an old hypothesis? Am J Epidemiol 1998;148:937-948.
2. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. N Engl J Med 1999;340:115-26.
3. Rifai N, Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: a novel and promising marker of coronary heart disease. Clin Chem 2001;47:403-11.
4. Lowe GD, Rumley A, Sweetnam PM, Yarnell JW, Rumley J. Fibrin D-dimer, markers of coagulation activation and the risk of major ischaemic heart disease in the Caerphilly study. Thromb Haemost 2001;86:822-7.
5. Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP 3rd, Tracy RE, Wattigney WA. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The Bogalusa Heart Study. N Engl J Med 1998;338:1650-6.
6. Napoli C, Glass CK, Witztum JL, Deutsch R, D'Armiento FP, Palinski W. Influence of maternal hypercholesterolemia during pregnancy on progression of early atherosclerotic lesions in childhood: Fate of Early Lesions in Children (FELIC) study. Lancet 1999;354:1234-41.
7. Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis. N Engl J Med 1976;295:369-77.
8. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis. An update. N Engl J Med 1986;314:488-500.
9. Virchow R. Phlogose und thrombose im Gefa system. En: Virchow R, editor. Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftliche Medizin. Berlin: Meidinger Sohn, 1856; p. 458-63.

10. Von Rokitansky K. *Handbuch der pathologische anatomie*. Vol 2. Wien: Braumüller und Seidel, 1844.
11. Duguid JB. Thrombosis as a factor in the pathogenesis of coronary atherosclerosis. *J Pathol Bacteriol* 1946;58:207-12.
12. Ip JH, Fuster V, Badimón L, Badimón J, Taubman MB, Chesebro JH. Syndromes of accelerated atherosclerosis: role of vascular injury and smooth muscle cell proliferation. *J Am Coll Cardiol* 1990;15:1667-87.
13. Herrmann RA, Malinauskas RA, Truskey GA. Characterization of sites with elevated LDL permeability at intercostal, celiac, and iliac branches of the normal rabbit aorta. *Arterioscler Thromb* 1994;14:313-23.
14. Glagov S, Zarins C, Giddens DP, Ku DN. Hemodynamics and atherosclerosis: insights and perspectives gained from studies of human arteries. *Arch Pathol Lab Med* 1988;112:1018-31.
15. Fry DL, Herderick EE, Johnson DK. Local intimal medial uptakes of  $^{125}\text{I}$  albumin,  $^{125}\text{I}$  LDL, and parenteral Evans blue dye protein complex along the aortas of normocholesterolemic minipigs as predictors of subsequent hypercholesterolemic atherogenesis. *Arterioscler Thromb* 1992;12:1313-28.
16. Hjelms E, Stender S. Accelerated cholesterol accumulation in homologous arterial transplants in cholesterol fed rabbits. A surgical model to study transplantation atherosclerosis. *Arterioscler Thromb* 1992;12:771-9.
17. Lin S, Hong C, Chang M, Chiang BN, Chien S. Long term nicotine exposure increases aortic endothelial cell death and enhances transendothelial macromolecular transport in rats. *Arterioscler Thromb* 1992;12:1305-12.
18. Autio I, Jaakkola O, Solakivi T, Nikkari T. Oxidized low density lipoprotein is chemotactic for arterial smooth muscle cells in culture. *FEBS Lett* 1990;277:247-9.
19. Strong JP, Restrepo C, Guzman M. Coronary and aortic atherosclerosis in New Orleans. II. Comparison of lesions by age, sex and race. *Lab Invest* 1978;39:364-9.
20. Fuster V, Stein B, Ambrose BA, Badimón L, Badimón JJ, Chesebro JH. Atherosclerotic plaque rupture and thrombosis: evolving concepts. *Circulation* 1990;82 (Suppl 2):47-59.
21. Richardson PD, Davies MJ, Born GVR. Influence of plaque configuration and stress distribution on fissuring of coronary atherosclerotic plaques. *Lancet* 1989;2:941-4.
22. Falk E. Unstable angina with fatal outcome: dynamic coronary thrombosis leading to infarction and/or sudden death: autopsy evidence of recurrent mural thrombosis with peripheral embolization culminating in total vascular occlusion. *Circulation* 1985;71:699-708.
23. Singh TM, Kadowski MH, Glacov S, Zarins CK. Role of fibrinopeptide B in early atherosclerotic lesion formation. *Am J Surg* 1990;160:156-9.
24. Healy H, Westhuyzen J. Biology and relevance of C-reactive protein in cardiovascular and renal disease. *Ann Clin Lab Sci* 2000;30:133-43.
25. Tracy RP. Inflammation markers and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 1999;10:345-441.
26. Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, et al. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. *BMJ* 2000;321:199-204.
27. Blake G, Ridker PM. Novel clinical markers of vascular wall inflammation. *Circ Res* 2001;89:763-71.
28. Rhode LEP, Hennekens CH, Ridker PM. Survey of C-reactive protein and cardiovascular risk factors in apparently healthy men. *Am J Cardiol* 1999;84:1018-22.
29. Lagrand WK, Visser CA, Hermens WT, Niessen HWM, Verheugt FWA, Wolbink GJ, et al. C-reactive protein as a cardiovascular risk factor. More than an epiphomenon? *Circulation* 1999;100:96-102.
30. Cleland SJ, Sattar N, Petrie JR, Forouhi NG, Elliot HL, Connell JMC. Endothelial dysfunction as a possible link between C-reactive protein levels and cardiovascular disease. *Clin Sci* 2000;98:531-5.
31. Pasceri V, Willerson JT, Yeh ETH. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000;102:2165-8.
32. Thompson S, Kienast J, Pyke S, Haverkate F, Van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. *N Engl J Med* 1995;332: 635-41.
33. Kuller LH, Tracy RP, Shaten J, Meilahn EN, for the MRFIT Research Group. Relation of C reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT nested case-control study. *Am J Epidemiol* 1996;144:537-47.
34. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RS, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997;336:973-9.
35. Ridker P, Glynn R, Hennekens C. C reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. *Circulation* 1998; 97:2007-11.
36. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JF, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000;342:836-43.
37. Strandberg TE, Tilvis RS. C Reactive protein, cardiovascular risk factors, and mortality in a prospective study in the elderly. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1057-60.
38. Pitila KO, Harmoinen AP, Jokiniitty J, Pasternack AI. Serum C-reactive protein concentration in acute myocardial infarction and its relationship to mortality during 24 months of follow-up in patients under thrombolytic treatment. *Eur Heart J* 1996;17:1345-9.
39. Roberts WL, Sedrick R, Moulton L, Spencer A, Rifai N. Evaluation of a four automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. *Clin Chem* 2000;46:461-8.
40. Benamer H, Steg PG, Benessiano J, Vicaut E, Gaultier C, Boccara A, et al. Comparison of the prognostic value of C reactive protein and troponin T in patients with unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 1998;82:845-50.
41. Tommasi S, Carluccio E, Bentivoglio M, Buccolieri M, Mariotti M, Politan M, et al. C-reactive protein as a marker for cardiac ischaemic events in the year after a first, uncomplicated myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1999;83:1595-9.
42. Canova CR, Courtin C, Reinhart WH. C reactive protein (CRP) in cerebrovascular events. *Atherosclerosis* 1999;147:49-53.
43. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks FM, Moye LA, Goldman S, et al. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. *Circulation* 1998;98:839-44.
44. Sattar N, Perera M, Small M, Lumsden MA. Hormone replacement therapy and sensitive C-reactive protein concentrations in women with type-2 diabetes. *Lancet* 1999;354:487-8.
45. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks FM, Braunwald E, for the cholesterol and recurrent events (CARE) Investigators. Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. *Circulation* 1999;100:230-5.
46. Chan DC, Watts GF, Barrett PHR, Beilin LJ, Mori TA. Effect of atorvastatin and fish oil on plasma high-sensitivity C-reactive protein concentrations in individuals with visceral obesity. *Clin Chem* 2002;48:877-83.
47. Gómez-Gerique JA, Ros E, Olivan J, Mostaza JM, Vilardell M, Pinto X, et al. Effect of atorvastatin and bezafibrate on plasma levels of C-reactive protein in combined (mixed) hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 2002;162:245-51.
48. Cortellaro M, Cofrancesco E, Boschetti C, Cortellaro F, Mancini M, Mariani M, et al. Effects of fluvastatin and bezafibrate combination on plasma fibrinogen, t-plasminogen activator inhibitor and C-reactive protein levels in coronary artery disease patients with mixed hyperlipidaemia (FACT study). *Fluvastatin alone and in combination treatment*. *Thromb Haemost* 2000;83:549-53.
49. Koenig W. C-reactive protein and cardiovascular risk: Has the time come for screening the general population? *Clin Chem* 2001;47:9-10.
50. Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein. Potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation* 2001;103:1813-8.
51. 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: 426-30.
52. Kluft C, De Maat PM. Determination of the habitual low blood level of C-reactive protein in individuals.  *Ital Heart J* 2001;2:172-80.
53. Koenig W. C-reactive protein: risk assessment in the primary prevention of atherosclerotic disease. Has the time come for including it in the risk profile?  *Ital Heart J* 2001;2:157-163.

54. Schutgens RE, Esseboom EU, Haas FJ, Nieuwenhuis HK, Biesma DH. Usefulness of a semiquantitative D-dimer test for the exclusion of deep venous thrombosis in outpatients. *Am J Med* 2002; 112:617-21.
55. Cushman M, Lemaitre RN, Kuller LH, Psaty RM, Macy EM, Shaeffer AR, et al. Fibrinolytic activation markers predict myocardial infarction in the elderly. The Cardiovascular Health Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:493-8.
56. Moss AJ, Goldstein RE, Marder VJ, Sparks CE, Oakes D, Greenberg H, et al. Thrombogenic factors and recurrent coronary events. *Circulation* 1999;99:2517-22.
57. Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appelby P, et al. Fibrin D-dimer and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *Circulation* 2001;103:2323-7.
58. Lee AJ, Fowkes GR, Lowe GD, Rumley A. Determinants of fibrin D-dimer in the Edinburgh Artery Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1094-7.
59. Lowe GD, Yarnell JW, Rumley A, Bainton D, Sweetnam PM. C-reactive protein, fibrin D-dimer, and incident ischemic heart disease in the Speedwell study: are inflammation and fibrin turnover linked in pathogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:603-10.
60. Yarnell JW, Sweetnam PM, Rumley A, Lowe GD. Lifestyle factors and coagulation activation markers: the Caerphilly Study. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001;12:721-8.
61. Koenig W, Rothenbacher D, Hoffmeister A, Griesshammer M, Brenner H. Plasma fibrin D-dimer levels and risk of stable coronary artery disease: results of a large case-control study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1701-5.
62. Mills JD, Mansfield MW, Grant PJ. Tissue plasminogen activator, fibrin D-dimer, and insulin resistance in the relatives of patients with premature coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:704-9