

Marcadores biológicos de inflamación y control del tratamiento hipolipemiante

L.M. Blanco-Colio^a, J. Tuñón^b, J.L. Martín-Ventura^a, B. Muñoz-García^a y J. Egido^a

^aLaboratorio de Patología Vascular. Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma de Madrid. Madrid.

^bServicio de Cardiología. Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma de Madrid. Madrid. España.

La formación de la lesión aterosclerótica se caracteriza por una respuesta inflamatoria crónica. En los últimos años, la búsqueda de marcadores biológicos de inflamación relacionados con las enfermedades cardiovasculares ha dado lugar al descubrimiento de varias proteínas que pueden servir como marcadores de riesgo cardiovascular independientes. Con un simple análisis podemos caracterizar el nivel circulante de estos marcadores, así como su posible modulación mediante tratamiento farmacológico. En este trabajo analizaremos los diferentes marcadores de inflamación disponibles en la actualidad, como la proteína C reactiva, el ligando de CD40, moléculas de adhesión y quimiocinas, así como su posible modulación mediante la intervención terapéutica con fármacos hipolipemiantes. Además, en el futuro, las nuevas tecnologías permitirán descubrir nuevos marcadores, o un conjunto de ellos, que podrían indicar el camino hacia la prevención y el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares.

Palabras clave:

Biomarcadores. Estatinas. PCR. CD40L. Moléculas de adhesión. Quimiocinas.

BIOLOGICAL MARKERS OF INFLAMMATION AND MONITORING OF LIPID-LOWERING THERAPY

The formation of atherosclerotic lesions is characterized by a chronic inflammatory response. In the last few years, the search for biological markers of inflammation related to cardiovascular disease has given rise to the discovery of several

proteins that could serve as independent markers of cardiovascular risk. Using a simple analysis, we can characterize the circulating level of these markers of inflammation, as well as their possible modulation through pharmacological treatment. In the present article, we analyze several markers of inflammation such as C-reactive protein, CD40 ligand, adhesion molecules and chemokines, as well as their possible modulation through therapeutic interventions with lipid-lowering drugs. Moreover, in the future, new technologies will allow us to discover new markers, or sets of markers, that could indicate the direction to be taken in the prevention and treatment of cardiovascular disease.

Key words:

Biomarkers. Statins. Polymerase chain reaction. Adhesion molecules. Chemokines.

Introducción

El infarto de miocardio y el ictus son la primera y tercera causa de muerte en los países occidentales. Las placas ateroscleróticas constituyen las lesiones precursoras de eventos futuros. La formación y evolución de las placas es un proceso complejo caracterizado por una respuesta inflamatoria crónica. En la lesión aterosclerótica se ha detectado un gran número de proteínas inflamatorias, fundamentalmente en las zonas de rotura. Todo ello ha conducido en los últimos años a reforzar la idea de encontrar proteínas sanguíneas que permitan reconocer la presencia de placas vulnerables y sirvan como marcadores de riesgo cardiovascular. Desde la década de los noventa se han publicado múltiples estudios en los que se intenta identificar alguna de estas proteínas. De entre todas las candidatas cabe destacar la proteína C reactiva (PCR) por la gran cantidad de estudios realizados sobre ella. Además, hay otros marcadores de riesgo cardiovascular. Este capítulo se centrará en

Correspondencia: Dr. J. Egido.

Laboratorio de Patología Vascular. Fundación Jiménez Díaz. Avda. Reyes Católicos, 2. 28040 Madrid. España.

Correo electrónico: jegido@fjd.es

aquellos sobre los que se dispone de mayores evidencias, ya que no sería posible describir todos los que han sido estudiados en alguna ocasión, por razones de espacio.

Proteína C reactiva

El incremento de las concentraciones sanguíneas de las proteínas de fase aguda, entre ellas la PCR, y su relación con la enfermedad cardiovascular ha sido uno de los hallazgos más significativos de los últimos 10 años. La PCR se produce en el hígado en respuesta al factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), la interleucina 6 (IL-6) y la interleucina 1 β (IL-1 β)¹. Estudios prospectivos han demostrado que el aumento de las concentraciones elevadas de PCR está asociado a un incremento del riesgo cardiovascular en personas aparentemente sanas². En la actualidad se acepta que los pacientes con valores < 1, 1-3 y > 3 mg/l tienen un factor de riesgo cardiovascular bajo, moderado o alto, respectivamente.

Diferentes autores han demostrado que los inhibidores de la hidroximetilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa, o estatinas, pueden disminuir las concentraciones circulantes de PCR. Aunque diversos estudios en grupos reducidos de población habían demostrado que las estatinas disminuían la PCR en sangre, fue el estudio CARE (Cholesterol and Recurrent Events) el primero en observar que, al cabo de 5 años de seguimiento, la pravastatina disminuía significativamente las concentraciones de PCR, en gran medida de manera independiente del colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL)³. Otros estudios han verificado esta reducción tras el tratamiento. Así, en el estudio de prevención primaria AFCAPS/Texas-CAPS (Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study) se observó que el tratamiento durante 1 año con lovastatina disminuyó la concentración de PCR⁴ en un 14,8%. Además, en el estudio MIRACL (Myocardial Ischemia Reduction with Aggressive Cholesterol Lowering), en el que se incluyó a 3.086 pacientes, el tratamiento con atorvastatina (80 mg/día) durante 12 semanas disminuyó la concentración de PCR en un 34%⁵. En este estudio se observó que la reducción de la PCR tras el tratamiento con atorvastatina en los pacientes con concentraciones iniciales de cLDL inferiores a la media era similar al que presentaban los que tenían valores superiores. Es más, el primero de estos grupos tenía valores más elevados de PCR antes del tratamiento, lo que indica una falta de correlación clara entre las concentraciones de lípidos y las de PCR, así como una falta de asociación entre el

efecto de atorvastatina en el descenso de la PCR y de los lípidos. En el estudio PRINCE (PRavastatin INflammation/CRP Evaluation) se examinó el efecto del tratamiento con 40 mg/día de pravastatina en una cohorte de 1.702 pacientes sin historia de enfermedad cardiovascular y 1.182 con antecedentes cardiovasculares, y se observó una reducción de la PCR tras 24 semanas de tratamiento, tanto en pacientes con objetivos lipídicos de prevención primaria como secundaria⁶. Finalmente, en el estudio ARBITER (ARterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol) se comparó el efecto del tratamiento con 80 mg/día de atorvastatina frente a 40 mg/día de pravastatina en 161 pacientes, y se observó que la disminución de la PCR fue mayor en el grupo tratado con atorvastatina⁷.

Estos estudios y otros, como el ATOMIX (ATORvastatin in MIXed dyslipidemia)⁸, han demostrado que el efecto inducido por las estatinas sobre la PCR es independiente de la reducción lipídica producida. El efecto beneficioso de las estatinas en la prevención primaria de los eventos coronarios en sujetos con concentraciones relativamente bajas de lípidos, pero elevadas de PCR, abre la hipótesis de la utilización de las estatinas en pacientes con evidencia de inflamación sistémica, evidenciada por la concentración de PCR, pero sin hiperlipemia manifiesta. En este sentido, están en marcha algunos estudios aleatorizados para dilucidar esta hipótesis.

El sistema CD40/ligando de CD40

En los últimos años se ha reunido una importante información que resalta la importancia del receptor CD40 y de su ligando (CD40L), también conocido como CD154, en el proceso aterosclerótico. En un principio, este sistema fue descrito especialmente en células mediadoras de inmunidad, como los linfocitos T y B. Sin embargo, de manera más reciente se ha demostrado que muchas otras células lo expresan, incluidas las implicadas en la aterosclerosis: las células endoteliales o musculares lisas vasculares (CMLV) y los monocitos⁹. Además, se ha comprobado que la expresión del receptor y de su ligando en lesiones ateroscleróticas humanas se localiza en estas células¹⁰. En estudios *in vitro* se ha observado que CD40-CD40L media la expresión de citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento, metaloproteinasas (MMP) y sustancias procoagulantes, como el factor tisular^{11,12}, todas ellas potencialmente implicadas en la desestabilización de la placa aterosclerótica. De acuerdo con esto, en modelos experimentales de aterosclerosis

se ha observado que el bloqueo de este sistema modifica la composición de las lesiones ateroscleróticas hacia un patrón más estable. Así, el bloqueo de esta vía en ratones transgénicos deficitarios para CD40L modifica la composición de las placas hacia un fenotipo más estable¹³.

Dada la implicación del sistema de CD40/CD40L en la inflamación, también se ha intentado analizar si se puede obtener información pronóstica de su estudio. Así, se ha observado que un aumento de CD40L soluble en plasma predice un mayor riesgo de eventos cardiovasculares en mujeres sanas¹⁴. En pacientes con síndrome coronario agudo (SCA) se ha observado que las plaquetas muestran un incremento de la expresión de CD40L¹⁵. Recientemente se ha publicado un trabajo realizado en pacientes con SCA sin elevación del segmento ST (SCASEST) a los que se iba a realizar una angioplastia (estudio CAPTURE [c7E3 Fab Antiplatelet Therapy in Unstable Refractory Angina]), y ha observado que el valor predictivo de CD40L era independiente de los valores de troponina T ya que, incluso en los pacientes que no tenían este marcador elevado, los valores de CD40L seguían teniendo valor pronóstico¹⁶.

El tratamiento hipolipemiante puede disminuir las concentraciones sanguíneas de CD40L. En pacientes con hipercolesterolemia, el tratamiento durante 8 semanas con atorvastatina fue capaz de reducir la expresión de CD40L en las plaquetas¹⁷. Más aún, en 110 pacientes con hipercolesterolemia familiar incluidos en el estudio ASAP (Atorvastatin versus Simvastatin on Atherosclerotic Progression) se observó que el tratamiento con atorvastatina (80 mg/día) o con simvastatina (40 mg/día) disminuía las concentraciones circulantes de CD40L y que esta disminución era independiente del grado de reducción en la concentración de colesterol¹⁸. En el estudio MIRACL, en el cual se analizaron los niveles de CD40L en 2.352 pacientes con SCA, se observó que el tratamiento con atorvastatina (80 mg/día) durante 16 semanas disminuía la concentración de CD40L y reducía el riesgo de padecer un episodio recurrente en los pacientes que pertenecían al percentil superior (> 90%)¹⁹. Todos estos estudios indican que el tratamiento con estatinas puede disminuir las concentraciones de CD40L, probablemente de una manera independiente de la reducción lipídica. Además, la interferencia con el sistema CD40/CD40L puede ser una parte integral de los efectos antiinflamatorios de las estatinas.

Moléculas de adhesión

Además de la PCR y del CD40L, se han analizado numerosas proteínas implicadas en el proceso

inflamatorio en pacientes con riesgo cardiovascular. Las moléculas de adhesión desempeñan un papel clave en el reclutamiento celular hacia el interior de la pared vascular. La unión de los leucocitos a las moléculas de adhesión de las células endoteliales vasculares es uno de los eventos más tempranos en el proceso aterosclerótico. La expresión de las proteínas de adhesión está incrementada en respuesta a un número importante de citocinas inflamatorias. Estudios morfológicos de lesiones ateromatosas han mostrado un aumento de esas proteínas en la lesión vascular. Entre ellas, las más estudiadas han sido las proteínas VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule-1*), ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule-1*) y las selectinas. Debido a que sus formas solubles pueden aparecer en el plasma, se ha intentado asociar su concentración con el riesgo de presentar eventos cardiovasculares. En sujetos sanos que posteriormente desarrollan un infarto agudo de miocardio se ha observado que las concentraciones circulantes de ICAM-1 son mayores, con independencia de otros factores de riesgo²⁰. Además, en pacientes con dislipemia se ha observado un aumento de las concentraciones circulantes de VCAM-1, ICAM-1 y E-selectina²¹. En el estudio ARIC (Atherosclerosis Risk In Communities), las concentraciones de ICAM-1 predecían episodios coronarios y el desarrollo de aterosclerosis carotídea y, además, había una asociación entre la concentración de esta proteína y la de E-selectina²². El Women's Health Study mostró que la P-selectina era predictora de episodios cardiovasculares en un seguimiento de 3,5 años²³, independientemente de otros factores de riesgo tradicionales, de la obesidad o de la práctica de ejercicio.

En cuanto a las poblaciones con enfermedad coronaria, en el estudio Atherogene se analizó a 1.246 pacientes mediante una coronariografía y con al menos una estenosis > 30%; únicamente se excluyó a los que habían presentado infarto agudo de miocardio en las 48 h previas²⁴. Las concentraciones de E-selectina, ICAM-1 y VCAM-1 eran más elevadas en los pacientes que presentaron episodios cardiovasculares durante un seguimiento medio de 2,7 años, incluso tras corregirlos para los factores de riesgo clásicos, la fracción de eyección, la historia de infarto previo, el número de vasos afectados y los procedimientos de revascularización. De todas las moléculas, la VCAM-1 mantenía la significación estadística en los diferentes subgrupos analizados, incluidas la angina estable e inestable y la enfermedad monovaso y multivaso. Sin embargo, otros estudios han mostrado resultados contradictorios. Así, en el SCASEST, Mulvihill et al²⁵ demostraron

que la VCAM-1, junto con la PCR, era predictiva de futuros episodios cardiovasculares en un seguimiento de 6 meses, mientras que ICAM-1, E-selectina y P-selectina no mostraban ninguna correlación²⁵. Sin embargo, se trataba de un estudio de tan sólo 91 pacientes en el que no corregía para otros factores de riesgo cardiovascular o datos de la historia clínica. Por último, los resultados obtenidos por Malik et al²⁶ en el British Regional Heart Study, un estudio poblacional, son poco alentadores en cuanto al valor pronóstico de las moléculas de adhesión. De los 5.661 varones de estudio, se analizaron muestras de 643 que desarrollaron episodios coronarios agudos y de 1.278 que no los presentaron. Basalmente, tenían evidencia de enfermedad coronaria el 36% de los que tuvieron episodios y el 20% de los que permanecieron estables. Los valores de ICAM-1, VCAM-1, E-selectina y P-selectina no añadieron valor pronóstico al que proporcionaban los factores de riesgo cardiovascular clásicos. Estos datos se confirmaban en un metaanálisis que publicaron en el mismo artículo.

Frente a la general homogeneidad de los estudios sobre la PCR, los datos del efecto del tratamiento hipolipemiante sobre los valores séricos de estas moléculas de adhesión son muy variados. Así, en un grupo de 26 pacientes con hipercolesterolemia se ha demostrado que el tratamiento con fluvastatina (80 mg/día) disminuye las concentraciones de ICAM-1 y de P-selectina²⁷. Además, el tratamiento con 10 mg/día de atorvastatina durante 3 meses provocó una disminución de ICAM-1 y de VCAM-1 en pacientes sin hipercolesterolemia familiar²⁸. Sin embargo, otros estudios no han confirmado estos cambios en las concentraciones circulantes de moléculas de adhesión tras el tratamiento con estatinas. Por ejemplo, Jilma et al²⁹ analizaron los niveles de ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina en 75 pacientes con hipercolesterolemia tratados con 3 estatinas distintas y no observaron cambios en ninguno de ellos²⁹.

Quimiocinas

Entre las quimiocinas conocidas, posiblemente la proteína quimiotáctica para monocitos 1 (MCP-1) sea la más importante en el proceso aterotrombótico. Es expresada más intensamente en las lesiones ateroscleróticas que en el vaso sano y su bloqueo limita el infiltrado linfomonocitario en ratones deficientes para la apo E³⁰. Recientemente se ha analizado su capacidad pronóstica en 2.270 pacientes con SCASEST pertenecientes al estudio OPUS-TIMI 16 y en 279 voluntarios sanos. Las concentraciones de MCP-1 predijeron el riesgo de

muerte o IAM a 10 meses, incluso tras ajustar para la edad los factores de riesgo clásicos, la historia previa de cardiopatía isquémica, el aclaramiento de creatinina, el grado de desviación del segmento ST en el electrocardiograma y los niveles de tropoina I y de PCR³¹. En cuanto al tratamiento con hipolipemiantes se ha observado que, tras 1 mes de tratamiento, la atorvastatina redujo las concentraciones plasmáticas de MCP-1 en pacientes con SCA³². Además, la simvastatina disminuyó las concentraciones de MCP-1 en pacientes con hiperlipidemia³³. Sin embargo, estos resultados han sido obtenidos en estudios con un número limitado de pacientes y deben realizarse estudios amplios de cohortes para confirmarlos.

Entre las diferentes interleucinas conocidas, cabe destacar la interleucina 6 (IL-6), ya que esta citocina es la principal inductora de la síntesis hepática de la PCR. Diferentes trabajos han demostrado su valor predictor. Cabe destacar el estudio prospectivo de cohortes ABC (Health, Aging, and Body Composition Study), en el que se incluyó a 2.225 sujetos con un seguimiento de 3,6 años³⁴. Se trataba de sujetos sin enfermedad vascular o insuficiencia cardíaca de base. Los valores de IL-6 eran predictores de enfermedad coronaria, insuficiencia cardíaca e ictus. Era especialmente interesante que esta capacidad predictiva se mantuviera cuando se restringía el análisis a sujetos sin los factores de riesgo cardiovascular tradicionales. En la misma dirección, en otro estudio se evaluó el valor predictivo de la IL-6 en 620 mujeres seguidas durante 3 años³⁵. Las concentraciones elevadas de esta citocina eran predictoras de una mortalidad total aumentada, incluso tras ajustar para otras enfermedades crónicas y la tolerancia al ejercicio.

Diferentes trabajos han demostrado que el tratamiento con estatinas puede disminuir las concentraciones circulantes de IL-6. Así, Nawawi et al³⁶ han mostrado que la atorvastatina puede reducir la IL-6 en pacientes con o sin hipercolesterolemia. Además, en pacientes con angina inestable, el tratamiento con atorvastatina disminuyó las concentraciones de ICAM-1 tras 30 días de tratamiento³⁷.

Sin embargo, en el estudio The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study³⁸, realizado en 623 pacientes de los que 240 eran tratados con diferentes estatinas, no se observó ninguna reducción de la IL-6 circulante. Es importante resaltar que en este estudio se realizó una comparación cruzada entre pacientes que tomaban o no estatinas (no fue un estudio controlado con placebo) y que inicialmente no fue diseñado con este objetivo, lo que puede dar lugar a interpretaciones erróneas.

Cabe reseñar, en todo caso, que la IL-6 tiene una vida media de unas 4 h mientras que, por ejemplo, la de la PCR está en torno a las 20 h. Además, la IL-6 tiene una mayor variabilidad en sus concentraciones. Por tanto, y a pesar de los datos positivos de los estudios comentados, no cabe esperar, en nuestra opinión, que se confirme como el mejor marcador posible del riesgo de eventos cardiovasculares.

Ligando de Fas

El sistema Fas/ligando de Fas (LFas) es un componente clave en el mantenimiento de la homeostasis celular. Estas proteínas han sido implicadas en activación de la muerte celular o apoptosis y en control de la extravasación de células mononucleares. En situaciones normales, el LFas se expresa en la membrana celular de diferentes tipos celulares, incluidas las células endoteliales. La expresión constitutiva de LFas por células endoteliales debe ejercer una función ateroprotectora a través de su habilidad para inducir apoptosis en células inflamatorias que intentan invadir la pared vascular en ausencia de estímulos proinflamatorios. Sin embargo, en condiciones inflamatorias, las células endoteliales dejan de expresar LFas, lo que permite el anclaje de células infiltrantes y su posterior extravasación al interior de la lesión vascular. Una característica de esta proteína es que puede ser convertida en forma soluble por la acción de una metaloproteinasas. Así, el LFas secretado por las células endoteliales debe formar parte de las concentraciones circulantes de LFas soluble (sLFas) observadas en situaciones normales. En un estudio, llevado a cabo por nuestro grupo, hemos observado que los niveles plasmáticos de sLFas de un grupo de 58 pacientes con hiperlipidemia familiar combinada estaban disminuidos cuando se comparaban con los de sujetos sanos. Además, cuando estos pacientes eran tratados con atorvastatina durante 1 año, la concentración de sLFas se normalizaba. Estos resultados indican que esta proteína podría ser un nuevo marcador de disfunción endotelial³⁹. Sin embargo, se necesitan nuevos estudios con un amplio número de pacientes para confirmar que sLFas puede ser un marcador de la lesión cardiovascular.

Conclusiones y futuras perspectivas

En la actualidad se dispone de varios marcadores inflamatorios cuyas concentraciones se han relacionado con el riesgo de sufrir un episodio cardiovascular futuro. El tratamiento hipolipemiente con estatinas es capaz de regular las concentraciones de

estos marcadores. En particular, cabe destacar a 2 de ellos, que han demostrado ser independientes de los factores de riesgo cardiovascular clásicos. Tanto la PCR como el CD40L han demostrado ser marcadores independientes que, además, son modulados mediante tratamiento hipolipemiente. No obstante, cabe reseñar que, en nuestra opinión, lo mejor está por venir. El empleo de las nuevas técnicas de análisis proteómico permitirá estudiar a la vez las variaciones de múltiples proteínas en sangre, y no sólo de unas pocas en cada caso. Esta aproximación nos dará la oportunidad de explorar más rápidamente posibles marcadores de riesgo y conocer cuáles son los mejores. Los marcadores deberán caracterizarse por tener un papel significativo en la patogenia de la aterotrombosis, una escasa variabilidad en sus concentraciones y poder estudiarse con métodos estandarizados que no impliquen un excesivo coste en tiempo y dinero. Por otra parte, el empleo de nuevos marcadores probablemente permita controlar diferentes tratamientos en distintos sujetos y adecuarlos a las características individuales de cada uno. Además, no hay por qué pensar en el empleo de un solo marcador. Es posible que el uso de varios de ellos, que idealmente nos proporcionen información sobre distintos niveles de la patogenia de la aterotrombosis, será más rentable desde el punto de vista pronóstico. La utilización de multimarcadores podría darnos las claves del camino hacia la prevención cardiovascular.

Bibliografía

1. Mortensen RF. C-reactive protein, inflammation, and innate immunity. *Immunol Res*. 2001;24:163-76.
2. 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.
3. 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. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation*. 1998;98:839-44.
4. Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, et al. Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. *N Engl J Med*. 2001;344:1959-65.
5. Schwartz GG, Olsson AG, Ezekowitz MD, Ganz P, Oliver MF, Waters D, et al. Effects of atorvastatin on early recurrent ischemic events in acute coronary syndromes. The MIRACL Study: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2001;285:1711-8.
6. Albert MA, Danielson E, Rifai N, Ridker PM. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: the Pravastatin Inflammation/CRP Evaluation (PRINCE). A randomized trial and cohort study. *JAMA*. 2001;286:64-70.
7. Taylor AJ, Kent SM, Flaherty PJ, Coyle LC, Markwood TT, Vernalis MN. ARBITER: arterial biology for the investigation of the treatment effects of reducing cholesterol. A randomized trial comparing the effects of atorvastatin and pravastatin on carotid intima medial thickness. *Circulation*. 2002;106:2055-60.
8. Gómez-Gerique JA, Ros E, Oliván J, et al. Effect of atorvastatin and bezafibrate on plasma levels of C-reactive protein in combined (mixed) hyperlipidemia. *Atherosclerosis*. 2002;162:245-51.

9. Mach F, Schonbeck U, Sukhova GK, Bourcier T, Bonnefoy JY, Pober JS, 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 USA*. 1997;94:1931-6.
10. Schonbeck U, Libby P. CD40 signaling and plaque instability. *Circ Res*. 2001;89:1092-103.
11. Bavendiek U, Libby P, Kilbride M, Reynolds R, Mackman N, Schonbeck U. Induction of tissue factor expression in human endothelial cells by CD40 ligand is mediated via activator protein 1, nuclear factor kappa B, and Egr-1. *J Biol Chem*. 2002;277:25032-9.
12. Lindmark E, Tenno T, Siegbahn A. Role of platelet P-selectin and CD40 ligand in the induction of monocytic tissue factor expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:2322-8.
13. Lutgens E, Gorelik L, Daemen MJ, De Muinck ED, Grewal IS, Kotliansky VE, et al. Requirement for CD154 in the progression of atherosclerosis. *Nat Med*. 1999;5:1313-6.
14. Schonbeck U, Varo N, Libby P, Buring J, Ridker PM. Soluble CD40L and cardiovascular risk in women. *Circulation*. 2001;104:2266-8.
15. Garlisch CD, Eskafi S, Raaz D, Schmidt A, Ludwig J, Herrmann M, et al. Patients with acute coronary syndromes express enhanced CD40 ligand/CD154 on platelets. *Heart*. 2001;86:649-55.
16. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, Van den Brand MJ, Boersma E, Zeiher AM, et al. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2003;348:1104-11.
17. Hwang YS, Tsai WC, Lu YH, Lin CC, Chen YF. Effect of atorvastatin on the expression of CD40L and P-selectin in patients with hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*. 2004;94:364-6.
18. Semb AG, Van Wissen S, Ueland T, Smilde T, Waehre T, Tripp MD, et al. Raised serum levels of soluble CD40 ligand in patients with familial hypercholesterolemia: downregulatory effect of statin therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41:275-9.
19. Kinlay S, Schwartz GG, Olsson AG, Rifai N, Sasiela WJ, Szarek M, et al. Effect of atorvastatin on risk of recurrent cardiovascular events after an acute coronary syndrome associated with high soluble CD40 ligand in the myocardial ischemia reduction with aggressive cholesterol lowering (MIRACL) study. *Circulation*. 2004;110:386-91.
20. 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;351:88-92.
21. Hackman A, Abe Y, Insull W Jr, Pownall H, Smith L, Dunn K, et al. Levels of soluble cell adhesion molecules in patients with dyslipidemia. *Circulation*. 1996;93:1334-8.
22. Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, Smith LC, Davis CE, Gotto AM Jr, 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;96:4219-25.
23. Ridker PM, Buring JE, Rifai N. Soluble P-selectin and the risk of future cardiovascular events. *Circulation*. 2001;103:491-5.
24. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Peetz D, Hafner G, Tiret L, et al. Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2001;104:1336-42.
25. Mulvihill NT, Foley JB, Murphy RT, Curtin R, Crean PA, Walsh M. Risk stratification in unstable angina and non-Q wave myocardial infarction using soluble cell adhesion molecules. *Heart*. 2001;85:623-7.
26. Malik I, Danesh J, Whincup P, Bhatia V, Papacosta O, Walker M, et al. Soluble adhesion molecules and prediction of coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. *Lancet*. 2001;358:971-6.
27. Romano M, Mezzetti A, Marulli C, Ciabattini G, Febo F, Di Ienno S, et al. Fluvastatin reduces soluble P-selectin and ICAM-1 levels in hypercholesterolemic patients: role of nitric oxide. *J Investing Med*. 2000;48:183-9.
28. Nawawi H, Osman NS, Yusoff K, Khalid BA. Reduction in serum levels of adhesion molecules, interleukin-6 and C-reactive protein following short-term low-dose atorvastatin treatment in patients with non-familial hypercholesterolemia. *Horm Metab Res*. 2003;35:479-85.
29. Jilma B, Joukhadar C, Derhaschnig U, Rassoul F, Richter V, Wolzt M, et al. Levels of adhesion molecules do not decrease after 3 months of statin therapy in moderate hypercholesterolaemia. *Clin Sci*. 2003;104:189-93.
30. Inoue S, Egashira K, Ni W, Kitamoto S, Usui M, Otani K, et al. Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy limits progression and destabilization of established atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation*. 2002;106:2700-6.
31. De Lemos JA, Morrow DA, Sabatine MS, Murphy SA, Gibson CM, Antman EM, et al. Association between plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1 and long-term clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 2003;107:690-5.
32. Xu ZM, Zhao SP, Li QZ, Nie S, Zhou HN. Atorvastatin reduces plasma MCP-1 in patients with acute coronary syndrome. *Clin Chim Acta*. 2003;338:17-24.
33. Rezaie-Majd A, Maca T, Bucek RA, Valent P, Muller MR, Husslein P, et al. Simvastatin reduces expression of cytokines interleukin-6, interleukin-8, and monocyte chemoattractant protein-1 in circulating monocytes from hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:1194-9.
34. Cesari M, Penninx BW, Newman AB, Kritchevsky SB, Nicklas BJ, Sutton-Tyrrell K, et al. Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the Health ABC study. *Circulation*. 2003;108:2317-22.
35. Volpato S, Guralnik JM, Ferrucci L, Balfour J, Chaves P, Fried LP, et al. Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: the Women's Health and Aging Study. *Circulation*. 2001;103:947-53.
36. Nawawi H, Osman NS, Annur R, Khalid BA, Yusoff K. Soluble intercellular adhesion molecule-1 and interleukin-6 levels reflect endothelial dysfunction in patients with primary hypercholesterolemia treated with atorvastatin. *Atherosclerosis*. 2003;169:283-91.
37. Tziakas DN, Chalikias GK, Parissis JT, Hatzinikolaou EI, Papadopoulos ED, Tripsiannis GA, et al. Serum profiles of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitor in patients with acute coronary syndromes. The effects of short-term atorvastatin administration. *Int J Cardiol*. 2004;94:269-77.
38. Marz W, Winkler K, Nauck M, Bohm BO, Winkelmann BR. Effects of statins on C-reactive protein and interleukin-6 (the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study). *Am J Cardiol*. 2003;92:305-8.
39. Blanco-Colio LM, Martín-Ventura JL, Sol JM, Díaz C, Hernández G, Egido J. Decreased circulating Fas ligand in patients with familial combined hyperlipidemia or carotid atherosclerosis: normalization by atorvastatin. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43:1188-94.