

Infección, inflamación y enfermedad vascular aterosclerótica

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

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

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

Recibido: 18 /10/ 2009

Aceptado:28 /11/2009

28

Resumen

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

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

Abstract

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

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

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

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

Patogenia de la aterosclerosis

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Chlamydia pneumoniae y riesgo de aterosclerosis

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

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

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

Estructura antigénica

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

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

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

Estudios Epidemiológicos

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

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

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

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

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

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

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

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

***Helicobacter pylori* y riesgo de aterosclerosis**

El *Helicobacter pylori*⁴⁹ es un bacilo espirilar Gram negativo⁵⁰ que posee gran movilidad, caracterizado por la producción masiva de ureasa. Su localización anatómica en el ser humano es casi exclusivamente en la mucosa gástrica, por debajo del moco protector gástrico ya que no puede proliferar al pH del estómago sino a un pH de 6 a 7. En la luz estomacal el pH es de aproximadamente 1-2, mientras que el microambiente por debajo de la capa mucosa es de 7,4. Dentro de este ambiente alcalino el *Helicobacter pylori* produce amonio a través de su ureasa que le permite amortiguar el ácido y sintetiza ciertas proteasas que impiden que este difunda hacia el moco, para luego refugiarse en las células gástricas produciendo daño mecánico y químico, por lo que se asocia con la aparición del cáncer gástrico y enfermedad ulceropéptica, especialmente en gastritis antral y úlcera duodenal^{50,51}.

Estudios Epidemiológicos

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

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

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

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

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

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

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

Cytomegalovirus (CMV) y Enfermedad Cardiovascular

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

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

Aterosclerosis e Infección: Bases Inmunomoleculares

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

Lipopolisacárido clamidial

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

Efectos locales

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

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

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

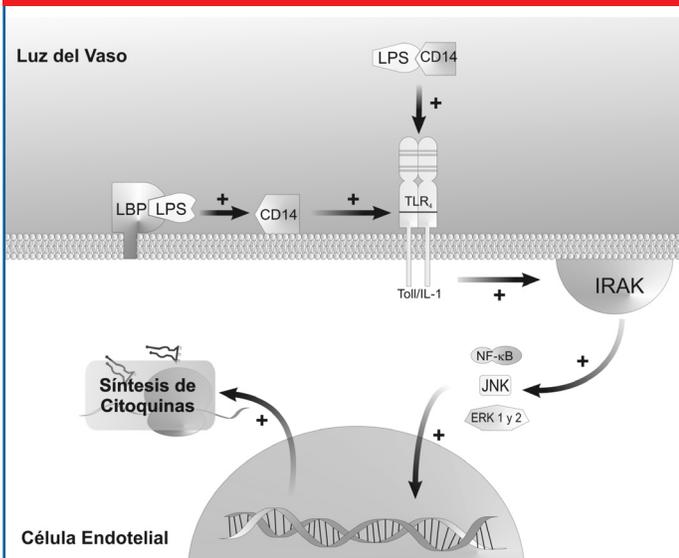
Vías moleculares

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

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

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

Figura 1

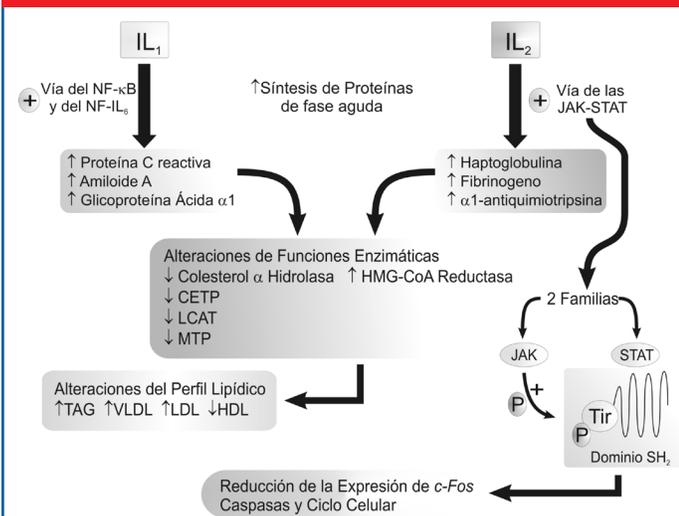


Efectos de la infección por *Chlamydia pneumoniae* a nivel de la célula endotelial. Mecanismo molecular. LPS: Lipopolisacárido clamidial; LBP: proteína de unión a lipopolisacárido/proteína transferidora de lípidos; TLR₄: receptor tipo Toll₄; IRAK: cinasa asociada al receptor de IL-1; NF-κB: factor nuclear κB; JNK: cinasa c-Jun N-Terminal; ERK: cinasa reguladora de señal extracelular. Ver explicación en el texto.

Efectos a distancia

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

Figura 2



Efectos a distancia de la infección por *Chlamydia pneumoniae*. NF - κB: factor nuclear κB; NF-IL₆: factor nuclear interleucina₆; JAK: cinasa Janus; STAT: traductor de señal y activador de transcripción; CETP: proteína transferidora de ésteres de colesterol; LCAT: lecitina colesterol acil-transferasa; MTP: proteína transferidora de TAG. Ver explicación en el texto.

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

Infección crónica (latente)

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

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

Proteínas de Choque Térmico

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

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

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

Metaloproteinasas

Las metaloproteinasas (MMP) son un grupo de 17 polipéptidos que contienen zinc en su estructura encargadas del remodelamiento tisular y actividad proteolítica durante la inflamación. Las MMP se clasifican en colagenasas, gelatinasas, estromelinasas y matrilisina. El macrófago es capaz de secretar una colagenasa intersticial (MMP1), una gelatinasa de 72 kDa (MMP2) y otra de 92 kDa (MMP9), estromelinasa (MPP3) y matrilisina (MMP7). Se ha demostrado que la infección por *Chlamydia pneumoniae* en macrófagos aumenta tanto la síntesis como la expresión de MMP9. Vehmaan-Kreula y colaboradores⁹² en el 2001 realizaron estudios titulares con macrófagos determinando que luego de incubarlos por 1,5 horas con la bacteria, observaron un incremento selectivo de la expresión de esta MMP. El equipo propone que el mecanismo inductor se debe a la activación del factor de transcripción NF- κ B⁹¹, quien tiene sitios de unión en el sitio promotor del gen para MMP9, gracias a la acción de la HSP60 clamidial y al Omp2, quienes son capaces de regular en alta la síntesis de ésta enzima. La importancia de este hallazgo se adjudica a que placas infectadas poseen una mayor cantidad de macrófagos invadidos por las partículas infectantes que incrementan la producción de estas MMP capaces de producir disrupción y desestabilización de la placa vulnerable⁹³, ya que la capa fibrosa se adelgaza y es más fácil su ruptura y la precipitación de un fenómeno trombótico.

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

Conclusiones

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

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

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

Referencias

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

- 2 Anderson J, Carlquist J, Muhlestein J, Horne B, Elmer S. Evaluation of C-reactive protein, and inflammatory marker, and infectious serology as risk factors for coronary artery disease and myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1998; 32(1):35-41.
- 3 Fong I. Emerging relations between infectious diseases and coronary artery disease and atherosclerosis. *CMAJ.* 2000; 163(1):49-56.
- 4 Falk E. Pathogenesis of Atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006; 47: C7- C12.
- 5 Ghazalpour A, Doss S, Yang X, Aten J, Toomey E, Van Nas A, Wang S, Drake T, Lusis A. Thematic review series: The Pathogenesis of Atherosclerosis. Toward a biological network for atherosclerosis. *J. Lipid Res.* 2004; 45:1793-1805.
- 6 Ross R. Atherosclerosis: a problem of the biology of arterial wall cells and their interactions with blood component. *Arteriosclerosis* 1981; 1:293-311.
- 7 Nageswara R, Vendrov M, Runge M. Oxidative Stress and Vascular Disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25: 29-38.
- 8 McMillan DE. Blood flow and the localization of atherosclerotic plaques. *Stroke.* 1985;16: 582-587.
- 9 Jonasson L, Holm J, Skalli O, Bondjers G, Hansson G. Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis.* 1986; 6:131-138.
- 10 Van der Wal AC, Das PK, Bentz van de Berg, van der Loos CM, Becker AE. Atherosclerotic lesions in human: in situ immunophenotypic analysis suggesting an immune mediated response. *Lab. Invest.* 1989; 61:166-170.
- 11 Stocker R., Keaney J. Role of Oxidative Modifications in Atherosclerosis. *Physiol. Rev.* 2004; 84:1381-1478.
- 12 Leonard EJ, Yoshimura T. Human monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1). *Immunol Today.* 1990; 11: 97-101.
- 13 Quinn MT, Parthasarathy S, Fong LG, Steinberg D. Oxidatively modified low density lipoprotein: a potential role in recruitment and retention of monocyte/macrophages during atherogenesis. *PNAS.* 1987; 84:2995-2998.
- 14 Rajavashisth TB, Andalibi A, Territo MC, Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Lusis AJ. Induction of endothelial cell expression of granulocyte and macrophage colony-stimulating factors by modified low-density lipoproteins. *Nature.* 1990; 344: 254-247.
- 15 De Caterina R, Basta G, Lazzarini G, Dell'Omo G, Pertrucci R, Morale M, Carmassi F, Pedrinelli R. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 as a biohumoral correlate of atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997; 17: 2646-2654.
- 16 Hwang S-J, Ballantyne CM, Sharrett AR, Smith LC, Davis CE, Gotto AM Jr, Boerwinkle E. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation.* 1997; 96:4219-25.
- 17 Ylä-Herttua S, Palinski W, Rosenfeld ME, Parthasarathy S, Carew TE, Butler S, Witztum JL, Steinberg D. Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J. Clin. Invest.* 1989; 84(4): 1086-1095.
- 18 Han J, Hajjar DP, Nicholson AC, Febbraio M. Native and modified low density lipoproteins increase the functional expression of the macrophage class B scavenger receptor, CD36. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 21654-21659.
- 19 Smith RE, Hogaboam CM, Strieter RM, Lukacs NW, Kunkel SL. Cell-to-cell and cell-to-matrix interactions mediate chemokine expression: an important component of the inflammatory lesion. *J. Leukoc. Biol.* 1997; 62: 612-619.
- 20 Qiao JH, Tripathi J, Mishra NK, Cai Y, Tripathi S, Wang XP, Imes S, Fishbein MC, Clinton SK, Libby P, Lusis AJ, Rajavashisth TB. Role of macrophage colony-stimulating factor in atherosclerosis: studies of osteopetrotic mice. *Am J. Pathol.* 1997; 150:1687-99.
- 21 Folcik VA, Aamir R, Cathcart MK. Cytokine modulation of LDL oxidation by activated human monocytes. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997; 17:1954-1961.
- 22 Morel DW, Hessler JR, Chisholm GM. Low density lipoprotein cytotoxicity induced by free radical peroxidation of lipid. *J. Lipid Res.* 1983; 24: 1070-1076.
- 23 Hansson G. Immune Mechanisms in Atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001; 21:1876-1890.
- 24 Stemme S, Faber B, Holm J, Wiklund O, Witztum JL, Hansson GK. T lymphocytes from human atherosclerotic plaques recognize oxidized low density lipoprotein. *PNAS.* 1995; 92: 3893-3897.
- 25 Babaev VR, Bobryshev YV, Stenina OV, Tararak EM, Gabbiani G. Heterogeneity of smooth muscle cells in atheromatous plaque of human aorta. *Am. J. Pathol.* 1990; 136(5): 1031-42.
- 26 Boman, J. and Hammerschlag, M. Chlamydia pneumoniae and Atherosclerosis: Critical Assessment of Diagnostic Methods and Relevance to Treatment Studies. *Clinical Microbiology Reviews.* 2002;15(1):1-20.
- 27 Jones R, Batteiger B. Chlamydial Disease: Introduction to Chlamydial Diseases. En Mandell. *Principles and practice of Infectious Diseases.* 2000; 5:1986-1988.
- 28 Üstünsoy H, Sivriköz C, Sirmatel F, Bakir K, Burma O, Kazaz H. Is Chlamydia Pneumoniae a Risk Factor for Peripheral Atherosclerosis? *Asian. Cardiovasc. Thorac. Ann.* 2007; 15: 9-13.
- 29 Camm A, Fox K. Chlamydia pneumonia (and other infective agents) in atherosclerosis and acute coronary syndromes How good is the evidence? *European Heart Journal.* 2000; 21:1046-1051.
- 30 Miyairi I, Tatireddigari V, Mahdi O, Rose L, Belland R, Lu L, Williams R, Byrne G. The p47 GTPases ligp2 and Irgb10 Regulate Innate Immunity and Inflammation to Murine Chlamydia psittaci Infection. *J. Immunol.* 2007; 179: 1814-824.
- 31 Grayston J-t, Kuo C-C, Wang S-P, Altman J. A new Chlamydia psittaci strain TWAR, isolated in acute respiratory tract infection. *NEJM.* 1986; 315:161-168.
- 32 Roitt I, Brostoff J, Male D. *Inmunología.* Editorial Harcourt Brace, 4ta Edición. Barcelona España.1997, pp17.1-17.11.
- 33 Pérez Melgosa M, Kuo C-C, Campbell L-A. Outer membrane complex proteins of Chlamydia pneumoniae. *FEMS. Microbiol. Lett.* 1993; 112:199-204.
- 34 Saikku P. Epidemiology of Chlamydia pneumoniae in atherosclerosis. *Am. Heart. J.* 1999; 138(5 Pt 2):S500-503.
- 35 Grayston J-T Aldous M-B, Easton A. Evidence that Chlamydia pneumoniae causes Pneumonia and bronchitis: *J. Infect. Dis.* 1993; 169:1231-1235.
- 36 Grayston J-T. Infection caused by Chlamydia pneumoniae strain TWAR. *Clin. Infect. Dis.* 1992; 15:757-763.
- 37 Marrie TJ, Harczy M, Mann OE, Landymore RW, Raza A, Wang SP, Grayston JT. Culture-negative endocarditis probably due to Chlamydia pneumoniae. *J. Infect. Dis.* 1990; 161:127-129.
- 38 Erntell M, Ljunggren K, Gadd T, Persson K. Erythema nodosum- a manifestation of Chlamydia pneumoniae (strain TWAR) infection. *Scand. J.Infect. Dis.* 1989;21:693-696.
- 39 Haidi S, Ivarsson S, Bjerre I, Persson K. Guillan-Barre Syndrome after Chlamydia pneumoniae infection. *NEJM.* 1992; 326:576-577.
- 40 Saikku P. Chlamydia pneumoniae in atherosclerosis. *J. Intern. Med.* 2000;247(3):391-396.
- 41 Saikku P, Leinonen M, Mattila K, Ekman MR, Nieminen MS, Mäkelä PH, Huttunen JK, Valtonen V. Serological evidence of an association of a novel Chlamydia TWAR with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet.* 1988;ii:936-946.
- 42 Saikku P. Epidemiologic association of Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis: the initial serologic observation and more. *J. Infect. Dis.* 2000; 181 Suppl. 3:S411-413.
- 43 Danesh J, Collins R, Petro R. Chronic infections and coronary heart disease: Is there a link? *Lancet.* 1997; 350:430-6.
- 44 Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, Wong Y, Bernardes-Silva M, Ward M. Chlamydia pneumoniae IgG titres and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *BMJ.* 2000; 321(7255):208-213.
- 45 Hoffmeister A, Rothenbacher D, Bode G, Persson K, März W, Nauck MA, Brenner H, Hombach V, Koenig W. Current infection with Helicobacter pylori, but not seropositivity to Chlamydia pneumoniae or cytomegalovirus, is associated with an atherogenic, modified lipid profile. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21:427-432.
- 46 Mosorin M, Surcel HM, Laurila A, Lehtinen M, Karttunen R, Juvonen J, Paavonen J, Morrison RP, Saikku P, Juvonen T. Detection of the Chlamydia pneumoniae-reactive T lymphocytes in human atherosclerotic plaques of carotid artery. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* 2000; 20(4):1061-1067.
- 47 Smieja M, Mahony J, Petrich A, Boman J, Chernesky M. Association of circulating Chlamydia pneumoniae DNA with cardiovascular disease: a systemic review. *BMC. Infectious Diseases.* 2002; 2:21.
- 48 Airene S, Surcel HM, Tuukkanen J, Leinonen M, Saikku P. Chlamydia pneumoniae inhibits apoptosis in human epithelial and monocyte cell lines. *Scand. J. Immunol.* 2002;55(4):390-8.
- 49 Kusters J, Van Vliet A, Kuipers E. Pathogenesis of Helicobacter pylori Infection. *Clinical Microbiology Reviews.* 2006;19(3):449-490.

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