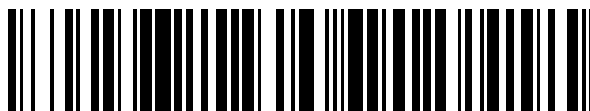


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 374 621**

51 Int. Cl.:
A61K 31/195 (2006.01)
A61K 31/57 (2006.01)
A61K 31/58 (2006.01)
A61K 31/405 (2006.01)
A61K 31/135 (2006.01)
A61K 31/60 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04010424 .2**
96 Fecha de presentación: **02.04.1998**
97 Número de publicación de la solicitud: **1493439**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **05.01.2005**

54 Título: **MEDIOS PARA EVALUAR EL PERFIL DE RIESGO DE UN INDIVIDUO DE SUFRIR UNA ENFERMEDAD ATEROESCLERÓTICA.**

30 Prioridad:
02.04.1997 US 43039 P
02.04.1997 US 41950 P
09.01.1998 US 70894 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
20.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
20.02.2012

73 Titular/es:
THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC.
75 FRANCIS STREET
BOSTON, MA 02115, US

72 Inventor/es:
Ridker, Paul y
Hennekens, Charles H.

74 Agente: **Lehmann Novo, Isabel**

ES 2 374 621 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Medios para evaluar el perfil de riesgo de un individuo de sufrir una enfermedad aterosclerótica

5 Campo de la invención

Esta invención describe el nuevo uso de una prueba diagnóstica para determinar el riesgo de enfermedades ateroscleróticas como infarto de miocardio y accidente cerebrovascular, particularmente entre individuos sin signos ni síntomas de enfermedad en curso y entre no fumadores. Además, esta invención describe el nuevo uso de una prueba diagnóstica para ayudar a los médicos a determinar cuáles individuos que están en riesgo se beneficiarán preferencialmente de ciertos tratamientos diseñados para prevenir un primer infarto de miocardio o accidente cerebrovascular o infartos de miocardio y accidentes cerebrovasculares recurrentes, o para tratar trastornos cardiovasculares agudos y crónicos.

15 Antecedentes de la invención

A pesar del significativo asesoramiento en el tratamiento, la enfermedad cardiovascular sigue siendo la causa individual más común de morbimortalidad en el mundo desarrollado. Por lo tanto, la prevención de trastornos cardiovasculares como el infarto de miocardio y el accidente cerebrovascular es un área de la salud pública de fundamental importancia. En la actualidad, se han descrito varios factores de riesgo para futuros trastornos cardiovasculares y tienen un amplio uso clínico en la detección de individuos en alto riesgo. Dichas pruebas de detección sistemática incluyen evaluaciones de los niveles de colesterol HDL y total. Sin embargo, un gran número de trastornos cardiovasculares se producen en individuos con perfiles de riesgo aparentemente bajos a moderados, y nuestra capacidad para identificar dichos pacientes es limitada. Por otra parte, los datos acumulados sugieren que los efectos beneficiosos de ciertos tratamientos preventivos y terapéuticos para los pacientes en riesgo de sufrir, o que se sabe que tienen, trastornos cardiovasculares, difieren en magnitud entre los diferentes grupos de pacientes. En este momento, sin embargo, se carece de datos que describan pruebas diagnósticas para determinar si se puede esperar que ciertos tratamientos sean más o menos efectivos.

30 Ciertos trastornos cardiovasculares, como el infarto de miocardio y el accidente cerebrovascular isquémico se asocian con aterosclerosis. El mecanismo de la aterosclerosis no se comprende bien. Si bien existe la hipótesis de que la inflamación desempeña un papel en la iniciación y el empeoramiento de la aterosclerosis, los datos clínicos no establecen si la inflamación aumenta, o los tratamientos antiinflamatorios disminuyen, el riesgo de trastornos cardiovasculares asociados con aterosclerosis.

35 La proteína C reactiva es un marcador de inflamación sistémica subyacente. Se han descrito niveles elevados de proteína C reactiva entre pacientes con infarto de miocardio o isquemia aguda y se han pronosticado episodios de isquemia recurrente entre los pacientes hospitalizados con angina inestable. Además, la concentración plasmática de proteína C reactiva se asocia con el riesgo de infarto de miocardio entre pacientes que no están sanos, como los que padecen angina pectoris sintomática. La concentración plasmática de proteína C reactiva también se asocia con coronariopatía mortal, pero no con la no mortal, entre fumadores con múltiples factores de riesgo de aterosclerosis. Sin embargo, puesto que los niveles de proteína C reactiva aumentan luego de la isquemia aguda y están directamente relacionados con el consumo de cigarrillos, no se sabe con seguridad si las asociaciones estadísticas observadas en esos estudios previos de poblaciones de alto riesgo o con enfermedad aguda, son casuales, se deben a cambios inflamatorios de corto plazo o se deben a interrelaciones con otros factores de riesgo, en particular, el hábito de fumar y la hiperlipidemia.

Resumen de la invención

50 Esta invención describe nuevas pruebas diagnósticas que determinan y utilizan la magnitud de la inflamación sistémica. Estas nuevas pruebas incluyen en líneas generales (1) la predicción del riesgo de trastornos ateroscleróticos futuros como infarto de miocardio, accidente cerebrovascular y enfermedad arterial periférica; y (2) la determinación de la probabilidad de que ciertos individuos se beneficien en mayor o menor medida del uso de ciertos tratamientos diseñados para prevenir y/o tratar trastornos ateroscleróticos. Estas nuevas pruebas se basan en parte en los descubrimientos siguientes.

60 Se descubrió que niveles elevados de marcadores de inflamación sistémica son predictivos de trastornos cardiovasculares futuros. Por ejemplo, niveles elevados de marcadores de inflamación sistémica en no fumadores aparentemente sanos, son predictivos de un mayor riesgo de infarto de miocardio. Como otro ejemplo, contrario a las sugerencias del estado anterior de la técnica, niveles elevados de marcadores de inflamación sistémica en fumadores por lo demás sanos, son predictivos de un mayor riesgo de infarto de miocardio no mortal. Aún como otro ejemplo, niveles elevados de marcadores de inflamación sistémica son predictivos de una mayor probabilidad de un accidente cerebrovascular futuro.

Se descubrió también que la probabilidad de que ciertos individuos se beneficien en mayor o menor medida del uso de ciertos agentes terapéuticos para reducir el riesgo de un trastorno cardiovascular futuro, se puede determinar a partir del nivel basal de inflamación sistémica en un individuo.

5 Se descubrió también que el valor predictivo de los marcadores de inflamación sistémica es independiente del de otros predictores y, por ejemplo, se suma al de los factores de riesgo derivados de los niveles de colesterol total y de las relaciones colesterol/HDL. Por consiguiente, el nivel de los marcadores de inflamación sistémica no duplica simplemente el riesgo que se mide cuando se miden los niveles de colesterol.

10 Como se mencionó antes, estos descubrimientos condujeron a nuevas pruebas diagnósticas.

Por lo tanto, de acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona un método para evaluar la probabilidad de que un individuo no fumador, aparentemente sano, se beneficie del tratamiento con un agente para reducir el riesgo de un trastorno cardiovascular asociado con una enfermedad aterosclerótica. El agente se puede seleccionar del grupo que consiste en antiinflamatorios y antiplaquetarios. Para practicar el método, se obtiene un nivel de proteína C reactiva de una muestra de sangre extraída del individuo. Este nivel en comparación con un valor de 1.75 mg/l de sangre es indicativo de la probabilidad de que el individuo se beneficie del tratamiento con el agente. Después el individuo se puede caracterizar en términos de beneficio neto probable a ser obtenido mediante tratamiento con el agente. Otro valor es de aproximadamente 2 mg/l de sangre.

20 Como se mencionó antes, la invención se adapta particularmente para determinar cuáles individuos se beneficiarán preferencialmente del tratamiento con un agente para reducir el riesgo en dichos individuos de un trastorno cardiovascular como un accidente cerebrovascular futuro o un infarto de miocardio futuro, inclusive infartos de miocardio no mortales. También permite la selección de poblaciones de aspirantes a ensayos clínicos y para el tratamiento con sustancias con potencial terapéutico, mediante identificación, por ejemplo, de los individuos que más probablemente se beneficiarán con un nuevo tratamiento o con un tratamiento conocido con un perfil de alto riesgo de efectos secundarios adversos. Por lo tanto, la invención proporciona información para evaluar el beneficio neto probable de ciertos tratamientos para pacientes aspirantes.

30 De acuerdo con otro aspecto de la invención, se proporciona un método para caracterizar el perfil de riesgo de un individuo no fumador aparentemente sano, de sufrir un trastorno cardiovascular asociado con una enfermedad aterosclerótica. El método implica obtener un nivel de proteína C reactiva en una muestra de sangre extraída del individuo, y después caracterizar el perfil de riesgo del individuo de sufrir un trastorno cardiovascular asociado con una enfermedad aterosclerótica, basándose en dicho nivel de proteína C reactiva en comparación con un valor de 1.75 mg/l de sangre. En una realización importante, el trastorno cardiovascular es accidente cerebrovascular. En otra realización importante, el trastorno cardiovascular es infarto de miocardio no mortal. En otra realización importante, el trastorno cardiovascular es enfermedad arterial periférica.

40 Se puede usar la proteína C reactiva junto con una fracción del colesterol para caracterizar el perfil de riesgo de un individuo de sufrir un trastorno cardiovascular futuro asociado con una enfermedad aterosclerótica.

45 Se pueden proporcionar juegos que comprenden un envase que incluye un ensayo para determinar proteína C reactiva e instrucciones, y opcionalmente, materiales relacionados como cartillas de números o colores, para correlacionar el nivel de proteína C reactiva determinado por el ensayo, con el riesgo de sufrir un trastorno cardiovascular futuro, o con otros criterios del paciente según se describió antes. En realizaciones importantes, los juegos también incluyen un ensayo para determinar colesterol.

50 Esos y otros aspectos de la invención se describirán más detalladamente a continuación en relación con la descripción detallada de la invención. Los aspectos preferidos de la invención también se describen en las reivindicaciones 3 a 5 adjuntas.

Breve descripción de las figuras

55 La figura 1 es un gráfico que demuestra el riesgo relativo de un primer infarto de miocardio en la población del estudio de acuerdo con el nivel inicial de proteína C reactiva. Se muestran los datos para todos los sujetos del estudio y/o para no fumadores.

La figura 2 es un gráfico que demuestra los riesgos relativos de un infarto de miocardio futuro asociados con terciles alto, bajo y medio de colesterol total y proteína C reactiva.

60 La figura 3 es un gráfico que demuestra los riesgos relativos de infarto de miocardio futuro asociados con terciles alto, bajo y medio de la relación colesterol total:HDL y proteína C reactiva.

La figura 4 es un gráfico que demuestra los riesgos relativos (y un intervalo de confianza de 95%) de un primer infarto de miocardio asociados con cada cuartil creciente del nivel inicial de proteína C reactiva de acuerdo con el año de seguimiento del estudio.

La figura 5 es un gráfico que demuestra los riesgos relativos de un primer infarto de miocardio asociados con

niveles iniciales de proteína C reactiva, estratificados mediante asignación al azar al tratamiento con aspirina o placebo. Los análisis se limitan a sucesos ocurridos antes de dar a conocer el componente de aspirina del Estudio de la salud de los médicos (Physicians' Health Study). La reducción en el riesgo de infarto de miocardio asociada con el uso de aspirina fue de 13.9 por ciento en el primer cuartil (el más bajo) de proteína C reactiva, de 33.4 por ciento en el segundo cuartil, de 46.3 por ciento en el tercer cuartil y de 55.7 por ciento en el cuarto cuartil (el más alto).

La figura 6 es un gráfico que demuestra la distribución de los niveles de proteína C reactiva en la población estudiada en el ejemplo 1.

La figura 7 es un gráfico que demuestra la distribución normal de campana de la curva que se produce cuando los niveles de proteína C reactiva de la figura 5 se normalizan aplicando el logaritmo.

Descripción detallada de la invención

La base principal para esta invención es la evidencia del Estudio de la salud de los médicos (PHS), un ensayo clínico a gran escala, aleatorizado, a doble ciegas, controlado por placebo, de aspirina y betacaroteno en la prevención primaria de enfermedad cardiovascular conducido entre 22 000 hombres aparentemente sanos. En ese ensayo, se encontró que el nivel inicial de proteína C reactiva, un marcador de inflamación sistémica subyacente, determinaba el riesgo futuro de infarto de miocardio y accidente cerebrovascular, independientemente de una larga serie de factores de riesgo lipídicos y no lipídicos. Específicamente, se encontró que los individuos con los niveles iniciales más altos de proteína C reactiva tenían un riesgo 3 veces mayor de sufrir un infarto de miocardio futuro y un riesgo 2 veces mayor de sufrir un accidente cerebrovascular futuro. (Fig. 1).

Por otra parte, en los datos del Estudio de la salud de los médicos, el riesgo de infarto de miocardio y accidente cerebrovascular futuros, asociado con este marcador de inflamación parece sumarse al riesgo que se podría determinar mediante la evaluación habitual del colesterol total y el colesterol HDL. En ese ensayo, el valor predictivo de la proteína C reactiva estuvo presente en los casos mortales y no mortales, fue estable durante períodos prolongados y estuvo presente tanto en los fumadores como en los no fumadores. Además, los datos de ese ensayo indican que la magnitud del beneficio que pueden esperar los individuos aparentemente sanos de la aspirina profiláctica, depende en gran medida del nivel inicial de proteína C reactiva. Además, esos datos indican que el beneficio de otros agentes terapéuticos utilizados en la prevención y el tratamiento de trastornos ateroscleróticos puede diferir dependiendo del nivel subyacente de proteína C reactiva. Esos datos también plantearon la posibilidad de que otros marcadores inflamatorios pudieran tener un papel importante en la determinación del riesgo de infarto de miocardio y accidente cerebrovascular. Esto fue evaluado. Los datos que derivan de ese estudio con respecto a otro marcador de inflamación, el nivel plasmático de la molécula de adhesión celular soluble sICAM-1, indican la capacidad de otros marcadores inflamatorios para predecir el riesgo de aterosclerosis.

La invención actual describe, en un aspecto, el uso de la proteína C reactiva para predecir el riesgo de trastornos cardiovasculares asociados con aterosclerosis como infarto de miocardio y accidente cerebrovascular entre individuos sin evidencia de enfermedad en curso. Por lo tanto, esos datos extienden en gran medida las observaciones previas con respecto al uso de marcadores inflamatorios como la proteína C reactiva, para predecir el riesgo entre poblaciones de alto riesgo ya identificadas (como los fumadores) o entre pacientes con isquemia sintomática como los que tienen angina pectoris estable e inestable. Ciertamente, puesto que los niveles de proteína C reactiva y otros reactantes de fase aguda aumentan luego de la isquemia aguda y están directamente relacionados con el consumo de cigarrillos, no se está seguro de si las asociaciones estadísticas observadas en estudios previos de poblaciones de alto riesgo o con enfermedad aguda, son casuales o debidos a cambios inflamatorios de corto plazo, o a interrelaciones con otros factores de riesgo, en particular, el hábito de fumar y la hiperlipidemia.

En marcado contraste, los datos del Estudio de la salud de los médicos indican por primera vez la utilidad de los marcadores inflamatorios para predecir el riesgo entre individuos sanos y otros individuos con bajo riesgo, para predecir sucesos mortales y no mortales, para predecir el riesgo entre no fumadores, y para predecir el riesgo mucho más allá del asociado con la detección sistemática de colesterol HDL y total. Los datos del Estudio de la salud de los médicos también indican por primera vez que la eficacia de las intervenciones diseñadas para reducir el riesgo de sucesos ateroscleróticos como infarto de miocardio y accidente cerebrovascular, difiere en magnitud basándose en una medida del grado de inflamación sistémica subyacente.

La invención se comprenderá mejor por referencia a la breve explicación siguiente de los términos.

"Trastornos cardiovasculares asociados con enfermedad aterosclerótica" incluye infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, angina pectoris y enfermedad arteriovascular periférica. Los trastornos cardiovasculares asociados con enfermedad aterosclerótica no incluyen la trombosis venosa.

"Aparentemente sano", como se usa en este documento, significa individuos que no tuvieron previamente un suceso cardiovascular adverso agudo como un infarto de miocardio (es decir, individuos que no tienen un riesgo alto de un

segundo suceso cardiovascular adverso debido a un suceso cardiovascular adverso primario). Los individuos aparentemente sanos no presentan otros síntomas de enfermedad. En otras palabras, dichos individuos, si fueran examinados por un profesional médico, serían categorizados como sanos y sin síntomas de enfermedad.

5 "No fumador", como se usa en este documento, significa un individuo que, al momento de la evaluación, no es un fumador. Esto incluye individuos que no fumaron nunca así como individuos que fumaron en el pasado pero que ya no fuman.

10 Los agentes para reducir el riesgo de un trastorno cardiovascular incluyen los seleccionados del grupo que consiste en antiinflamatorios y antiplaquetarios.

15 Los antiinflamatorios incluyen Alclofenac; Dipropionato de alclometasona; Acetónido de algestona; Alfa amilasa; Amcinafal; Amcinafida; Amfenac sódico; Clorhidrato de amiprilosa; Anakinra; Aniolac ; Anitrazafeno; Apazona; Balsalazida disódica; Bendazac; Benoxaprofeno; Clorhidrato de bencidamina; Bromelains; Broperamol; Budesonida; Carprofeno; Cicloprofeno; Cintazona; Cliprofeno; Propionato de clobetasol; Butirato de clobetasona; Clopirac; Propionato de cloticasona; Acetato de cormetasona; Cortodoxona; Deflazacort; Desonida; Desoximetasona; Dipropionato de dexametasona; Diclofenac potásico; Diclofenac sódico; Diacetato de diflorasona; Diflumidona sódica; Diflunisal ; Difluprednato; Diftalona; Sulfóxido de dimetilo; Drocinonida; Endrisona; Enlimomab; Enolicam sódico; Epirizol; Etodolac; Etofenamato; Felbinac; Fenamol; Fenbufeno; Fenclofenac; Fenclorac; Fendosal; Fenpipalona; Fentiazac; Flazalona; Fluazacort; Ácido flufenámico; Flumizol; Acetato de flunisólida; Flunixin; Flunixin Meglumina; Fluocortin Butilo; Acetato de fluorometolona; Fluquazona; Flurbiprofeno; Fluretofeno; Propionato de fluticasona; Furaprofeno; Furobufeno; Halcinonida; Propionato de halobetasol; Acetato de halopredona; Ibufenac; Ibuprofeno; Ibuprofeno aluminio; Ibuprofeno piconol; Ilonidap; Indometacina; Indometacina sódica; Indoprofeno; Indoxol; Intrazol; Acetato de isoflupredona; Isoxepac; Isoxicam; Ketoprofeno; Clorhidrato de Lofemizol; Lormoxicam; Etabonato de loteprednol; Meclofenamato sódico; Ácido meclofenámico; Dibutirato de meclorisona; Ácido mefenámico; Mesalamina; Meseclazona; Suleptanato de metilprednisolona; Morniflumato; Nabumetona; Naproxeno; Naproxeno sódico; Naproxol; Nimazona; Olsalazina sódica; Orgoteína; Orpanoxin; Oxaprozin; Oxifenbutazona; Clorhidrato de paranilina; Pentosano polisulfato de sodio; Glicerato de fenbutazona sódica; Pírfenidona; Piroxicam; Cinamato de piroxicam; Piroxicam olamina; Pirprofeno; Prednazato; Prifelona; Ácido prodólico; Proquazona; Proxazol; Citrato de proxazol; Rimexolona; Romazarit; Salcolex ; Salnacedin; Salsalato; Salicilatos; Cloruro de sanguinario; Seclazona; Sermetacina; Sudoxicam; Sulindac; Suprofeno; Talmetacina; Talniflumato; Talosalato; Tebufelona; Tenidap; Tenidap sódico; Tenoxicam; Tesicam; Tesimida; Tetridamina; Tiopinac; Pivalato de tixocortol; Tolmetina; Tolmetina sódica; Triclonida; Triflumidato; Zidometacina; Glucocorticoides; Zomepirac sódico.

35 Los antiplaquetarios incluyen Clopidogrel; Sulfinpirazona; Aspirina; Dipiridamol; Clofibrato; Carbamato de piridinol; PGE; Glucagón; fármacos antiserotoninicos; Cafeína; Teofilina, Pentoxifilina; Ticlopidina; Anagrelida.

Un agente preferido es la aspirina.

40 Al practicar los métodos de la presente invención, es necesario obtener un nivel de proteína C reactiva en un individuo.

45 El nivel de proteína C reactiva se determina midiendo su concentración en la sangre. La concentración se puede determinar por ELISA o inmunoensayos u otras técnicas convencionales para determinar la presencia del marcador. Los métodos convencionales incluyen enviar muestras de sangre de un paciente a un laboratorio comercial para la medición.

50 Según se explicó, para la proteína C reactiva, un valor de corte importante para una población de no fumadores aparentemente sanos, es de 1.75 mg/litro (mediana). Otro valor de corte importante para la proteína C reactiva es de 2.0 mg/litro (cuartil más alto del riesgo). Los valores de corte descritos antes, y en mayor detalle en el ejemplo siguiente, son sorprendentemente menores que los que se muestran en el estado anterior de la técnica donde los niveles de proteína C reactiva se estudian en individuos que no están sanos o fumadores.

55 En la actualidad existen fuentes comerciales que producen reactivos para ensayos para determinar la proteína C reactiva. Éstas incluyen, pero no exclusivamente, Abbott Pharmaceuticals (Abbott Park, Illinois), CalBiochem (San Diego, CA) y Behringwerke (Marburg, Alemania). Las fuentes comerciales para las mediciones de citocina inflamatoria y molécula de adhesión celular incluyen, pero no exclusivamente, R&D Systems (Mineápolis, MN), Genzyme (Cambridge, MA) e Immunotech (Westbrook, ME).

60 Los juegos o ensayos deben ser específicos y tener una sensibilidad adecuada con respecto a los valores seleccionados basándose en la presente invención. Los juegos preferidos, por consiguiente, diferirían de los que están disponibles en el comercio en la actualidad, por inclusión de, por ejemplo, diferentes valores de corte, diferentes sensibilidades en los valores de corte particulares, así como instrucciones u otro material impreso para caracterizar el riesgo basándose en el resultado del ensayo.

Según se discutió antes, la invención proporciona métodos para evaluar la probabilidad de que un individuo se beneficie del tratamiento con un agente para reducir el riesgo de un trastorno cardiovascular futuro. Este método tiene implicancias importantes para el tratamiento del paciente y también para el desarrollo clínico de nuevos productos terapéuticos. Los médicos seleccionan los regímenes terapéuticos para el tratamiento del paciente basándose en el beneficio neto esperado para el paciente. El beneficio neto deriva de la relación entre riesgo y beneficio. La presente invención permite la selección de individuos que es más probable que se beneficien por la intervención, ayudando por consiguiente al personal médico a seleccionar el régimen terapéutico. Esto podría incluir el uso de fármacos con un perfil de riesgo mayor donde la probabilidad del beneficio esperado haya aumentado. Análogamente, los investigadores clínicos desean seleccionar para los ensayos clínicos una población con una mayor probabilidad de obtener un beneficio neto. La presente invención puede ayudar a los investigadores clínicos a seleccionar dichos individuos. Se espera que ahora los investigadores clínicos usen la presente invención para determinar los criterios de ingreso a los ensayos clínicos.

En otro aspecto sorprendente, se descubrió que la proteína C reactiva tiene un valor predictivo independiente de otros predictores conocidos de futuros trastornos cardiovasculares adversos. Por lo tanto, la presente invención no implica simplemente duplicar una medición que se podría haber hecho en el pasado, usando otros predictores. En lugar de eso, la proteína C reactiva se suma a los predictores del estado anterior de la técnica. Esto se ilustra en las figuras 2 y 3, donde los datos de la presente invención se analizan para caracterizar los perfiles de riesgo de los individuos, tomando en cuenta, tanto los niveles de colesterol total como los niveles de proteína C reactiva. La figura 2 muestra el riesgo relativo de un infarto de miocardio futuro asociado con terciles alto, medio y bajo de colesterol total y proteína C reactiva. La figura 3 muestra de manera similar el riesgo relativo de infarto de miocardio futuro asociado con terciles alto, medio y bajo de la relación colesterol total:HDL y proteína C reactiva. Como es sobradamente claro, el riesgo es aditivo.

Ejemplo

Organización del estudio

El Estudio de la salud de los médicos es un ensayo aleatorizado, a doble ciegas, controlado con placebo, 2 x 2 factorial, de aspirina y betacaroteno en la prevención primaria de enfermedad cardiovascular y cáncer.

Incorporación de sujetos

Un total de 22 071 médicos estadounidenses de sexo masculino, de edades entre 40 y 84 años en 1982, sin antecedentes de infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, ataque isquémico transitorio ni cáncer, fueron asignados a uno de los cuatro grupos de tratamiento: 325 mg de aspirina en días alternados (Bufferin, provista por Bristol-Myers), 50 mg de betacaroteno en días alternados (Lurotin, provisto por BASF Corporation), ambos, o ninguno. El componente aspirina del PHS se terminó precozmente el 25 enero de 1988, principalmente debido a la reducción estadísticamente extrema de 44% en el riesgo de un primer infarto en el grupo de la aspirina.¹ El componente betacaroteno continuó hasta la finalización programada el 31 diciembre 1995.²

Antes de la aleatorización, entre agosto de 1982 y diciembre de 1984, se solicitó a los participantes potencialmente elegibles que suministraran muestras de sangre iniciales durante un período preparatorio de 16 semanas en el que todos los sujetos recibieron aspirina. Se enviaron a los participantes juegos de extracción de sangre que incluían tubos vacutainer con EDTA e instrucciones para la extracción de la sangre. Se solicitó a los participantes que se extrajeran sangre en los tubos con EDTA, que centrifugaran los tubos y que retornaran el plasma (acompañado de un paquete para enfriar provisto) por correo expreso. Una vez retornadas, las muestras se separaron en alícuotas y se almacenaron a -80 °C. De los 22 071 participantes del PHS, 14 916 (68%) proporcionaron muestras de plasma iniciales. En el transcurso de los 14 años del ensayo, ninguna muestra se descongeló inadvertidamente durante el almacenamiento.

Confirmación del criterio de valoración y selección de los controles

Se solicitaron los registros hospitalarios (y para los casos mortales los certificados de defunción y los informes de la autopsia) para todos los casos en que se informó de infarto de miocardio, accidente cerebrovascular y trombosis venosa. Los registros fueron revisados por un comité de médicos usando criterios estandarizados para confirmar o refutar los casos reportados. Los revisores de los criterios de valoración estaban a ciegas respecto a la asignación del tratamiento.

El infarto de miocardio reportado se confirmaba si el caso cumplía con los criterios de síntomas de la Organización Mundial de la Salud y además enzimas elevadas o cambios en las características electrocardiográficas. Los infartos de miocardio asintomáticos no se incluyeron porque no se podía establecer una fecha con precisión. Las muertes debidas a coronariopatía se confirmaban basándose en el informe de la autopsia; los síntomas, las circunstancias de

la muerte y los antecedentes de coronariopatía. El accidente cerebrovascular reportado se confirmaba basándose en la historia clínica que mostraba déficit neurológico de un inicio rápido o repentino que persistía por más de 24 horas o hasta la muerte. Los accidentes cerebrovasculares se clasificaron como isquémicos o hemorrágicos. Se dispuso de tomografía computarizada para más del 95% de los accidentes cerebrovasculares confirmados. La trombosis venosa profunda reportada se confirmaba mediante documentación de una venografía positiva o un estudio de ultrasonido positivo; las trombosis venosas profundas y documentadas únicamente por pletismografía de impedancia o examen Doppler sin ultrasonido no se confirmaban. La embolia pulmonar reportada se confirmaba mediante un angiograma positivo o un barrido de ventilación-perfusión que demostrara al menos dos defectos segmentales de perfusión con ventilación normal.

Cada participante que proporcionó una muestra de plasma inicial y al que se le confirmó un infarto de miocardio, un accidente cerebrovascular o una trombosis venosa luego de la aleatorización, fue emparejado a un control. Los controles fueron médicos participantes que proporcionaron muestras de plasma iniciales y que no habían informado de enfermedad cardiovascular en el momento en que el caso reportó su suceso. Los controles se seleccionaron al azar entre participantes del estudio que cumplían los criterios de emparejamiento de edad (+/- un año), hábito de fumar (vigente, pasado o nunca), y tiempo desde la aleatorización (intervalos de 6 meses). Usando esos métodos, evaluamos 543 casos y 543 controles en este diseño anidado prospectivo de casos y controles.

Obtención de las muestras de sangre y análisis clínicos

Para cada caso y control, las muestras de plasma obtenidas y almacenadas al inicio del estudio se congelaron y se analizaron para determinar la proteína C reactiva empleando enzimoimmunoanálisis de absorción (ELISA) basado en proteína purificada y anticuerpos anti-proteína policlonales (Calbiochem).³ En resumen, se usaron anticuerpos para recubrir pocillos de placas de microtitulación, y la proteína C reactiva biotinilada más el plasma del paciente se diluyó 1:700 en tampón de ensayo (solución salina amortiguada con fosfato con 0.1 por ciento de Tween-20 y 1 por ciento de albúmina de suero bovino). Luego de la competición, el exceso se lavó y se estimó la cantidad de proteína biotinilada mediante adición de avidina-peroxidasa (Vectastain, Vector Laboratories, Burlingame, CA). Después las proteínas purificadas se usaron como patrones, siendo las concentraciones de proteína las determinadas por el fabricante. El ensayo de proteína C reactiva se normalizó usando el primer estándar de referencia internacional de la Organización Mundial de la Salud y tuvo una sensibilidad de 0.08 µg/microlitro con el rango de referencia del patrón entre 0.5 y 2.5 mg/litro. Los métodos utilizados para medir colesterol HDL y total, triglicéridos, lipoproteína (a), homocisteína plasmática total, fibrinógeno, dímero D, y antígeno activador del plasminógeno tisular endógeno (tPA) se describieron en otra parte.⁴⁻⁸

Se analizaron las muestras de sangre en pares, a ciegas, con la posición del caso variada al azar dentro de los pares para reducir la posibilidad de sesgo sistemático y disminuir la variabilidad entre ensayos. El coeficiente medio de la variación para la proteína C reactiva entre las corridas del ensayo fue de 4.2 por ciento.

Análisis estadístico

Se calcularon las medias o proporciones para los factores de riesgo iniciales para los casos y controles. La significancia de cualquier diferencia en las medias se analizó usando la prueba t de student y la significancia de todas las diferencias en las proporciones se analizó usando la estadística de chi cuadrado. Debido a que los niveles de proteína C reactiva están sesgados, se calcularon los niveles medianos y la significancia de todas las diferencias en los valores medianos entre casos y controles se evaluaron usando la prueba de Wilcoxon para datos independientes. Los niveles de la media geométrica de proteína C reactiva también se calcularon después de la transformación a logaritmo los que dieron como resultado una distribución cercana a la normal. Se usaron pruebas de tendencia para evaluar cualquier relación entre los niveles crecientes de proteína C reactiva con los riesgos de enfermedad vascular futura, después de dividir la muestra en cuartiles definidos por la distribución de los valores de control. Se obtuvieron estimados ajustados usando modelos de regresión logística condicional que toman en cuenta las variables de emparejamiento y controlan por asignación al azar del tratamiento, índice de masa corporal, diabetes, antecedentes de hipertensión y antecedentes parentales de coronariopatía. Se emplearon modelos similares para ajustar por los niveles iniciales medidos de colesterol HDL y total, triglicéridos, lipoproteína (a), antígeno tPA, fibrinógeno, dímero D y homocisteína. Para evaluar si la aspirina afectaba esas relaciones, se repitieron los análisis para todos los casos de infarto de miocardio que ocurrieron en o antes del 25 enero de 1988, fecha de finalización de la asignación al azar de aspirina. Todos los valores de P fueron bilaterales y los intervalos de confianza se calcularon al nivel de 95 por ciento.

Resultados

La tabla 1 muestra las características iniciales de los participantes del estudio. Como se esperaba, los que sufrieron posteriormente un infarto de miocardio es más probable que tuvieran antecedentes de hipertensión, hiperlipidemia, o antecedentes parentales de coronariopatía que los que permanecieron sin presentar enfermedad vascular. De manera similar, los que sufrieron posteriormente un accidente cerebrovascular es más probable que fueran

hipertensos. Debido al emparejamiento, la edad y el hábito de fumar fueron semejantes en los casos y controles.

Tabla 1: Características iniciales de los participantes del estudio

Enfermedad cardiovascular durante el seguimiento					
	Ninguna	Alguna	IM	ACV	TVP/EP
	(N-543)	(N-543)	(N-246)	(N-196)	X(N-101)
Edad (años*)	59+/-9.1	59+/-9.2	58+/-8.6	62+/-9.1	37+/-9.4
Hábito de fumar (%)					
Nunca	44	44	45	42	50
En el pasado	41	41	40	40	44
En la actualidad	15	15	15	18	6
Diabetes (%)	4	7	5	12	2
Índice de masa corporal (kg/m ² *)	27+/-2.8	26+/-3.2	26+/-3.3	25+/-3.2	26+/-2.9
Antecedentes de hipercolesterolemia (%)	9	13	17	10	7
Antecedentes de hipertensión (%)	16	29	27	35	20
Antecedentes parentales de coronariopatía (%)	10	13	17	11	8

*los valores representan las medias +/- DE

- 5 La media geométrica y los niveles medianos de proteína C reactiva inicial fueron significativamente más altos entre los que sufrieron posteriormente algún suceso vascular en comparación con los que no lo sufrieron (P <0.001). La diferencia entre casos y controles fue mayor para aquellos que sufrieron posteriormente infarto de miocardio (1.51 mg/litro frente a 1.13 mg/litro, P <0.001) aunque las diferencias fueron también significativas para los accidentes cerebrovasculares (P = 0.03), particularmente los de etiología isquémica (P = 0.02). En contraposición, los niveles de proteína C reactiva no aumentaron significativamente entre los que sufrieron posteriormente trombosis venosa (P = 0.34) (Tabla 2).

15 Tabla 2: Niveles iniciales de proteína C reactiva entre los participantes del estudio que permanecieron sin enfermedad durante el seguimiento (controles) y entre los que sufrieron infarto de miocardio, accidente cerebrovascular o trombosis venosa (casos)

Nivel inicial de proteína C reactiva (mg/litro)				
Enfermedad cardiovascular durante el seguimiento	Media geométrica	p	Mediana	p
Ninguna (N = 543)	1.10	-	1.13	-
Algún suceso vascular (N = 246)	1.37	<0.001	1.40	<0.001
Infarto de miocardio (N = 246)	1.48	<0.001	1.51	<0.001
Algún accidente cerebrovascular (N = 196)	1.30	0.03	1.36	0.03
Accidente cerebrovascular isquémico (N = 154)	1.36	0.01	1.38	0.02
Trombosis venosa (N = 101)	1.24	0.22	1.26	0.34

- 20 Los riesgos relativos de sufrir un primer infarto de miocardio aumentaron significativamente con cada cuartil creciente del valor de proteína C reactiva inicial (P para la tendencia entre cuartiles <0.001) de modo que los hombres en el cuartil más alto tuvieron casi 3 veces más riesgo de infarto de miocardio futuro que los del cuartil más bajo (riesgo relativo = 2.9, intervalo de confianza de 95%, 1.8 a 4.6, P <0.001) (Tabla 3). De manera similar, los hombres con los niveles de proteína C reactiva iniciales más altos tuvieron dos veces más riesgo de sufrir un accidente cerebrovascular isquémico futuro (riesgo relativo = 1.9, intervalo de confianza de 95%, 1.1 a 3.3, P = 0.02). No se observaron asociaciones significativas para la trombosis venosa. Los resultados fueron semejantes en los análisis limitados a los casos no mortales.

Tabla 3: Riesgos relativos de infarto de miocardio, accidente cerebrovascular y trombosis venosa futuros de acuerdo con los niveles iniciales de proteína C reactiva

Cuartil de proteína C reactiva (rango, mg/litro)					
	1 (≤0.55)	2 (0.56-1.14)	3 (1.15-2.10)	4 (≥2.11)	p-tendencia
Infarto de miocardio (cohorte total)					
RR	1.0	1.7	2.6	2.9	<0.001
IC de 95%	--	1.1-2.9	1.6-4.3	1.8-4.6	
p	--	0.03	<0.001	<0.001	
Infarto de miocardio (no fumadores)					
RR	1.0	1.7	2.5	2.8	<0.001
IC de 95%	--	1.0-2.8	1.5-4.1	1.7-4.7	
p	--	0.06	<0.001	<0.001	
Accidente cerebrovascular isquémico					
RR	1.0	1.7	1.9	1.9	0.03
IC de 95%	--	0.9-2.9	1.1-3.2	1.1-3.3	
p	--	0.07	0.02	0.02	
Trombosis venosa					
RR	1.0	1.1	1.2	1.3	0.38
IC de 95%	--	0.6-2.0	0.7-2.3	0.7-2.4	
p	--	0.78	0.51	0.42	
IC de 95% = intervalo de confianza de 95 por ciento					

5 Para evaluar si los mayores niveles iniciales de proteína C reactiva se asociaban con trombosis temprana en vez de con trombosis tardía, estratificamos el análisis del infarto de miocardio por años de seguimiento. El riesgo relativo de infarto de miocardio futuro asociado con el cuartil más alto de proteína C reactiva (en comparación con el cuartil más bajo) varió entre 2.4 para los sucesos que ocurrieron en los primeros dos años de seguimiento a 3.2 para los sucesos que ocurrieron a los 6 o más años durante el seguimiento del estudio (Tabla 4). De manera similar, el riesgo relativo de infarto de miocardio futuro asociado con un cambio de cuartil en la proteína C reactiva fue estable durante períodos prolongados (Figura 4).

15 Tabla 4. Riesgos relativos de un primer infarto de miocardio asociados con el cuartil más alto de proteína C reactiva inicial en comparación con el cuartil más bajo, de acuerdo con el año de seguimiento del estudio.

Tiempo del seguimiento (años)				
	0 - 2	2 - 4	4 - 6	6 +
Cohorte total				
RR	2.4	2.9	2.8	3.2
IC de 95%	0.9 - 6.8	1.1 - 7.6	1.1 - 6.9	1.2 - 8.5
p	0.09	0.03	0.03	0.02
No fumadores				
RR	2.8	2.9	2.7	2.9
IC de 95%	0.9 - 8.7	1.0 - 8.3	1.0 - 7.0	1.1 - 8.2
p	0.07	0.05	0.05	0.04
IC de 95 % = intervalo de confianza de 95 por ciento				

5 Los fumadores presentaron niveles medianos significativamente más altos de proteína C reactiva que los no fumadores (220 mg/litro frente a 1.19 mg/litro, P <0.001). Debido al emparejamiento por hábito de fumar, minimizamos el potencial de confundir por el hábito de fumar. No obstante, para evaluar la modificación del efecto, repetimos los análisis limitando la cohorte a los no fumadores. Como también se muestra en la tabla 3, los riesgos relativos de infarto de miocardio futuro entre los no fumadores aumentó significativamente con cada cuartil creciente de proteína C reactiva (P-tendencia <0.01). De manera similar, los efectos a largo plazo de proteína C reactiva sobre el riesgo de infarto de miocardio fueron virtualmente idénticos entre los no fumadores (Tabla 4).

10 La relación entre proteína C reactiva e infarto de miocardio no alteró significativamente los análisis que se ajustaron por índice de masa corporal, diabetes, hipertensión, antecedentes familiares de coronariopatía prematura, colesterol total, colesterol HDL, triglicéridos, lipoproteína (a), antígeno tPA, dímero D, fibrinógeno u homocisteína (Tabla 5).

15 Tabla 5. Riesgos relativos^a de infarto de miocardio futuro de acuerdo con los niveles iniciales de proteína C reactiva, ajustados por variables lipídicas y no lipídicas

Cuartil de proteína C reactiva (rango, mg/litro)						
Variables ajustadas por:		1 (≤0.55)	2 (0.56- 1.14)	3 (1.15- 2.10)	4 (≥2.11)	p-tendencia
Colesterol HDL y total						
	RR ajustado	1.0	1.8	2.2	2.3	0.002
	IC de 95%	--	1.0 - 3.1	1.3 - 3.7	1.4 - 3.9	
	p	--	0.05	0.004	0.002	
Nivel de triglicéridos						
	RR ajustado	1.0	1.8	2.1	2.8	<0.001
	IC de 95%	--	1.0 - 3.2	1.2 - 3.7	1.6 - 4.9	
	p	--	0.06	0.008	<0.001	
Lipoproteína(a)						
	RR ajustado	1.0	2.0	2.5	2.5	<0.001
	IC de 95%	--	1.2 - 3.4	1.5 - 4.2	1.5 - 4.2	
	p	--	0.01	<0.001	<0.001	
Nivel de antígeno de tPA						
	RR ajustado	1.0	1.7	1.9	2.9	0.002
	IC de 95%	--	0.9 - 3.4	1.0 - 3.6	1.5 - 5.6	
	p	--	0.13	0.06	0.002	
Nivel de homocisteína plasmática total						
	RR ajustado	1.0	1.8	2.9	3.6	<0.001
	IC de 95%	--	1.1 - 3.1	1.7 - 4.8	2.1 - 5.9	
	p	--	0.02	<0.001	<0.001	
Nivel de dímero D						
	RR ajustado	1.0	2.2	2.4	2.7	0.001
	IC de 95%	-	1.2 - 4.1	1.3 - 4.2	1.5 - 4.7	
	p	-	0.007	0.003	<0.001	
Nivel de fibrinógeno						
	RR ajustado	1.0	2.2	2.2	2.9	0.01
	IC de 95%	-	1.1-4.7	1.0-4.4	1.4-5.9	

Cuartil de proteína C reactiva (rango, mg/litro)						
Variables ajustadas por:		1 (≤0.55)	2 (0.56-1.14)	3 (1.15-2.10)	4 (≥2.11)	p-tendencia
	p	-	0.04	0.04	0.005	
Índice de masa corporal (kg/m ²) diabetes, antecedentes de hipertensión y antecedentes familiares de coronariopatía prematura						
	RR ajustado	1.0	1.5	2.4	2.6	<0.001
	IC de 95%	-	0.9-2.5	1.5-4.0	1.6-4.4	
	p	-	0.14	<0.001	<0.001	

~ Todos los modelos ajustados además por asignación al azar de aspirina y betacaroteno RR = riesgo relativo, CI de 95 % = intervalo de confianza de 95 por ciento

Para evaluar si el efecto beneficioso de la aspirina sobre el infarto de miocardio variaba según el nivel inicial de proteína C reactiva, repetimos esos análisis para los sucesos que ocurrieron antes del 25 enero de 1988, fecha de finalización del tratamiento al azar con aspirina.

5 Los riesgos de sufrir un infarto de miocardio futuro aumentaron con cada cuartil creciente de proteína C reactiva para los hombres asignados al azar para recibir aspirina o placebo, y las tasas de infarto de miocardio fueron inferiores en el grupo de la aspirina para todos los cuartiles de proteína C reactiva (Figura 5). Sin embargo, la magnitud del efecto beneficioso de la aspirina para prevenir el infarto de miocardio estuvo directamente relacionada con el nivel inicial de proteína C reactiva. Específicamente, la asignación al azar de aspirina se asoció con una reducción grande y estadísticamente significativa del riesgo de infarto de miocardio entre hombres con niveles iniciales de proteína C reactiva en el cuartil más alto (reducción del riesgo = 55.7 por ciento, P = 0.02). No obstante, entre los que tenían niveles iniciales de proteína C reactiva en el cuartil más bajo, la reducción del riesgo asociada con la aspirina fue bastante menor y ya no fue estadísticamente significativa (reducción del riesgo = 13.9 por ciento, P = 0.77). Esos efectos fueron lineales entre los cuartiles de modo que el beneficio aparente de la aspirina disminuyó en magnitud con cada cuartil decreciente de riesgo inflamatorio (Figura 5). Estos resultados permanecieron esencialmente incambiables luego de otros ajustes por otros factores de riesgo coronario y la interacción entre la asignación al grupo de la aspirina y el nivel inicial de proteína C reactiva (tratados como una variable continua transformada a logaritmo) fue estadísticamente significativa (P = 0.048).

20 Los datos del Estudio de la salud de los médicos también indican que medidas de la inflamación como PCR (proteína C reactiva) predicen el riesgo futuro de sufrir una enfermedad arterial periférica, otra manifestación clínica de aterosclerosis sistémica. Por ejemplo, los que tenían niveles iniciales de PCR por encima de 2.0 mg/litro tuvieron dos veces más riesgo de sufrir una enfermedad arterial periférica que los que tenían niveles inferiores. Por otra parte, en esos datos, el riesgo de sufrir enfermedad arterial periférica suficientemente grave como para requerir una intervención quirúrgica aumentó cuatro veces para los que tenían los niveles iniciales de PCR más altos.

30 Para evaluar si la proteína C reactiva podría ser un predictor del riesgo además del asociado con los niveles de colesterol, se realizaron posteriormente una serie de análisis estratificados. A este respecto, se encontró que la proteína C reactiva predecía el riesgo de un infarto de miocardio futuro entre las personas con niveles tanto altos como bajos de colesterol total y entre las personas con relaciones tanto altas como bajas entre colesterol total y colesterol HDL. Finalmente, para investigar si el efecto de la proteína C reactiva se sumaba al del colesterol, realizamos otros análisis en los cuales los sujetos del estudio se caracterizaron por terciles (bajo, medio o alto) de colesterol así como de proteína C reactiva. Realizamos análisis semejantes en los cuales los sujetos del estudio se caracterizaron por terciles de la relación entre colesterol total y colesterol HDL. Como se muestra en las figuras 2 y 3, el riesgo de infarto de miocardio asociado con la proteína C reactiva parece sumarse al de los parámetros lipídicos solos.

40 Los niveles reales de proteína C reactiva para la población analizada se muestran gráficamente en la figura 6. Los niveles de proteína C reactiva normalizados por logaritmo se muestran en la figura 7, la cual demuestra claramente la distribución normal de campana de la curva en nuestra población. La media de la proteína C reactiva fue de 1.75 y la desviación estándar fue de 2.2. La media del logaritmo de la proteína C reactiva fue de aproximadamente 1 y la desviación estándar fue de aproximadamente 1. También se evaluó la capacidad relativa para producir trastornos cardiovasculares futuros de otro marcador de inflamación sistémica, la molécula de adhesión intercelular soluble (sICAM-1). La tabla 6 muestra el riesgo relativo (RR) de un infarto de miocardio futuro de acuerdo con los niveles

iniciales de sICAM-1. Se observó una asociación estadísticamente significativa. La relación entre sICAM-1 y el infarto de miocardio tampoco se altera significativamente en el análisis que se ajustó por índice de masa corporal, diabetes, antecedentes familiares de coronariopatía prematura, hiperlipidemia y antecedentes de hipertensión.

5 Tabla 6: Riesgo relativo (RR) de infarto de miocardio futuro de acuerdo con los niveles iniciales de la molécula de adhesión intercelular soluble (sICAM-1)

Cuartil de sICAM-1 (rango, ng/litro)					
	1 (≤ 193)	2 (193-224)	3 (225-259)	4 (>259)	p-tendencia
RR sin procesar	1.0	0.8	1.0	1.5	0.01
*RR ajustado por lípidos	1.0	0.7	0.9	1.5	0.01
**RR totalmente ajustado	1.0	1.1	1.0	1.9	0.01
• Emparejado por hábito de fumar y edad, controlado por colesterol HDL y total •• Emparejado por hábito de fumar y edad, controlado por antecedentes de hipertensión, hiperlipidemia, índice de masa corporal, diabetes, y antecedentes familiares de coronariopatía prematura IC de 95% = intervalo de confianza de 95 por ciento					

Discusión

10 Estos datos prospectivos indican que el nivel de proteína C reactiva inicial entre hombres aparentemente sanos predice el riesgo de un primer infarto de miocardio y accidente cerebrovascular. Además, los riesgos de trombosis arterial asociados con la proteína C reactiva fueron estables durante períodos prolongados y no fueron modificados por otros factores como el hábito de fumar, el índice de masa corporal, la presión sanguínea, el colesterol HDL y total, los triglicéridos, la lipoproteína (a), el antígeno tPA, el dímero D, el fibrinógeno o la homocisteína. En estos
 15 datos, el riesgo de un infarto de miocardio futuro asociado con la proteína C reactiva parece sumarse al del asociado con el colesterol total o con la relación entre colesterol total y colesterol HDL. En contraposición, el beneficio de la aspirina para reducir el riesgo de un primer infarto de miocardio disminuyó significativamente al disminuir el nivel de proteína C reactiva, un resultado intrigante puesto que este agente tiene propiedades antiinflamatorias al igual que antiplaquetarias. Finalmente, no hubo una asociación significativa para la tromboembolia venosa los que sugiere que la relación de la inflamación con el riesgo vascular puede estar limitada a la circulación arterial. También observamos una asociación significativa entre el riesgo de un infarto de miocardio futuro y una segunda medida de la inflamación sistémica, sICAM-1.

25 Puesto que las muestras de sangre se extrajeron al inicio, podemos excluir la posibilidad de que la isquemia aguda afectara los niveles de proteína C reactiva. Además, las asociaciones estadísticamente significativas observadas estuvieron presentes entre los no fumadores lo que indica que el efecto de la proteína C reactiva sobre el riesgo vascular no es simplemente el resultado del consumo de cigarrillos.^{9,10} Por lo tanto, nuestros datos prospectivos que relacionan el nivel de proteína C inicial con el riesgo futuro de infarto de miocardio y accidente cerebrovascular entre
 30 hombres aparentemente sanos, extiende considerablemente las observaciones previas de los estudios de pacientes con enfermedad aguda¹², los pacientes con enfermedad coronaria sintomática¹¹, o los de alto riesgo debido fundamentalmente al consumo de cigarrillos.⁹ Por otra parte, en estos datos, los efectos de la proteína C reactiva fueron independientes de un gran número de factores de riesgo lipídicos y no lipídicos.

35 Se desconocen los mecanismos mediante los cuales la proteína C reactiva se relaciona con la aterotrombosis. Una infección previa con *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, *virus del Herpes simple* o citomegalovirus puede ser una fuente de inflamación crónica detectada mediante la proteína C reactiva.^{13,19} También es posible que la proteína C reactiva sea un sustituto de la interleucina-6²⁰, una citocina celular asociada con el reclutamiento de macrófagos y monocitos en la placa aterosclerótica.²¹ Además, la proteína C reactiva puede inducir a los monocitos para que expresen el factor tisular, una glucoproteína de membrana importante en la iniciación de la coagulación.²²
 40 Finalmente, se ha planteado la hipótesis de que una inflamación bronquial secundaria al hábito de fumar sea responsable de las asociaciones observadas en estudios anteriores que relacionan la proteína C reactiva con el riesgo vascular.⁹ A este respecto, nuestra observación de que el efecto de la proteína C reactiva está presente entre no fumadores hace que la inflamación bronquial sea un mecanismo menos probable. Además, el hallazgo de que los efectos de la proteína C reactiva son estables durante períodos prolongados sugiere que los efectos agudos sobre la
 45 coagulación son improbables.

Nuestros datos con respecto a la interrelación entre la proteína C reactiva y la aspirina ameritan una consideración cuidadosa. En el Estudio de la salud de los médicos, la aspirina redujo el riesgo de un primer infarto de miocardio en 44 por ciento.¹ Los resultados actuales indican que el efecto de la aspirina sobre un primer infarto de miocardio fue mayor entre los sujetos que tenían niveles de proteína C reactiva iniciales más altos y que el beneficio disminuyó
 50

significativamente en magnitud al disminuir la concentración de este marcador inflamatorio.

Se pueden extraer algunas conclusiones. En primer lugar, entre los hombres aparentemente sanos, el nivel inicial de inflamación evaluado mediante la proteína C reactiva predice el riesgo de un primer infarto de miocardio y accidente cerebrovascular, independientemente de otros factores. En segundo lugar, el nivel inicial de proteína C reactiva no está asociado con trombosis venosa, un suceso vascular generalmente no asociado con aterosclerosis. En tercer lugar, la proteína C reactiva no es simplemente un marcador a corto plazo como se demostró previamente para los pacientes con angina inestable¹², sino también un marcador a largo plazo, incluso para sucesos que ocurrirán después de 6 o más años. Esta observación sugiere que los efectos de la inflamación son mediados probablemente por un proceso crónico, y excluye la posibilidad de que una enfermedad aguda no detectada al inicio del estudio sea responsable de los efectos observados. En cuarto lugar, estos datos sugieren que la evaluación de la proteína C reactiva puede sumarse a nuestra capacidad para predecir el riesgo aterosclerótico, por encima del definido por los niveles de colesterol total y de la relación entre colesterol total y colesterol HDL. Finalmente, los beneficios de la aspirina parecen ser modificados por una inflamación subyacente.

1. Steering Committee of the Physicians' Health Study Research Group. Final report of the aspirin component of the ongoing Physicians' Health Study. *N Engl J Med* 1989;321:129-35.

2. Hennekens CH, Buring JE, Manson JE, et al. Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 1996;334:1145-9.

3. Macy EM, Hayes TE, Tracy RP. Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy adults: implications for reference interval and epidemiologic methods. *Clin Chem* 1997; 43:52-58.

4. Stampfer MJ, Sacks FM, Salvini S, Willett WC, Hennekens CH. A prospective study of cholesterol, apolipoproteins, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1991;325:373-81.

5. Ridker PM, Hennekens CH, Stampfer MJ. A prospective study of lipoprotein(a) and the risk of myocardial infarction. *JAMA* 1993;270:2195-2199.

6. Ridker PM, Hennekens CH, Selhub J, Miletich JP, Malinow MR, Stampfer MJ. Interrelation of hyperhomocyst(e)inemia, factor V Leiden, and risks of future venous thromboembolism. *Circulation* 1997 (in press).

7. Ridker PM, Vaughan DE, Stampfer MJ, Manson JE, Hennekens CH. Endogenous tissue-type plasminogen activator and risk of myocardial infarction. *Lancet* 1993;341:1165-1168.

8. Ridker PM, Hennekens CH, Cerskus A, Stampfer MJ. Plasma concentration of cross-linked fibrin degradation product (d-Dimer) and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 1994;90:2236-2240.

9. Kuller LH, Tracy RP, Shaten J, Meilahn EN, for the MRFIT Research Group. Relationship of C-reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT nested case-control study. *Am J Epidemiology* 1996;144:537-47.

10. Das I. Raised C-reactive protein levels in serum from smokers. *Clinica Chimica Acta* 1985;153:9-13.

11. Thompson SG, Kienast J, Pyke SDM, Haverkate F, van de Loo JCW, for the European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. *N Engl J Med* 1995;332:635-41.

12. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1994;331:417-24.

13. Buja LM. Does atherosclerosis have an infectious etiology? *Circulation* 1996; 94:872-873.

14. Grayston JT. Chlamydia in atherosclerosis. *Circulation* 1993;87:1408-1409.

15. Saikku P, Leinonen M, Tenkanen L, et al. Chronic chlamydia pneumoniae infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *Ann Intern Med* 1992;116:273-278.

16. Thom DH, Grayston JT, Siscovick DS, Wang S-P, Weiss NS, Daling JR. Association of prior infection with chlamydia pneumoniae and angiographically demonstrated coronary artery disease. *JAMA* 1992;268:68-72.

17. Melnick JL, Adam E, DeBaakey ME. Possible role of cytomegalovirus in atherogenesis. *JAMA* 1990;263:2204-7.

18. Mendall MA, Goggin PM, Molineaux N, et al. Relation of helicobacter pylori infection and coronary heart disease. *Br Heart J* 1994;71:437-9.

19. Patel P, Mendall MA, Carrington D, et al. Association of helicobacter pylori and chlamydia pneumoniae infections with coronary heart disease and cardiovascular risk factors. *Br Med J* 1995;311:711-4.

5 20. Bataille R, Klein B. C-reactive protein levels as a direct indicator of interleukin-6 levels in humans in vivo. *Arthritis and Rheumatism* 1992;35:982-984.

10 21. Biasucci LM, Vitelli A, Liuzzo G, et al. Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina. *Circulation* 1996;94:874-877.

22. Cermak J, Key NS, Bach RR, et al. C-reactive protein induces human peripheral blood monocytes to synthesize tissue factor. *Blood* 1993;82:513-20.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para evaluar la probabilidad de que un individuo, no fumador, aparentemente sano, se beneficie del tratamiento con un agente para reducir el riesgo de un trastorno cardiovascular asociado con una enfermedad aterosclerótica, donde el agente se selecciona del grupo que consiste en antiinflamatorios y antiplaquetarios que comprende:
- 10 obtener un nivel de proteína C reactiva en una muestra de sangre extraída del individuo, donde dicho nivel de proteína C reactiva en comparación con un valor de 1.75 mg/l de sangre es indicativo de si el individuo se beneficiará del tratamiento con dicho agente, y caracterizar si es probable que el individuo se beneficie de dicho tratamiento basándose en dicha comparación.
- 15 2. Un método para caracterizar el perfil de riesgo de un individuo, no fumador, aparentemente sano, de sufrir un trastorno cardiovascular asociado con una enfermedad aterosclerótica, que comprende obtener un nivel de proteína C reactiva de una muestra de sangre extraída del individuo, y caracterizar el perfil de riesgo del individuo de sufrir un trastorno cardiovascular asociado con una enfermedad aterosclerótica, basándose en dicho nivel de proteína C reactiva en comparación con un valor de 1.75 mg/l de sangre.
- 20 3. Un método como el que se reivindica en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde dicho valor es de 2.0 mg/l de sangre.
- 25 4. Un método como el que se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el trastorno cardiovascular es un infarto de miocardio o un accidente cerebrovascular.
5. Un método como el que se reivindica en la reivindicación 1, donde el agente es aspirina o un antiinflamatorio distinto de la aspirina.

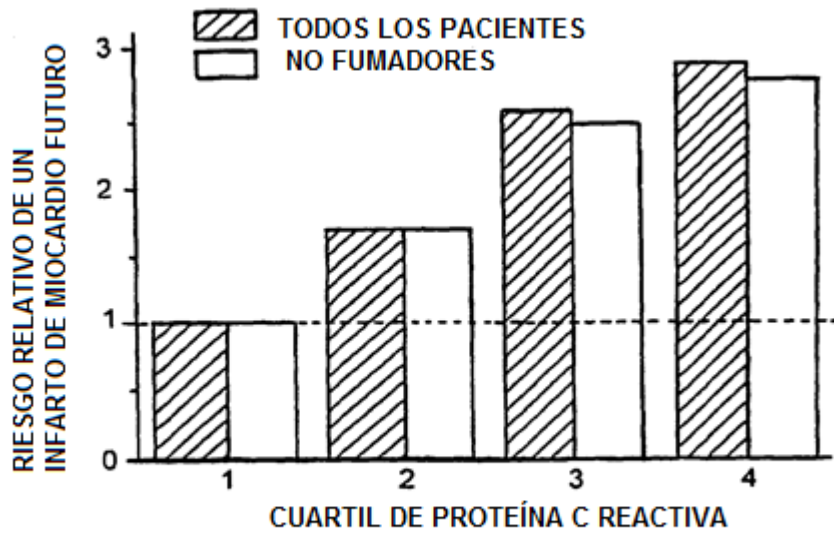


Fig. 1

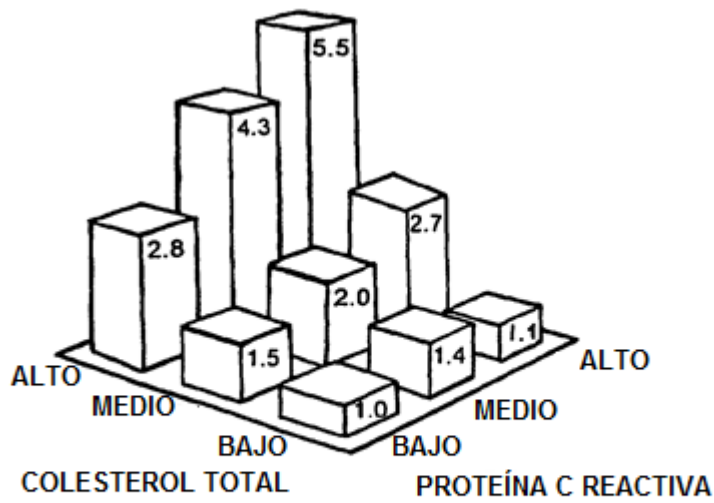
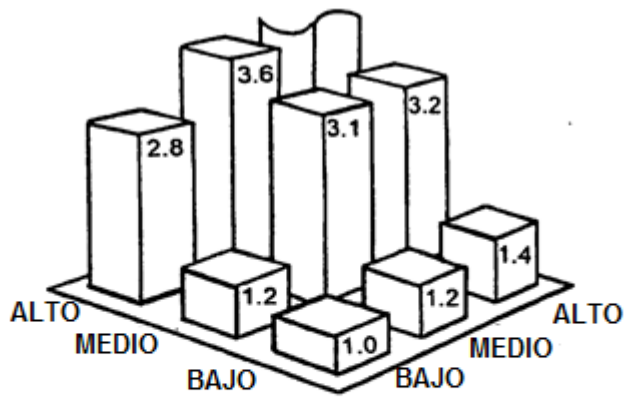


Fig. 2



RELACIÓN COLESTEROL TOTAL:HDL PROTEÍNA C REACTIVA

Fig. 3

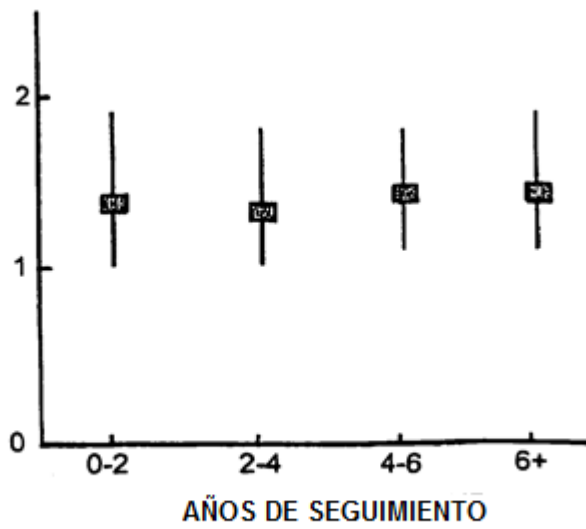


Fig. 4

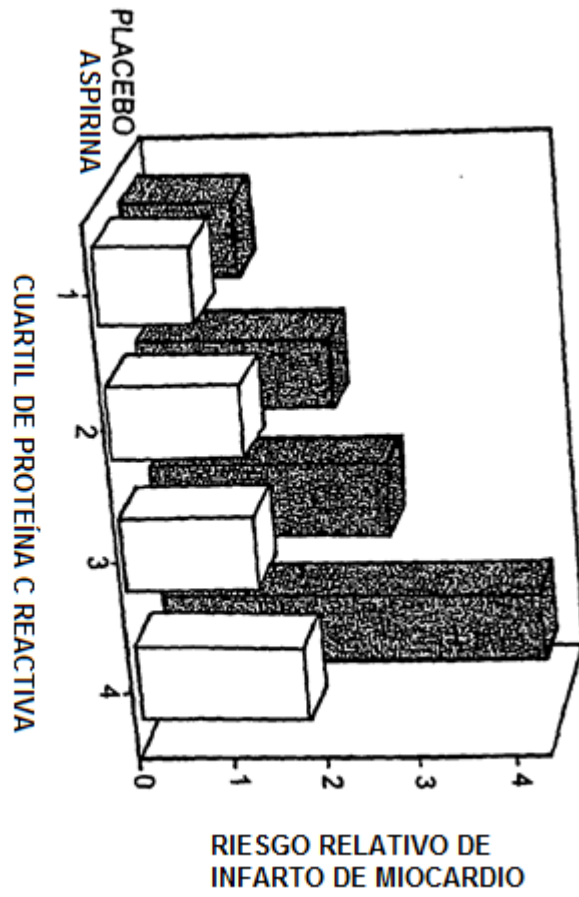


Fig. 5

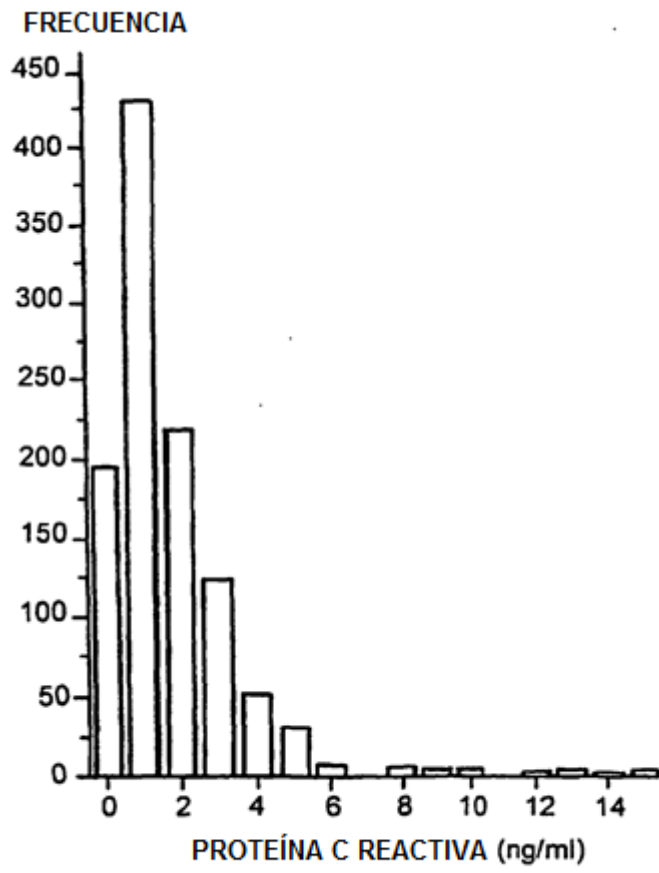


Fig. 6

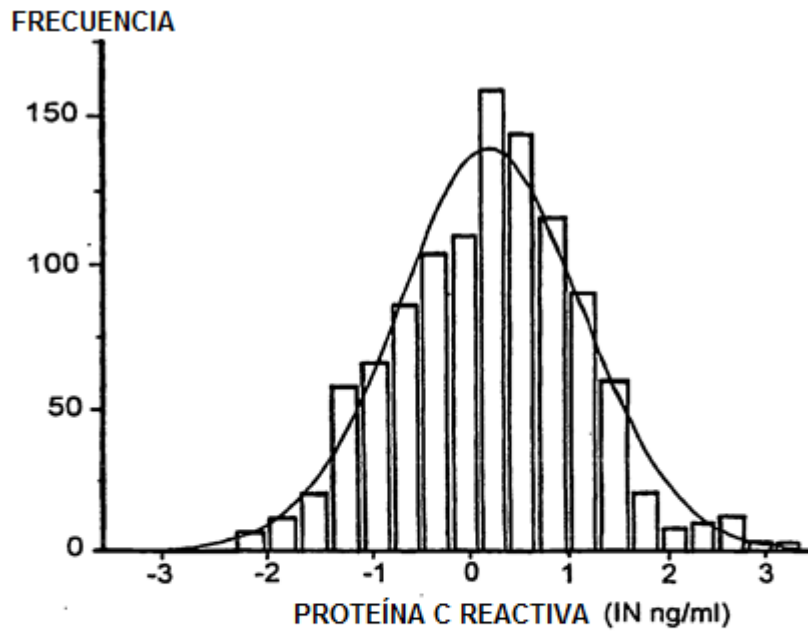


Fig. 7