

El ligando CD40 soluble: marcador potencial de riesgo cardiovascular

A. San Miguel Hernández^a, L. Inglada-Galiana^b, R. García Iglesias^a, N. Alonso Castillejos^a y F. J. Martín Gil^a

^aServicio de Análisis Clínicos. ^bServicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. España.

El ligando CD40 soluble, también denominado CD145 o gp 39, es un complejo formado por una proteína transmembrana estructural y una molécula soluble de adhesión tisular. Se expresa en los linfocitos y las plaquetas activadas y constituye el nexo entre el sistema inflamatorio y los procesos trombóticos vasculares. Su gen se localiza en el brazo largo del cromosoma X humano. Pertenece a la familia del factor de necrosis tumoral. La evaluación de la placa aterosclerótica fija residual es insuficiente para predecir la evolución clínica. Actualmente, ya se han realizado estudios demostrando la participación del sistema inmuno-inflamatorio en la génesis y las complicaciones del proceso aterosclerótico. En el futuro, los biomarcadores más específicos de vulnerabilidad serán de gran utilidad en la práctica cotidiana (interleucinas, CD40, etc.). El ligando CD40 soluble y su receptor CD40 están sobreexpresados en las lesiones ateroscleróticas, lo que conduce a un incremento de los mediadores del desarrollo de la placa de ateroma, y ambos contribuyen de manera importante al proceso inflamatorio que conduce a la aterosclerosis y a la trombosis.

San Miguel Hernández A, Inglada-Galiana L, García Iglesias R, Alonso Castillejos N, Martín Gil FJ. El ligando CD40 soluble: marcador potencial de riesgo cardiovascular. Rev Clin Esp. 2007; 207(8):418-21.

Soluble CD40 ligand: a potential marker of cardiovascular risk

Recombinant human soluble CD40 ligand, also named CD145 or gp 39, is a 16.3 kD glycoprotein containing 149 aa residues comprising the receptor binding TNF-like domain of CD40 ligand. It is expressed on antigen-presenting cells such as B cells, macrophages, dendritic cells and thymic epithelial cells and it constitutes the nexus between the inflammatory system and the vascular thrombotic processes. Its gene is located in the long arm of the human X chromosome. Prognostic evaluation of the residual fixed atherosclerotic plaque is insufficient to predict clinical course. Currently, studies have been done that demonstrate the participation of the immunoinflammatory system in the genesis and complications of the atherosclerotic condition. In the future, the most specific biomarkers of vulnerability will be very useful in the daily practice (interleukins, CD40, etc.). The soluble CD40 ligand together with its CD40 receptor are overexpressed in experimental and human atherosclerotic lesions. This leads to an increase of mediators for the development of atherosclerosis. Both significantly contribute to the inflammatory processes that leads to atherosclerosis and thrombosis.

Introducción

Actualmente, la aterosclerosis constituye la causa principal de morbimortalidad en los países desarrollados¹. A pesar de los avances en el conocimiento de los factores de riesgo, así como de los tratamientos, la enfermedad aterosclerótica coronaria es motivo de gran preocupación y sigue siendo un objeto importante de estudio.

En la actualidad se sabe que el proceso aterogénico es complejo y en él están implicados varios mecanismos. La acumulación de lípidos en la pared arterial y la formación de trombos en los vasos van acompañados de la producción de procesos inflamatorios crónicos

con proliferación celular². La formación del trombo sobre una placa aterosclerótica se suele acompañar de una serie de factores que condicionan su ruptura, lo que acontece en un 70% de los casos¹.

Entre los factores que participan en la ruptura de la placa de ateroma y la consiguiente formación de trombos está el estrés oxidativo, que produce la expresión en las células endoteliales de moléculas y quimiocinas de adhesión tisular que favorecen la atracción de células inflamatorias al interior de la placa de ateroma^{3,5}. Los macrófagos y las células del músculo liso en el interior de la placa sobreexpresan mediadores inflamatorios, enzimas proteolíticas y factores trombogénicos^{3,6,7}.

Las placas ateroscleróticas contienen células inflamatorias tales como los macrófagos, las enzimas proteolíticas y las fibrinolíticas. Procedentes de estas células inflamatorias, degradan la capa fibrosa de la placa, produciendo la inestabilidad de la misma y contribuyendo a su ruptura⁸. Por ello, los mediadores de la inflamación representan un papel importante en la formación y rotura de las placas y, por lo tanto, en la iniciación de los episodios coronarios

Correspondencia: L. Inglada-Galiana.
Servicio de Medicina Interna.
Hospital Universitario Río Hortega.
C/ Rondilla de Santa Teresa, 9.
47010 Valladolid. España.
Correo electrónico: luisig@wanadoo.es

Aceptado para su publicación el 28 de febrero de 2007.

agudos, así como en su progresión y evolución. Un elevado número de marcadores, tales como las citoquinas, la interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral (TNF), la proteína C reactiva (PCR), el fibrinógeno y otros factores de la coagulación o las moléculas de adhesión intracelular y celular vascular, puede ser utilizado con fines pronósticos.

Entre los mediadores inflamatorios que producen células vasculares activadas como los macrófagos está el ligando CD40 (CD40 L). Las placas de aterosclerosis en el ser humano contienen este ligando y su receptor (CD40 R)^{3,9}.

Ligando CD40 soluble

El CD40 R es una proteína integral de membrana de 40 a 45 kD que contiene 4 dominios extracelulares ricos en cisteína y que pertenecen a la superfamilia del receptor TNF¹⁰; se encuentra en diferentes tipos de células como linfocitos B, macrófagos y células dendríticas. El CD40 L, asociado a la membrana de una serie de células como los linfocitos T y las plaquetas, se acopla a su CD40 R, que se encuentra por lo general en las células que presentan el antígeno, determinando un fenómeno de co-estimulación del linfocito T (o célula que lo porte) que modula adecuadamente su función con producción de interleucina 12 y otras citoquinas. La interacción del ligando CD40 con el receptor CD40 de los linfocitos B conduce a la diferenciación y proliferación de estos, así como al cambio del isotipo de las inmunoglobulinas que producen y a la formación de células B memoria que van a condicionar unas determinadas respuestas inflamatorias e inmunes¹¹.

Existe una fracción soluble del CD40 R (sCD40 L), también denominada CD 145 o gp 39; es un complejo formado por una proteína transmembrana estructural y una molécula soluble de adherencia tisular. Se expresa en los linfocitos T poco después de su activación y en las plaquetas activadas y constituye el nexo entre el sistema inflamatorio y los procesos trombóticos vasculares¹². El gen del CD40 L se localiza en el brazo largo del cromosoma X humano. Pertenecer a la familia del TNF. Desde el punto de vista estructural, forma homotrímeros de otros miembros de la superfamilia TNF. El clivaje proteolítico puede también producir formas solubles del CD40. Las células T activadas pueden expresar ambas: un CD40 L asociado a membrana y una forma soluble de CD40 L. Las formas solubles y unidas a la membrana de CD40 L son activas. En las plaquetas, el CD40 L es rápidamente traslocado hacia la superficie de la misma tras un estímulo y se encuentra sobreexpresado en el trombo fresco; el CD40 L que se expresa en la superficie de las plaquetas se separa de ellas tras un periodo de minutos a horas generando el fragmento soluble sCD40 L, aunque éste también puede separarse de los linfocitos T activados, se estima que alrededor del 95% del sCD40 L procede de las plaquetas¹³. El CD40 L es un marcador de la actividad plaquetaria y está relacionado de forma directa con la desestabilización de la placa de aterosclerosis. Los mar-

cadore de activación plaquetaria son importantes en el diagnóstico y la estratificación de estos pacientes.

Relación entre CD40 L soluble y aterosclerosis

Los síndromes coronarios agudos (SCA) representan una variedad de entidades clínicas con diferentes pronósticos, producto de los múltiples mecanismos fisiopatológicos involucrados. Las alteraciones reológicas, el estrés hemodinámico sobre placas ateroscleróticas crónicas, el incremento exagerado del tono vascular coronario y procesos inflamatorios, entre otros, desencadenan el accidente de las placas. En la etapa inicial de este fenómeno, el objetivo terapéutico es actuar sobre la activación de las plaquetas y la trombina, vía final común de estos procesos. Posteriormente, hay que identificar a estos mecanismos iniciales desencadenantes de la inestabilidad clínica. La historia natural de los SCA evidencia que nos enfrentamos a una enfermedad crónica, con eventos que persisten más allá de la hospitalización. La evaluación pronóstica de la placa residual es insuficiente para reconocer la persistencia de la inestabilidad vascular o la vulnerabilidad global de los pacientes y no permite predecir la evolución clínica, abriendo el capítulo del riesgo oculto en la angina inestable. Recientes estudios demuestran la participación del sistema inmuno-inflamatorio en la génesis y las complicaciones del proceso aterosclerótico.

Los diferentes tipos celulares que constituyen el aterosclerosis, tales como los macrófagos, las células T, las células endoteliales, los fibroblastos y las células del músculo liso, expresan moléculas CD40 R y CD40 L. Las interacciones entre CD40 R y CD40 L, además de su función en la inmunidad humoral y celular, inducen la producción de una serie de mediadores implicados en la aterogénesis, que incluyen moléculas de adhesión, citoquinas, metaloproteinasas, factores de crecimiento y factores procoagulantes que están normalmente presentes en la placa de aterosclerosis humana. Estudios realizados *in vivo* en ratones con hipercolesterolemia demuestran la importancia del CD40 L en el desarrollo y la progresión de las placas de aterosclerosis. Además, la presencia de CD40 R/CD40 L favorece la creación de una placa de aterosclerosis que en humanos se asocia con un elevado riesgo de ruptura. Estos datos sugieren que la inhibición o el bloqueo del CD40 R puede constituir un objetivo terapéutico¹⁴⁻¹⁶. Los niveles elevados en plasma de CD40 L se correlacionan con un elevado riesgo cardiovascular tanto en pacientes sanos como en aquellos con síndromes coronarios agudos, debido a su influencia en la composición de la placa de aterosclerosis; sin embargo, la inhibición sistémica del CD40 R podría alterar las defensas inmunes del sujeto, por lo que se requeriría de un antagonismo selectivo. El CD40 L modula la aterogénesis, al menos en ratones debido a su expresión primaria en células de estirpe no hematopoyética situada en la placa de aterosclerosis más que la expresión en monolitos, linfocitos T o plaquetas¹⁵.

La particularidad de la utilización del sCD40 L es que está involucrado en la fisiopatología del SCA en forma más o menos activa. Otros marcadores de necrosis miocárdica como la troponina cardiaca, por el contrario, no están relacionados en la fisiopatología de los SCA. Los estadios fisiopatológicos que intervienen en el SCA varían entre una fase inicial, donde predominan las complicaciones resultantes del accidente de placa (trombo coronario), y una fase evolutiva, donde cobra relevancia la persistencia de la placa residual, con la probabilidad de nuevas rupturas. Existen estudios¹⁶⁻¹⁸ que además de confirmar la importancia del sCD40 L en la fisiopatología del SCA, establecen la utilidad de dicho marcador para identificar pacientes con alto riesgo de lesiones ateroscleróticas y trombóticas.

Existe un gran número de estudios que relacionan las interacciones entre el CD40 R y el CD40 L en los procesos cardiovasculares. Así, en el estudio CAPTURE^{19,20}, Heesch et al miden los niveles de sCD40 L en 1.088 pacientes con SCA que previamente se incluyeron en un estudio que evaluaba los beneficios de abciximab (un inhibidor del receptor glucoproteico IIb/IIIa en la plaqueta) en la angioplastia coronaria. Confirman en su estudio que el sCD40 L es un marcador de la activación de las plaquetas y de los procesos trombóticos e inflamatorios que aumentan el riesgo cardiovascular. El valor pronóstico de este marcador fue validado en 626 pacientes con dolor torácico, asociándose niveles elevados de sCD40 L a pacientes con SCA y con alto riesgo de infarto y muerte. Estos autores también estudian el valor del sCD40 L como marcador del efecto terapéutico de la inhibición del receptor glucoproteico IIb/IIIa en los pacientes con SCA. En pacientes con niveles elevados del marcador, el fármaco abciximab redujo el riesgo de accidentes cardiovasculares, mientras que en aquellos que no presentaban niveles elevados de marcador no se observaron beneficios con dicho fármaco.

En los pacientes con enfermedad coronaria inestable, la elevación de los niveles de CD40 L indican un riesgo elevado de complicaciones cardiovasculares e identifica a un subgrupo de pacientes que se beneficiaría de tratamiento antiplaquetario con abciximab. En dicho estudio, el sCD40 L se mostró como un marcador pronóstico de mayor utilidad que la troponina T, la PCR, el TNF- α y las moléculas solubles de adhesión intracelular por ser un marcador de actividad inflamatoria y trombótica en la lesión, que determina el reclutamiento y la activación plaquetaria. Las troponinas constituyen un marcador de necrosis miocárdica pero no se implican en la fisiopatología de los SCA, son marcadores de la propensión del trombo a embolizar y ocasionar necrosis del miocardio. Existe un estudio previo, el OPUS-TIMI 16²¹, que incluía 10.288 pacientes con SCA que tomaban ácido acetilsalicílico y en los que se evaluó el tratamiento con orbofiban por vía oral 50 mg cada 12 horas (un inhibidor de primera generación de la glucoproteína IIb/IIIa). El estudio se interrumpió prematuramente debido a un incremento en la mortalidad a los 30 días en el grupo que tomaba orbofiban debido a una tasa mayor de nuevos casos de trombosis así como de

hemorragias y trombocitopenia. Este hecho contrasta con el notable beneficio de los inhibidores de la glucoproteína IIb/IIIa administrados por vía endovenosa; en el trabajo se dan una serie de explicaciones así como directrices de cara al futuro.

En los últimos años se han venido realizando numerosos estudios encaminados a establecer el valor del CD40 L como marcador con fines de pronóstico, diagnóstico y terapéutico. Schonbeck et al²² observaron que en personas aparentemente sanas, niveles elevados de CD40 L soluble predecían riesgos aumentados de lesiones ateroscleróticas y accidentes cardiovasculares. Aukrust et al²³, en un estudio concluyen que pacientes con angina inestable presentan niveles de sCD40 L elevados, no ocurriendo con pacientes con angina estable o personas sanas. Varo et al²⁴ encontraron que las concentraciones plasmáticas basales elevadas del sCD40 L conllevan un riesgo elevado de eventos cardiovasculares futuros en mujeres sanas. Asimismo, pacientes con angina inestable tienen niveles mayores del sCD40 L que voluntarios sanos o con angina estable, y estos niveles indican riesgo mayor de eventos recurrentes. Por otro lado, los niveles plasmáticos de sCD40 L no se correlacionan completamente con los niveles plasmáticos de PCR y troponina.

Por tanto, en pacientes con SCA los niveles plasmáticos elevados de CD40 L soluble identifican una población de riesgo mayor de muerte e infarto recurrente. La valoración simultánea de troponina (determinación actual para predecir pronóstico) y sCD40 L ofrece información pronóstica complementaria e independiente. Como en muchos estudios, el número de pacientes es relativamente pequeño; se requieren estudios mayores para validar la verdadera utilidad clínica solo o en combinación del sCD40 L en la estratificación de riesgo de pacientes con SCA²⁵⁻²⁷.

Como vemos, existen estudios que han demostrado *in vitro* e *in vivo* un papel del CD40 L y su factor soluble en varios estadios de la aterosclerosis; pretendemos llamar la atención sobre la importancia de este marcador en la fisiopatología de los SCA y la estratificación del riesgo cardiovascular.

Conclusiones

La evaluación de la placa aterosclerótica fija residual es insuficiente para predecir la evolución clínica. Actualmente ya se han realizado estudios demostrando la participación del sistema inmuno-inflamatorio en la génesis y las complicaciones del proceso aterosclerótico, el cual puede considerarse como una fase del proceso inflamatorio. En el futuro, los biomarcadores más específicos de vulnerabilidad serán de gran utilidad en la práctica cotidiana (interleucinas, CD40, etc.) ya que nos ayudarán a evaluar la situación de los pacientes y a establecer un pronóstico tomando como base nuevas formas de estratificar a éstos según el riesgo de padecer un accidente cardiovascular. En este sentido, tanto el sCD40 L como su receptor, CD40 R, están implicados en dicho proceso inflamatorio (están sobreexpresados en las lesiones ateroscleróticas) y contri-

buyen de manera importante al proceso que conduce a la aterosclerosis y a la trombosis, por lo que su determinación tiene un evidente interés a la hora de evaluar el riesgo cardiovascular, al identificar más certeramente al grupo de pacientes en riesgo. La PCR fue utilizada inicialmente en la medición de este fenómeno y comenzó la etapa de la predicción de eventos a través del riesgo serológico. En el futuro, los biomarcadores más específicos de vulnerabilidad serán comunes y de gran utilidad en la práctica cotidiana (interleucinas, CD40, etc.). La incorporación de los mismos posee un mayor impacto clínico, en el grupo poblacional más numeroso, la población de pacientes de riesgo intermedio, donde aún continúa el dilema sobre la predicción de eventos a largo plazo. En los pacientes con alto y bajo riesgo, el papel probablemente sea menor, ya que en la actualidad está más definida la conducta a seguir.

BIBLIOGRAFÍA

- Casas Pina T. Mediadores de inflamación de aterosclerosis: el papel del ligando CD40. En: Actualidades en el Laboratorio Clínico. Madrid: AEFA, 2004;2-12.
- Ross R. Atherosclerosis. An inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 340:115-26.
- Aikawa M, Libby P. Mecanismos principales de estabilización de la placa aterosclerótica mediante reducción lipídica. *Cardiovascular Risk Factor.* 2000; 9:105-18.
- Lee RT, Libby P. The unstable atheroma. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17:1859-67.
- Cotran RS, Briscoe DM. Endothelial cells in inflammation. En: Kelly W, Harris E, Ruddy S, Sledge C, editors. *Textbook of Rheumatology.* Philadelphia: WB Saunders Publishing Co.; 1997. p. 183-98.
- Celentano DC, Frishman WH. Matrix metalloproteinases and coronary artery disease: a novel therapeutic target. *J Clin Pharmacol.* 1997;37:991-1000.
- Taubman MB, Fallon JT, Schechter AD, Giesen P, Mendlowitz M, Fyfe BS, et al. Tissue factor in the pathogenesis of atherosclerosis. *Thromb Haemost.* 1997;78:200-4.
- Rajavashisth TB, Xu XP, Jovinge S, Meisel S, Xu XO, Chai NN, et al. Membrane type I matrix metalloproteinase expression in human atherosclerotic plaques: evidence for activation by proinflammatory mediators. *Circulation.* 1999;99:3103-9.
- Mach F, Schonbeck U, Sukhova GK, Bourcier T, Bonnefoy JY, Pober JS, et al. Functional CD40 ligand is expressed on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implications for CD40-CD40 ligand signaling in atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94:1931-6.
- Martínez Villarreal AM, Montoya Guarín CJ. Moléculas accesorias. *Revista Asociación Colombiana Alergia, Asma e Inmunología.* 2000; 9. Disponible en: <http://www.encolombia.com/medicina/alergia/alergia9200moleculas-vol4.htm>
- Aruffo A, Farrington M, Hollenbaugh D, Li X, Milatovich A, Nonoyama S, et al. The CD40 ligand, gp 39, is defective in activated T cells from patients with X-linked hyper-IgM syndrome. *Cell.* 1993;72:291-300.
- Iglesias R, José Lescano A. Síndromes coronarios agudos. Evaluación del riesgo oculto. *Rev Costarric Cardiol.* 2004;6:31-
- Henn V, Slupsky JR, Grafe M, Anagnostopoulos I, Forster R, Muller-Berghaus G, et al. CD40 ligand on activated platelets triggers and inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature.* 1998;391(6667):591-4.
- Grewal IS, Flavell RA. CD40 and CD154 in cell-mediated immunity. *Annu Rev Immunol.* 1998;16:111-35.
- Bavendiek U, Zirlik A, LaClair S, MacFarlane L, Libby P, Schönbeck U. Atherogenesis in Mice Does Not Require CD40 Ligand From Bone Marrow-Derived Cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:1244-9.
- Schonbeck U, Libby P. The CD40/CD154 receptor/ligand dyad. *Cell Mol Life Sci.* 2001;58:4-43.
- Nannizzi-Alaimo L, Rubenstein MH, Alves VL, Leong GY, Phillips DR, Gold HK. Cardiopulmonary bypass induces release of soluble CD40 ligand. *Circulation.* 2002;105: 2849-54.
- Nannizzi-Alaimo L, Alves VL, Phillips DR. Inhibitory effects of glycoprotein IIb/IIIa antagonists and aspirin on the release of soluble CD40 ligand during platelet stimulation. *Circulation.* 2003;107:1123-8.
- Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, van den Brand MJ, Boersma E, Zeiher AM, et al. For the CAPTURE Study Investigators. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 2003;348:1104-11.
- The capture investigators. Randomised placebo-controlled trial of abciximab before and during coronary intervention in refractory unstable angina: the CAPTURE study. *Lancet.* 1997;349:1429-35.
- Cannon CP, McCabe CH, Wilcox RG, Langer A, Caspi A, Berink P, et al; for the OPUS-TIMI 16 Investigators. Oral Glycoprotein IIb/IIIa Inhibition With Orbofiban in Patients With Unstable Coronary Syndromes (OPUS-TIMI 16) Trial. *Circulation.* 2000;102:149-56.
- Schonbeck U, Varo N, Libby P, Buring J, Ridker PM. Soluble CD40L and cardiovascular risk in women. *Circulation.* 2001;104:2266-8.
- Aukrust P, Muller F, Ueland T, Berget T, Aaser E, Brunsvig A, et al. Enhanced levels of soluble and membrane-bound CD40 ligand in patients with unstable angina. Possible reflection of T lymphocyte and platelet involvement in the pathogenesis of acute coronary syndromes. *Circulation.* 1999;100:614-20.
- Varo N, de Lemos JA, Libby P, Morrow DA, Murphy SA, Nuzzo R, et al. Soluble CD40L: risk prediction after acute coronary syndromes. *Circulation.* 2003;108:1049-52.
- Freedman JE. CD40 ligand assessing risk instead of damage? *N Engl J Med.* 2003;348:1163-5.
- Andre P, Prasad KS, Denis CV, He M, Papalia JM, Hynes RO, et al. CD40L stabilizes arterial thrombi by a beta3 integrin-dependent mechanism. *Nat Med.* 2002;8:247-52.
- Borja Villegas J, Rigau Comas D, Izquierdo Pulido I. Therapeutic criteria in the acute coronary syndrome. *Rev Clin Esp.* 2004;204:389-90.