

ARTICULO

Carlos G. Petrola C.¹, Rubén Naveda ¹, María de los R. Chacón de P ¹, Igor Petrola ²;
María Flores C.^{1,3} , Mariela Pacheco^{1,3}

¹ Unidad de Investigaciones en Inmunología Clínica, Universidad de Carabobo,

² Unidad de Cuidados Coronarios, Ciudad Hospitalaria Enrique Tejera, ³Unidad de Inmunología Clínica, Ciudad Hospitalaria Enrique Tejera

Trabajo financiado por el CDCH.- UC

Correspondencia: Carlos Petrola

Correo electrónico: carlospetrola@cantv.net

Recibido: Abril 2005 **Aprobado:** noviembre 2005

RESUMEN

Interleucina 6 en pacientes con cardiopatía Isquémica

Los niveles séricos de Interleucina 6 (IL-6) reflejan tanto la intensidad de la inflamación oculta de la placa ateromatosa, como su vulnerabilidad para erosionar y romperse; también se han relacionado con las concentraciones en sangre de parámetros de lesión miocárdica, indicadores de la magnitud de la necrosis cardiaca en el infarto del miocardio, como son las Creatinacinas (CK) y Creatinacinas fracción MB (CKMB). El objetivo de este estudio fue determinar las concentraciones de IL-6, CK y CKMB en pacientes con Cardiopatía Isquemica. Se estudiaron 30 pacientes, divididos en dos grupos: Grupo I: 22 pacientes con infarto del miocardio, 86,4% Masculinos, 72,3% >50 años. Grupo II: 8 pacientes con angina inestable, 25% Masculinos, 62,5% >50 años. y un grupo control: 30 individuos sanos, equivalentes en edad y sexo. Las concentraciones de IL-6, CK y CKMB se determinaron mediante ELISA comercial (DIACLONE – HUMAN OLYMPUS). La concentración de IL-6 en el grupo total de pacientes fue de $27,5 \pm 31,3$, mientras que en el grupo control: $1,6 \pm 0,7$ (pg/mL) ($P < 0,05$) En el grupo I: $29,8 \pm 34,0$ ($P < 0,001$ vs. Control) Grupo II: $21,9 \pm 23,2$ ($P < 0,05$ vs control)). No se encontraron diferencias significativas con respecto a valores de CK y CKMB. **Conclusion:** se confirma que los pacientes con angina inestable e infarto del miocardio tienen niveles séricos de IL-6 elevados.

Palabras clave: Interleucina 6, infarto de miocardio, angina Inestable, aterosclerosis.

ABSTRACT

Serum Levels of Interleukin 6 in Patients with a Diagnosis of Ischemic Cardiopathy

Serum levels of Interleukin 6 (IL-6) reflect the intensity of inflammation hidden in the atheromatous plaque, and also their vulnerability to erosion and risk for breaking; they have also been associated with blood concentrations of myocardial lesion parameters, and with indicators of the magnitude of heart necrosis in acute myocardial infarction. These are: Creatinkinase (CK) and Creatinkinase fraction MB (CKMB). The objective of this study was to determine the concentrations of IL-6, CK and CKMB in patients with Ischemic Cardiopathy. 30 patients were studied, and divided into two groups: Group I: 22 patients with acute myocardial infarction, 86.4 % male, and 72.3% over 50 years of age. Group II: 8 patients with unstable angina, 25% male, 62.5% over 50 years of age, and a control group: 30 healthy individuals, matched for age and sex. Concentrations of IL-6, CK and CKMB were determined by commercial ELISA (DIACLONE-HUMAN OLYMPUS). Concentration of IL-6 in the total group of patients was 27.5 ± 31.3 , while in the control group: 1.6 ± 0.7 (pg/ml.) ($P < 0.05$). In group I: 29.8 ± 34.0 ($P < 0.001$ vs. Control) Group II: 21.9 ± 23.2 ($P < 0.05$ vs. control)). There were no significant differences regarding CK and CKMB values. **Conclusion:** We confirm that patients with unstable angina and acute myocardial infarction have higher serum levels of IL-6.

Key words: Interleukin 6, acute myocardial infarction, unstable angina, atherosclerosis.

INTRODUCCION

La interleucina 6 (IL-6) representa un factor clave implicado en la patogénesis y curso clínico de la enfermedad vascular aterosclerótica (1-5). En este sentido, su concentración sérica puede reflejar la intensidad de la inflamación oculta de la placa ateromatosa y su vulnerabilidad para erosionar y romperse (6). Una vez generada por las células endoteliales, los macrófagos, los linfocitos y adipocitos, se une a su receptor IL-6R, estimula el reclutamiento de leucocitos y promueve la respuesta inflamatoria por las células endoteliales (2,3). Se han reportado concentraciones séricas elevadas en pacientes, tanto con infarto de miocardio como con angina inestable y su ascenso se ha asociado con un pronóstico desfavorable, considerándose como un fuerte predictor de eventos subsecuentes (2 - 9).

Se ha demostrado que en los pacientes con enfermedad isquémica cardiaca hay un incremento del Factor Estimulante de la Colonia Macrófago (MCSF), lo que indica una posible asociación positiva entre la intensidad de la respuesta inflamatoria y la magnitud de la necrosis cardiaca. En este orden de ideas, las concentraciones séricas de IL-6 se

han relacionado con los niveles en sangre de los denominados parámetros de necrosis miocárdica: Troponina I, Creatinacinasasa (CK), Creatinacinasasa fracción MB (CKMB) y Factor de Necrosis Tumoral- α (TNF- α), los cuales reflejan la extensión de la necrosis cardiaca en los pacientes con infarto, pero los resultados son contradictorios (3,10)

El objetivo de este estudio fue determinar la concentración sérica de IL-6, en pacientes con Cardiopatía Isquémica, hospitalizados en la Unidad de Cuidados Coronarios del Servicio de Cardiología de la Ciudad Hospitalaria "Dr. Enrique Tejera", comparándolos con los de un grupo de individuos aparentemente sanos, y relacionándolos con la concentración plasmática de la enzimas cardiacas CK y CKMB.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población y muestra. Se estudiaron pacientes con diagnóstico de cardiopatía isquémica, hospitalizados en la Unidad de Cuidados Coronarios del Servicio de Cardiología de la Ciudad Hospitalaria "Dr. Enrique Tejera" (CHET) entre marzo y junio del 2004. La muestra estuvo conformada por 30 pacientes (21 hombres y 9 mujeres) con edades entre los 34 y 75 años. El criterio de inclusión fue infarto de miocardio o angina inestable con inicio del cuadro clínico en un lapso no mayor de 48 horas antes de la toma de muestra, ausencia de diabetes, valvulopatía o cualquier enfermedad sistémica.

Diseño. Se establecieron dos grupos de estudio de acuerdo con el diagnóstico de ingreso, I: 22 pacientes con infarto de miocardio y II: 8 pacientes con diagnóstico de angina inestable. El diagnóstico de infarto o angina fue realizado con base en criterios clínicos, electrocardiográficos y bioquímicos o enzimáticos. El grupo control fue conformado por 30 individuos aparentemente sanos, equivalentes en edad y sexo al grupo en estudio, sin antecedentes de enfermedad cardiovascular o accidentes arteriales isquémicos. Se descartó la presencia de embarazo por interrogatorio y se excluyeron las pacientes con antecedentes de abortos a repetición.

El estudio se realizó de acuerdo con las Normas de las Buenas Prácticas Médicas en Investigación Clínica y se obtuvo el consentimiento informado por escrito de cada paciente. Se completó una ficha de recolección de datos para cada paciente en donde se recogió: edad, sexo, diagnóstico, tiempo de evolución del cuadro, resultados del electrocardiograma y valores séricos de CK y CKMB para el momento de la admisión en el estudio.

Determinación de IL-6, CK y CKMB: La cuantificación de CK y CKMB se realizó mediante un ensayo comercial Olympus. Los niveles normales de referencia fueron 38 a 174 UL para la CK y de 2.3 a 9.5 UL para la CKMB.

La concentración sérica de IL-6 fue medida por ELISA (Human IL-6 DIACLONE.) de acuerdo con las instrucciones de procedimiento.

Para el procesamiento estadístico se evaluó la distribución normal de los datos (Prueba de ajuste de Kolmogorov – Smirnov); se empleó el test “t de Student”, para estimar las diferencias de medias (grupos independientes). Se usó la prueba de Levene para la comprobación de similitud de varianzas, empleando la fórmula de Welch-Satterhwaite para el cálculo de los grados de libertad. Para el análisis de las relaciones entre las variables IL-6, CK y CKMB en los pacientes con infarto de miocardio, se empleó la técnica de correlación de Pearson. Para efecto de la significación estadística se utilizó como criterio un error de azar de 0,05 o menor.

RESULTADOS

La distribución por edad y sexo para los pacientes de los grupos I (infarto de Miocardio) y II (Angina inestable) y para el control, se presenta en la Tabla 1. Hubo un predominio del sexo masculino entre los pacientes con infarto (86,4%), mientras que para los pacientes con angina inestable, el sexo predominante fue el femenino (75,0%). Todos los pacientes menores de 50 años fueron masculinos en el grupo I, mientras que en el grupo II, todos los casos menores de 50 años fueron femeninos. En el grupo total estudiado, el 70% fueron masculinos, con un 50% mayor de 50 años. En el grupo I el nivel promedio de CK fue de $830,43 \pm 198$ UL y de CKMB de $39,65 \pm 36.4$ UL. Todos los pacientes del Grupo II tuvieron niveles de CK y CKMB dentro de límites normales.

Tabla I. Distribución de los pacientes según edad y sexo por grupo en estudio

Edad (años)	Femenino F (%)*	Masculino F (%)	Total (%)
Grupo I			
Menos de 50	0	6 (100)	6 (27,7)
50 o más	3 (18,8)	13 (81,2)	16 (72,3)
Total	3 (13,6)	19 (86,4)	22 (100)
Test exacto de Fisher = 0,357 (p = 0,357 – ns)			
Grupo II			
Menos de 50	3 (100)	0 (0)	3 (37,5)
50 o más	3 (60)	2 (40,0)	5 (62,5)
Total	6 (75)	2 (25)	8 (100)
Test exacto de Fisher = 0,364 (p = 0,364– ns)			
Control			
Menos de 50	1 (12,5)	7 (87,7)	8 (26,7)
50 o más	9 (40,9)	13 (59,1)	22 (73,3)
Total	10 (33,3)	20 (66,7)	30 (100)
Test exacto de Fisher = 0,154 (p = 0,154 – ns)			

Los niveles de IL-6, fueron significativamente mas elevados en el grupo total de pacientes estudiados que en el grupo control ($27,5 \pm 31,3$ vs. $1,6 \pm 0,7$ pg/mL). Lo mismo cuando fueron comparados aisladamente los grupos I y II, con el grupo control (Fig. 1); La concentración en sangre de la IL-6 no fue significativamente diferente entre los pacientes del grupo I y los del grupo II: $29,8 \pm 34,0$ y $21,9 \pm 23,2$ pg/mL, respectivamente. No se encontró una correlación significativa entre la concentración sérica de IL-6 y los valores de CK y CKMB (nivel promedio de CK: $830,43 \pm 198$ UL, y de CKMB: $39,65 \pm 36,4$ UL), ya que los valores del coeficiente de Spearman fueron respectivamente 0,343 ($p > 0,05$) y 0,249 ($p > 0,05$).

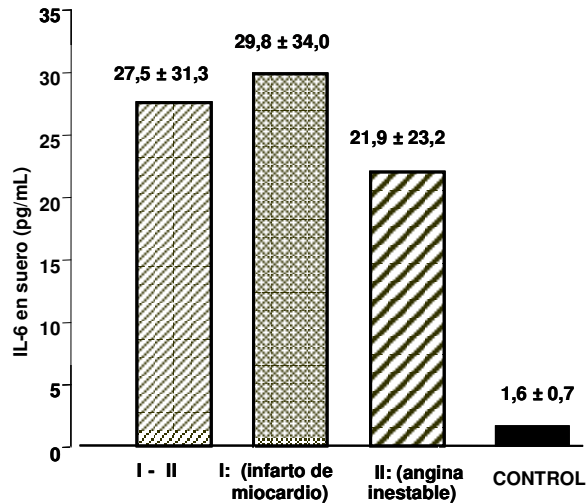


Fig. 1 Valores séricos de IL – 6 según grupos en estudio. I – II vs control: $t = 4,549$; $p < 0,001$. Pacientes con angina inestable vs control: $t = 2,463$; $p < 0,05$. Pacientes con infarto vs pacientes con angina inestable: $t = 0,608$; $p = 0,548$ (ns)

DISCUSIÓN

Se ha demostrado que el endotelio vascular inflamado produce tanto Factor de Necrosis Tumoral- α como IL-1; ésta última es capaz de inducir la síntesis y liberación por las células endoteliales del miocardio isquémico, de IL-6 y de su receptor (sIL-6R) (3). Adicionalmente, la IL-6 puede ser liberada autocrinamente por los macrófagos de la placa aterosclerótica vulnerable, retroalimentando la activación de los mismos, con la consecuente secreción de enzimas proteolíticas y proteinasas que hidrolizan tanto el colágeno como la elastina, condicionando una mayor vulnerabilidad y favoreciendo la posible ruptura de la capa fibrosa en la placa de la arteria lesionada (11). En el presente trabajo, los pacientes con infarto de miocardio o angina inestable, tienen niveles séricos de IL-6 superiores a los de un grupo control (Figura 1), coincidiendo con otros autores, que describen esta elevación en pacientes con síndromes coronarios agudos (3,12,13). El aumento de IL-6 puede reflejar una disfunción endotelial, ligada al proceso inflamatorio progresivo en la pared del vaso, por lo que se ha sugerido que la IL-6 es un marcador independiente de inflamación de la placa ateromatosa (12-15). Trabajos publicados recientemente demuestran un aumento de la concentración de IL-6 en las siguientes 24 horas del inicio del infarto, en la sangre proveniente de la zona infartada, que se relaciona con la magnitud de la necrosis y el tamaño de la placa, y se acompaña de activación de macrófagos, lo que sugiere una participación directa de los fenómenos inflamatorios en la ruptura de la placa aterosclerótica y en la subsiguiente oclusión de la arteria coronaria (16).

Los resultados del presente estudio confirman la relación existente entre la isquemia severa y la necrosis del miocardio, con la concentración de IL-6,

siendo en todos los pacientes, con infarto o con angina inestable, superiores a los del grupo control. Sin embargo, en la angina inestable no esta clara la causa del aumento de los niveles de IL-6, ya que no hay necrosis miocárdica evidente: esto podría deberse a una inflamación localizada en la pared vascular o en el miocardio, como resultado de isquemia recurrente o micronecrosis, pues en los pacientes con angina inestable, la concentración de proteínas de fase aguda y de citocinas, se relaciona con riesgo elevado de infarto o muerte súbita (3,6,9,17,18).

En relación con el infarto de miocardio, el tamaño de la necrosis puede cuantificarse en base a la concentración de CK y CKMB: ambas se elevan en las primeras 4 a 8 horas del infarto para normalizarse a las 48-72 horas (19,20). En el presente trabajo se evidenció una tendencia al aumento de los niveles de IL-6 en la medida que los niveles tanto de CK como de CKMB se incrementan, no obstante no hubo correlación estadística significativa. En este punto los trabajos son contradictorios, pues aunque se ha publicado una relación entre los niveles de IL-6 y la concentración de parámetros séricos de daño miocárdico como Troponina T, CK y CKMB (3, 21) para otros autores no existe tal conexión (12). Sin embargo, dado que la IL-6 activa macrófagos e induce su propia producción por estas células, es posible que haya una conexión positiva entre IL-6, activación de macrófagos, producción de enzimas proteolíticas, y ruptura de la placa aterosclerótica e infarto de miocardio, y por ende la concentración de IL-6, refleja el grado de daño miocárdico, que se traduciría en un incremento de las enzimas CK y CKMB. Sin embargo, es necesario profundizar las investigaciones y aumentar el número de pacientes estudiados para conocer exactamente la relación entre los niveles de IL-6 y la concentración sérica de estas enzimas.

En conclusión, en el presente trabajo se ha demostrado la relación existente entre los niveles séricos de IL-6 y la enfermedad isquémica miocárdica aguda, por cuanto los pacientes con diagnostico de angina inestable o infarto de miocardio presentaron niveles por encima de los reportados para el grupo control, con diferencia estadísticamente significativa. No se pudo encontrar relación significativa entre los niveles de IL-6 y las enzimas CK y CKMB.

BIBLIOGRAFIA

1. Blake GJ, Ridker PM. Inflammatory bio-markers and cardiovascular risk prediction. *J Intern Med* 2002; 252: 283-294
2. Kanda T, Takahashi T. Interleukin-6 and cardiovascular diseases. *Jap Heart J*. 2004; 45: 183-193
3. Ito T, Ikeda U. Inflammatory Cytokines and Cardiovascular Disease. *Curr Drug Targets* 2003; 2: 257-259.
4. Dominguez Rodriguez A, Abreu Gonzalez P, Garcia MJ, de la Rosa A, Vargas M, Marrero F. Ritmo luz/oscuridad de las citocinas proinflamatorias en el infarto agudo del miocardio. *Rev Esp Cardiol* 2003; 56: 555-560.

5. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420: 868-874.
6. Bossowska A, Kiersnowska-Rogowska B, Bossowski A, Galar B, Sowinski P. Cytokines in patients with ischaemic heart disease or myocardial infarction. *Kardiol Pol.* 2003; 59: 105-114
7. Biasucci LM, Liuzzo G, Fantuzzi G. Increasing levels of interleukin (IL)-1 Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events. *Circulation* 1999; 99: 2079-2084
8. Rusell T. Thrombin, Inflammation, and Cardiovascular Disease. *Chest* 2003; 124: 49-57
9. Gabriel AS, Ahnve S, Wretling B, Martinsson A. IL-6 and IL-1 receptor antagonist in stable angina pectoris and relation of IL-6 to clinical findings in acute myocardial infarction. *J Intern Med* 2000; 248: 61-66
10. Tashiro H, Shimokawa H, Yamamoto K, Momohara M, Tada H, Takeshita A. Altered plasma levels of cytokines in patients with ischemic heart disease. *Coron Artery Dis* 1997; 8: 143-147
11. Funayama H, Ishikawa SE, Kubo N, Katayama T, Yasu T, Saito M. Increases in interleukin-6 and matrix metalloproteinase-9 in the infarct-related coronary artery of acute myocardial infarction. *Circ J.* 2004; 68: 451-454
12. Wang YN, Che SM, Ma AQ. Clinical significance of serum cytokines IL-1 beta, sIL-2R, IL-6, TNF-alpha and IFN-gamma in acute coronary syndrome. *Chin Med Sci J.* 2004; 19: 120-124
13. Aggarwal A, Schneider DJ, Terrien EF, Glibert KE, Dauerman HL. Increase in interleukin-6 in the first hour after coronary stenting: an early marker of the inflammatory response. *J Thromb Thrombolysis* 2003; 15: 25-31
14. Pan JP, Liu TY, Chaing SC, Lin YK, Chou CY, Chan WL y col. The value of plasma levels of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in predicting the severity and prognosis in patients with congestive heart failure. *J Chin Med Assoc.* 2004; 67: 222-228
15. Pan JP, Liu TY, Chaing SC, Lin YK, Chou CY, Chan WL y col. The value of plasma levels of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in predicting the severity and prognosis in patients with congestive heart failure. *J Chin Med Assoc.* 2004; 67: 222-228
16. Funayama H, Ishikawa SE, Kubo N, Katayama T, Yasu T, Saito M. Increases in interleukin-6 and matrix metalloproteinase-9 in the infarct-related coronary artery of acute myocardial infarction. *Circ J.* 2004; 68: 451-454
17. Ikeda U, Ito T, Shimada K. Interleukin-6 and acute coronary syndrome. *Clin Cardiol* 2001; 24: 701-704
18. Cusack M, Marber M, Lambiase P, Bucknall C, Redwood S. Systemic inflammation in unstable angina is the result of myocardial necrosis. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 1197-1207
19. Topol E, Van de Werf F. Acute Myocardial Infarction: Early Diagnosis and Management. Topol, E. *Textbook of Cardiovascular Medicine.* 2da Edición. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2002. p.385-419

20. Antman L, Braunwald E. Infarto Agudo de Miocardio. Braunwald E, Fauci AS, Casper D, Hausser S., Longo D, Jameson JL. Harrison, Principios de Medicina Interna. 15va Edicion. Ciudad de Mexico: McGraw Hill Interamericana; 2001. p.1629-1643
21. Koukkunen H, Penttila K, Kemppainen A, Halinen M, Penttila I, Rantanen T y col. C-reactive protein, fibrinogen, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in the prognostic classification of unstable angina pectoris. Ann Med 2001; 33: 37-47