

Citomegalovirus y aterosclerosis. ¿Existe alguna relación?

Mauricio Sarmiento, M.D.¹, María Teresa Rugeles, Ph.D.²

RESUMEN

El papel de las infecciones en la aterosclerosis ha sido ampliamente estudiado. El citomegalovirus es uno de los agentes infecciosos que podría estar implicado. Varios estudios epidemiológicos muestran la posible asociación entre el virus y la aterosclerosis, mientras que otros no han encontrado tal asociación. Se ha encontrado en ADN viral en células arteriales, principalmente en endotelio y músculo liso. Estudios desarrollados en modelos animales y en cultivos celulares han postulado mecanismos moleculares que explican cómo el virus podría participar en el desarrollo de las lesiones ateroscleróticas. Esta revisión muestra los estudios más importantes publicados en relación con esta hipótesis.

Palabras clave: Citomegalovirus. Aterogénesis. Aterosclerosis. Enfermedades cardiovasculares.

Las enfermedades cardiovasculares (EC), ocasionadas por la formación y desarrollo de procesos ateroscleróticos, representan una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en los países industrializados, causando 40% de las muertes. En Colombia, esta mortalidad es apenas superada por las muertes violentas¹. Se estima que cerca de 950.000 estadounidenses mueren por EC cada año, lo cual representa una muerte cada 33 segundos. Además, cerca de 61 millones de personas viven con complicaciones ocasionadas por infartos al miocardio, lo que ocasiona que estas enfermedades sean una de las principales causas de incapacidad laboral. Esta situación genera importantes implicaciones económicas. En el año 2001 el costo del manejo de las personas con EC en EUA fue de 300 billones de dólares².

Se ha logrado establecer que la EC es de etiología multifactorial. Factores tales como la hipertensión, la obesidad o la diabetes se han relacionado claramente con el desarrollo de EC en la mayoría de las personas. Sin embargo, se ha observado que muchos pacientes

sin factores de riesgo conocidos desarrollan EC³. Esta situación ha motivado el desarrollo de estudios para definir otros factores que pudieran estar implicados en la patogénesis de la EC. Se ha sugerido que la infección por diversos agentes virales o bacterianos pudiera estar participando en el desarrollo de la aterosclerosis. Los más estudiados han sido el CMV y *Chlamydia pneumoniae*. El CMV ha sido y continúa siendo uno de los principales candidatos. Diversos estudios soportan el papel de CMV en la aterogénesis.

Esta revisión busca exponer, de manera breve, los estudios más significativos en la investigación de la infección por CMV y su papel en la aterosclerosis.

Los resúmenes de las publicaciones revisadas se obtuvieron de las bases de datos del Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos (Medline, PubMed). La selección de los artículos se basó en el adecuado tamaño de muestras, la calidad y validez de las técnicas de laboratorio utilizadas, la pertinencia de sus resultados y accesibilidad al medio de publicación (impreso o electrónico).

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Uno de los primeros informes que estableció la posible asociación entre la infección viral y eventos ateroscleróticos fue publicado en 1973 por Fabricant *et al.*⁴ Este estudio trataba de establecer el papel de un herpesvirus felino en la litiasis renal. Durante su desarrollo se observó que las células infectadas contenían altos niveles de cristales de colesterol, mientras que las células control no producían estos cristales. Los autores postularon que este hallazgo no sólo sería importante en la urolitiasis, sino también en las enfermedades degenerativas vasculares.

Años más tarde, en 1978, los mismos autores publicaron un estudio que confirmaba de forma más directa esta observación. La investigación fue llevada a cabo en animales divididos en 4 grupos. Los dos primeros grupos estaban conformados por pollos alimentados con dietas de bajo contenido de colesterol, infectados o no con el herpesvirus de la enfermedad de Marek, el cual genera aterosclerosis severa en estos animales. Los otros dos grupos estaban conformados por pollos alimentados con dietas de alto contenido de colesterol infectados o no con el mismo virus. Estos animales fueron sacrificados en un tiempo estándar y

1. Investigador, Grupo de Inmunovirología, Laboratorio de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín. msarmiento@virologia.udea.edu.co

2. Coordinadora, Grupo de Inmunovirología, Laboratorio de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín.

Recibido para publicación agosto 12, 2003 Aprobado para publicación diciembre 19, 2003

sus arterias estudiadas por medios histopatológicos. Ellos encontraron que los animales infectados con el virus, sin importar si la dieta contenía altos o bajos niveles de colesterol, desarrollaron placas ateroscleróticas. Sin embargo, los pollos que estaban infectados y consumieron dietas ricas en colesterol desarrollaron una aterosclerosis más severa. Los autores señalan que el hallazgo que los herpesvirus induzcan aterosclerosis, podría ayudar al entendimiento de la patogénesis de las enfermedades vasculares en los humanos⁵.

En 1983, Melnick *et al.*⁶ publicaron un estudio realizado en biopsias de 132 pacientes sometidos a endarterectomía de arteria carótida. Por medio de técnicas de inmunofluorescencia encontraron que 25% de las biopsias contenían antígenos de CMV. Sin embargo, por medio de microscopía electrónica, no se encontraron partículas virales en replicación en las células positivas por inmunofluorescencia, con lo cual sugirieron que estos efectos podrían ser consecuencia de la latencia viral en el endotelio y no de la replicación viral activa⁶.

Estos estudios sirvieron de guía para el proceso investigativo de las enfermedades virales y su papel en la aterosclerosis. Sus resultados motivaron a muchos investigadores a realizar trabajos que podrían ser clasificados como estudios de localización de partículas virales en células vasculares, estudios de tipo serológico, que pretendían establecer si los pacientes con enfermedad cardiovascular tenían altos títulos de anticuerpos para CMV y estudios *in vitro* para tratar de establecer mecanismos moleculares que explicarían los efectos de la infección viral por CMV en las células ateroscleróticas.

Estudios de localización de partículas virales. Desde el hallazgo de los antígenos virales en biopsias carotídeas llevada a cabo por Melnick *et al.*⁶, se

han publicado varios artículos donde se informa CMV en tejido vascular.

Hu *et al.*⁷, descubrieron por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ADN de CMV en arterias coronarias y carotídeas de pacientes fallecidos por causas isquémicas (86% vs. 6.7% en el grupo control, $p < 0.05$). Chen *et al.*⁸ encontraron en 75 tejidos arteriales vasculares de pacientes sometidos a revascularización quirúrgica por anastomosis femoro-poplíteas, la presencia de productos de genes inmediatamente tempranos y tardíos de CMV. Además, observaron que el ADN viral se ubica principalmente en células endoteliales y de la íntima vascular. Este hallazgo que muestra que las células endoteliales son uno de los sitios de latencia del virus⁸, fue también observado por Shi *et al.*⁹ Esto es de fundamental importancia en el proceso de formación del ateroma pues la latencia viral en células endoteliales le permite al CMV un acceso fácil al torrente circulatorio, a citoquinas inflamatorias, a lipoproteínas y a factores de crecimiento¹⁰.

Lin *et al.*¹¹ encontraron secuencias de ácidos nucleicos virales por PCR en 32% de muestras arteriales vasculares de pacientes diabéticos sometidos a amputación quirúrgica por gangrena de miembros inferiores. Este hallazgo indica que el papel del CMV en el proceso arteriosclerótico, puede estar relacionado con propiedades biológicas del virus como la latencia y persistencia y con el estado inmunológico del huésped.

Estudios serológicos. Varios estudios epidemiológicos han intentado relacionar la infección por CMV con el desarrollo de aterosclerosis. Al realizar la revisión sistemática de dichos estudios se encuentra una gran heterogeneidad en sus resultados. Algunos estudios han mostrado razones de disparidad de dos o más veces, en relación con la infección viral y la enfermedad

cardiovascular, mientras que otros han fallado en encontrar tal asociación.

En 1987, Adam *et al.*¹² publicaron los resultados de un estudio realizado en 157 pacientes que iban a ser sometidos a cirugía vascular por aterosclerosis (revascularización) y un grupo control de personas con altos niveles de colesterol sanguíneo. Este estudio buscaba determinar los niveles de anticuerpos contra CMV y virus de herpes simple 1 y 2. Se encontró que la prevalencia de anticuerpos contra CMV fue mayor en el grupo de pacientes quirúrgicos (90% vs. 70%, $p < 0.001$) y que en ellos se encontraron niveles más altos de anticuerpos que en los controles. Las diferencias encontradas entre los dos grupos estudiados con respecto a los virus del herpes simple no fueron significativas.

Zhou *et al.*¹³ realizaron un estudio prospectivo en 75 personas sometidas a endarterectomía. Antes de realizarse el procedimiento quirúrgico, los pacientes se clasificaron según la presencia o ausencia de anticuerpos para CMV, además, fueron seguidos por angiografía durante 6 meses. Se encontró que los pacientes con serología positiva para CMV desarrollaron tasas más altas de re-estenosis que los pacientes con serología negativa (43% vs. 8% respectivamente, $p < 0.002$). La conclusión de este estudio fue que la infección previa con CMV es un factor de riesgo para desarrollar estenosis post endarterectomía.

Hasta este momento era claro que la infección por CMV era un factor de riesgo para re-estenosis después de endarterectomía, pero no se había demostrado que sucediera lo mismo en la enfermedad aterosclerótica primaria. El estudio de Adam *et al.*¹² fue rápidamente debatido, pues la muestra no era lo suficientemente grande y no se utilizó un método muy sensible para la detección de anticuerpos. Entonces, Adler *et al.*¹⁴ en 1998 publicaron los resultados

del trabajo realizado en 900 individuos sometidos a angiografía diagnóstica. Por medio de métodos más sensibles de cuantificación, encontraron que 84% de los pacientes con enfermedad coronaria tenían anticuerpos contra CMV, vs. 81% de los pacientes sin enfermedad coronaria. Esta asociación no fue significativa ($p=0.4615$). La conclusión fue que la infección previa con CMV no es un factor de riesgo para la enfermedad coronaria primaria. Sin embargo este estudio perdió credibilidad pues se encontró que sus resultados no eran totalmente válidos, pues las personas incluidas en el grupo control tuvieron alguna indicación clínica para ser sometidas a la realización de la angiografía y probablemente tenían algún grado de aterosclerosis, que no fuera evidente en el examen.

Ridker *et al.*¹⁵ estudiaron 643 individuos sanos por medio de detección de anticuerpos anti CMV e informaron que la prevalencia de infección fue similar en los pacientes que desarrollaron EC y en los individuos que no desarrollaron enfermedad en ningún momento. Los resultados de este estudio indican que la presencia de anticuerpos contra el CMV no es un marcador de riesgo para la enfermedad cardiovascular. Bartels *et al.*¹⁶ realizaron un estudio encontrando anticuerpos contra CMV y antígenos virales por medio de PCR e informaron que no había asociación entre CMV y la enfermedad cardiovascular.

Entre 1999 y 2001 se publicaron los resultados del estudio ARIC (The Atherosclerosis Risk in Communities). Este ambicioso estudio prospectivo buscó determinar los factores que influían en las enfermedades ateroscleróticas en un gran número de personas pertenecientes a cuatro poblaciones norteamericanas y sirvió de base para múltiples investigaciones. Uno de sus objetivos fue aclarar el papel de la ex-

posición previa a agentes virales tales como CMV y virus herpes simple en la EC. En total, se analizaron muestras representativas de la cohorte completa (15.792 personas) incluida en el estudio ARIC. El estudio mostró que la población con altos niveles de anticuerpos para CMV tenía un riesgo relativo de 1.76 de desarrollar EC. Este riesgo relativo fue mayor en los pacientes diabéticos (RR: 9.15, $p<0.05$). Los autores concluyen que altos niveles de anticuerpos contra CMV están asociados con EC sobre todo en pacientes con condiciones susceptibles, como es el caso de los diabéticos¹⁷.

Blankenberg *et al.*¹⁸ realizaron un estudio prospectivo, donde analizaron la relación entre la presencia de anticuerpos contra CMV, los niveles altos de interleuquina 6 (IL 6) y la mortalidad futura en 1.134 sujetos sometidos a angiografía coronaria. Se realizó un seguimiento clínico y angiográfico durante 3 años en promedio y se encontró que 70 pacientes murieron por causas cardiovasculares. Al realizar el análisis multivariado se encontró que hubo una correlación independiente entre los títulos de anticuerpos contra CMV y la concentración de IL 6 con respecto a la futura mortalidad por causas cardíacas (razón de disparidad 3.2, intervalo de confianza de 1.4 a 7.3, $p<0.05$). Los autores indican que estos resultados son consistentes con la hipótesis que argumenta que, la respuesta inmune que induce el CMV, incluye una respuesta inflamatoria que contribuye, independientemente, al riesgo de mortalidad por futuros eventos cardiovasculares.

Wetherell *et al.*¹⁹ realizaron un estudio prospectivo en 121 pacientes con infarto miocárdico (IM) y controles sin enfermedad cardiovascular durante 5 años. Informaron que no se encontró asociación entre IM y la presencia de anticuerpos contra el CMV.

Actualmente, la evidencia epidemiológica sobre la infección por el CMV y la EC es relativamente pequeña y controversial. Además, es difícil concluir apropiadamente, pues los estudios no son totalmente comparables porque son realizados en muestras pequeñas y las definiciones de los parámetros clínicos son ampliamente variables. Los resultados de los estudios epidemiológicos no son confiables, pero pueden indicar alguna asociación entre el CMV y la EC en un determinado número de pacientes, como son los sometidos a procedimientos invasivos para el tratamiento de las EC, en diabéticos o con algún compromiso del sistema inmune.

Estudios biológicos. Diversos estudios han tratado de esclarecer la interacción virus-célula en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular. Desde las primeras observaciones realizadas por Fabricant y Melnick⁴⁻⁶, grupos de investigadores han buscado establecer los posibles mecanismos virales que afectan la función endotelial. A continuación se realiza una breve revisión de algunos de los estudios más relevantes.

El reclutamiento de leucocitos es uno de los eventos iniciales para la formación de la placa aterosclerótica. Las células encontradas en la placa incluyen monocitos y linfocitos. Un gran número de moléculas de adhesión y receptores son expresados en la membrana de las células endoteliales, lo que genera una gran actividad inmune. Varios estudios han buscado establecer como el CMV puede interactuar y potenciar la respuesta inmune en el sitio de formación del ateroma.

La producción de radicales libres de oxígeno (RLO) en las células vasculares infectadas con CMV, en los primeros minutos postinfección, contribuye a la activación del factor de transcripción nuclear (NFkB), el cual estimula la expresión de diversos genes celulares, incluyendo citoquinas y moléculas de

adhesión, importantes en el proceso inflamatorio de la aterogénesis²⁰. La inducción en la producción de RLO por parte del CMV, es mediada en parte por la cicloxigenasa 2 (COX 2). Con base en estos hallazgos, se han utilizado inhibidores de la COX 2, como la aspirina y la indometacina para reducir la producción de RLO y la expresión génica del CMV. Esto revela que, además de las propiedades antiinflamatorias y antiagregantes de la aspirina, también tiene propiedades antivirales contra el CMV en la aterosclerosis²¹. Investigaciones acerca del efecto de inhibidores selectivos de la COX 2 (MF tricíclico) han mostrado disminución de la replicación viral en modelos *in vitro*²². A partir de la observación que las mujeres postmenopáusicas presentan mayor número de eventos cardiovasculares, se logró establecer que los estrógenos a concentraciones fisiológicas tienen efectos antivirales contra el CMV por disminución de la producción de radicales libres, de la activación del NFκB, de la expresión génica inducida por éste y por inhibición de la replicación viral. Esto podría estar relacionado con la menor incidencia de aterosclerosis en mujeres en comparación con los hombres; este hallazgo podría servir como un recurso terapéutico²³.

Entre los mecanismos fundamentales para que se desarrolle el infiltrado leucocitario observado en la placa aterosclerótica se encuentra la quimiotaxis. Este proceso que involucra interacciones secuenciales adhesivas entre los glóbulos blancos y el endotelio, inicia con el rodamiento celular y continúa con un complejo proceso de adhesión y diapédesis; diversas moléculas participan en este proceso. El CMV se ha asociado con el aumento de la expresión de estas moléculas en las células infectadas. Se ha encontrado que ratones infectados con CMV murino tienen expresión aumentada de la proteína

quimiotáctica de monocitos MCP-1, que genera grandes focos de inflamación local y necrosis en las placas ateroscleróticas²⁴. Además, se ha establecido que el CMV aumenta la expresión de varias moléculas de adhesión en la membrana celular endotelial, como ICAM 1, VCAM 1, VAP 1, E selectina y antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad²⁵⁻²⁸. De esta manera, el estímulo continuo por parte del CMV causaría un incremento en la respuesta inmune generando un influjo celular inflamatorio, que acompañado con una gran concentración de lipoproteínas circulantes y persistencia de factores de riesgo conocidos como el tabaquismo o la obesidad, durante un tiempo prolongado, produciría la enfermedad vascular. La migración celular aumentada también es promovida por el receptor viral de quimoquinas US28. La expresión de este receptor en presencia de quimoquinas como RANTES o MCP-1 es suficiente para promover la migración celular; al inhibirse la expresión de US28, se logra reducir en gran parte la respuesta inmune en la placa aterosclerótica²⁹. El entendimiento de estos mecanismos de adhesión y quimiotaxis, se ha constituido en un potencial blanco terapéutico en el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares aceleradas por el CMV³⁰. También se ha informado que los genes inmediatamente tempranos del CMV incrementan significativamente la proliferación de las células del músculo liso, proceso tiempo dependiente, facilitado por el aumento de la expresión del receptor del factor de crecimiento derivados de las plaquetas (PDGFβ)³¹. La infección por CMV en las células vasculares eleva la producción de las proteínas codificadas por los genes inmediatamente tempranos 72 y 84 del CMV. Estas proteínas, tienen la capacidad de modular la actividad de la proteína p53, alterando su función reguladora de la

apoptosis, pudiendo esto explicar, en parte, la acumulación celular en la placa aterosclerótica³².

Una vez iniciado el proceso inflamatorio en el sitio de formación del ateroma, se despliega uno de los eventos más importantes en el desarrollo de la placa aterosclerótica: la acumulación de las células espumosas. Estas células, derivadas de macrófagos, contienen una gran cantidad de lípidos de tipo LDL (lipoproteína de baja densidad). La célula espumosa expresa un gran número de receptores "Scavenger" en su membrana, los cuales elevan la captación de LDL. En cultivos de células de músculo liso aórtico infectados por CMV se determinó mayor captación de LDL fluorescente que las células sin infectar. También se estableció que las células infectadas presentaban gran expresión de ARN mensajero que codificaba para el receptor "Scavenger". El punto máximo de expresión de este ARN, coincidía con el punto máximo de expresión de los genes inmediatamente tempranos de CMV. Los datos de este estudio indican que la infección por CMV amplía la captación celular de LDL y la expresión en membrana del receptor "Scavenger" y que este efecto se debe, en parte, a la actividad de los genes inmediatamente tempranos de CMV³³. El incremento en la captación de lipoproteínas y alteraciones en el balance de los lípidos ocasionado por la infección activa por CMV, también se ha demostrado *in vivo*³⁴. La terapia con estatinas en pacientes con dislipidemias ha mostrado disminuir la mortalidad, por su efecto hipolipemiante y por la disminución de la producción de proteína C reactiva en pacientes con presencia de anticuerpos IgG anti CMV³⁵.

Una vez instaurado el proceso aterosclerótico y si la enfermedad avanza sin tratamiento, en su curso natural, hacia la síntesis incrementada de factor tisular y hacia la expresión de trombina,

moléculas de adhesión, citoquinas y de factores de crecimiento en la membrana celular, se desarrollan adaptaciones celulares que, en últimas, causan disfunción endotelial y elevación de la coagulabilidad local. El CMV también se ha implicado en esta fase avanzada de la aterogénesis. La infección por CMV y otros patógenos como *C. pneumoniae*, declina la respuesta dilatante arterial de la acetilcolina, generando así una marcada disminución del flujo sanguíneo en los órganos afectados³⁶. Los fenómenos trombóticos son complicaciones generadas en placas ateroscleróticas inestables que generan isquemia tisular. Se ha demostrado que el CMV altera el balance hemostático, comportándose como un agente procoagulante, pues al parecer, la superficie viral contiene fosfolípidos que interactúan con los factores Xa y Va, incrementando la capacidad de formación de trombina³⁷. También se ha observado *in vitro* que la infección por CMV aumenta la expresión de factor tisular y del factor von Willebrand, lo que sumado a la desestabilización de la placa aterosclerótica desencadena trombosis local^{38,39}. En humanos se ha informado el mecanismo protrombótico viral *in vivo*^{40,41}.

En conclusión, hay una evidencia considerablemente amplia, basada en estudios moleculares y de detección de partículas virales sustentando la hipótesis que argumenta que el CMV puede estar involucrado en el desarrollo de la aterosclerosis⁴²⁻⁴⁴. Es importante señalar que, aunque hay varios estudios de tipo epidemiológico que no han encontrado relación alguna entre la enfermedad viral y la aterosclerosis, también hay numerosas observaciones que si hallan esta relación. Sin embargo, hay varios estudios moleculares que puntualizan algunos de los mecanismos virales importantes en la patogénesis de la enfermedad cardiovascular (Cua-

Cuadro 1
Resumen de los efectos de la infección por citomegalovirus importantes en el desarrollo de aterogénesis

Efecto en las células infectadas	Resultado pro-aterosclerótico.
Incremento en la producción de radicales libres de oxígeno en las células de músculo liso vascular	Activación de NFκB Incremento en la producción de moléculas quimiotácticas
Expresión aumentada de moléculas de adhesión (ICAM)	Mayor adhesión de células inflamatorias
Expresión del receptor viral US 28	Unión de quimioquinas Migración celular incrementada
Incremento en la expresión de MCP-1	Aumento en la atracción de monocitos
Incremento de la expresión del receptor "Scavenger" en membrana	Elevación en la captación de LDL Incremento en la acumulación de lípidos en la célula de músculo liso vascular
Expresión del receptor de PDGFβ	Proliferación de células de músculo liso vascular
Inhibición de la actividad de la proteína p53	Inhibición de la apoptosis en la placa aterosclerótica.
Alteración de la función endotelial	Pobre respuesta a vasopresores y vasodilatadores.
Fosfolípido pro-coagulante en la superficie viral.	Activación de la cascada de la coagulación
Expresión aumentada de factor tisular y factor von Willebrand.	Fenómenos trombóticos en la placa aterosclerótica

dro 1). La infección por CMV de las células endoteliales probablemente inicia o promueve el desarrollo de aterosclerosis que, sumado con factores de riesgo tales como la hipertensión arterial, la obesidad o la diabetes, entre otros, generan la enfermedad clínicamente evidente. Aunque los estudios moleculares realizados hasta ahora no explican el mecanismo exacto por el cual el virus está implicado en el desarrollo de la aterosclerosis, si muestran que el CMV tiene un papel importante. Esta revisión presenta una cantidad de información suficiente para justificar investigaciones que, en algún momento, sustenten el desarrollo de experimentos clínicos bien diseñados y así tratar por medio de terapia antiviral

específica a pacientes que tengan riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares en las que se encuentre implicado el CMV.

SUMMARY

The role of infections in the pathogenesis of arteriosclerosis has been studied. Cytomegalovirus is one of several infectious agents that have been implicated. Has been detected viral DNA in endothelial and arterial smooth muscle cells. Epidemiologic studies indicate a possible association between atherosclerosis and cytomegalovirus, while others did not find this. Others studies in animal models and cell culture suggested molecular mechanisms by

which the virus might participate in the development of arteriosclerotic lesions. This review assesses the most important information published in relation to this hypothesis.

Keywords: Cytomegalovirus.
Arterogenesis. Arteriosclerosis.
Cardiovascular diseases.

REFERENCIAS

- Mejía A, Quijano J. Angina estable. En Senior J (ed.). *Manual de normas y procedimientos en cardiología*. Medellín: Editorial Universidad de Antioquia; 2000. p. 1-17.
- CDC. State-specific prevalence of selected chronic disease-related characteristics. Behavioral Risk Factor Surveillance System, 2001. In Surveillance Summaries. MMWR [en línea] 2003 August 22 [fecha de acceso 30 de agosto de 2003]; 52 (N° SS-8). URL disponible en: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ss5208a1.htm>
- Abrams J, Pasternak C. Changing the natural history of coronary artery disease. *Cardiol Clin* 1996; 14: 1-17.
- Fabricant C, Krook L, Gillespie JH. Virus-induced cholesterol crystals. *Science* 1973; 181: 566.
- Fabricant J, Fabricant M, Litrenta M, Minick C. Virus-induced atherosclerosis. *J Exp Med* 1978; 148: 335-340.
- Melnick JL, Petrie BL, Dressman GR, Burek J, McCollum H, DeBakey MI. Cytomegalovirus antigen within human arterial smooth muscle cells. *Lancet* 1983; 2: 644-647.
- Hu W, Liu J, Niu S, Liu M, Shi H, Wei L. Prevalence of CMV in an arterial wall and leukocytes in patients with atherosclerosis. *Chin Med J* 2001; 114: 1208-1210.
- Chen R, Xiong S, Yang Y, Fu W, Wang Y, Ge J. The relationship between human cytomegalovirus infection and atherosclerosis development. *Mol Cell Biochem* 2003; 249: 91-96.
- Shi Y, Tokunaga O. Herpesvirus (HSV-1, EBV and CMV) infections in atherosclerotic compared with non-atherosclerotic aortic tissue. *Pathol Internal* 2002; 52: 31-39.
- Kas Deelen A, Harmsen M, de Maar E, van Son W, The T. A sensitive method for quantifying cytomegalic endothelial cells in peripheral blood from cytomegalic infected patients. *Clin Diagn Lab Immunol* 1998; 5: 622-626.
- Lin T, Chen W, HY Chen, Wang PW, HL Eng. Increased incidence of cytomegalovirus but not *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerotic lesions of arteries of lower extremities from patients with diabetes mellitus undergoing amputation. *J Clin Pathol* 2003; 56: 429-432.
- Adam E, Probstfeld J, Burek J, et al. High levels of cytomegalovirus antibody in patients requiring vascular surgery for atherosclerosis. *Lancet* 1987; 2: 291-293.
- Zhou Y, Leon M, Waclawiw M, et al. Association between prior cytomegalovirus infection and the risk of reestenosis after coronary atherectomy. *N Engl J Med* 1996; 334: 624-630.
- Adler S, Hur J, Wang J, Vetrovec G. Prior infection with cytomegalovirus is not a major risk factor for angiographically demonstrated coronary artery atherosclerosis. *J Infect Dis* 1998; 177: 209-212.
- Ridker P, Hennekens C, Stampfer M, Wang F. Prospective study of herpes simplex virus, cytomegalovirus and the risk of future myocardial infarction and stroke. *Circulation* 1998; 98: 2796-2799.
- Bartels C, Maass M, Bein G, et al. Association of serology with the endovascular presence of *Chlamydia pneumoniae* and cytomegalovirus in coronary artery and vein graft disease. *Circulation* 2000; 101: 137-141.
- Sorlie P, Nieto J, Adam E, Folsom A, Shahar E, Massing MI. A prospective study of cytomegalovirus, herpes simplex virus 1 and coronary heart disease. *Arch Intern Med* 2000; 160: 2027-2032.
- Blankenberg S, Rupprecht H, Bickel C, et al. Cytomegalovirus infection with interleukin 6 response predicts cardiac mortality in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 103: 2915-2921.
- Witherell HL, Smith KL, Friedman GD, et al. C-reactive protein, *Helicobacter pylori*, *Chlamydia pneumoniae*, cytomegalovirus and risk of myocardial infarction. *Ann Epidemiol* 2003; 13: 170-177.
- Speir E, Shibutani T, Yu ZX, Ferrans VJ, Epstein SE. Role of reactive oxygen intermediates in cytomegalovirus gene expression and in the response of human smooth muscle cells to viral infection. *Circ Res* 1996; 79: 1143-1152.
- Speir E, Yu ZX, Ferrans V, Huang E, Epstein SE. Aspirin attenuates cytomegalovirus infectivity and gene expression mediated by cyclooxygenase-2 in coronary artery smooth muscle cells. *Circ Res* 1998; 83: 210-216.
- Rott D, Zhu J, Burnett MS, Zhou YF, Zalles-Ganlev A, Ogunmakinwa J, Epstein SE. Effects of MF tricyclic, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor on atherosclerosis progression and susceptibility to cytomegalovirus replication in apolipoprotein-E knockout mice. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 1812-1819.
- Speir E, Yu ZX, Takeda K, Ferrans VJ, Cannon R. Antioxidant effect of estrogen on cytomegalovirus-induced gene expression in coronary artery smooth muscle cells. *Circulation* 2000; 102: 2990-2996.
- Froberg K, Adams A, Seacotte N, Parker-Thornburg J, Kolatukudy P. Cytomegalovirus infection accelerates inflammation in vascular tissue overexpressing monocyte chemoattractant protein 1. *Circ Res* 2001; 89: 1224-1230.
- Martelius T, Salmi M, Wu H, Bruggeman C, Höckerstedt K, Jalkanen S, et al. Induction of vascular adhesion protein 1 during liver allograft rejection and concomitant cytomegalovirus infection in rats. *Am J Pathol* 2000; 157: 1229-1237.
- Kloover JS, Soots AP, Kauppinen HO. Rat cytomegalovirus infection in kidney allograft recipients is associated with increased expression of intracellular adhesion molecule 1, vascular adhesion molecule 1, and their ligands leukocyte function antigen 1 and very late antigens in the graft. *Transplantation* 2000; 69: 2641-2647.
- Sindre H, Haraldsen G, Beck S, et al. Human intestinal endothelium shows high susceptibility to cytomegalovirus and altered expression of adhesion molecules after infection. *Scand J Immunol* 2000; 51: 354-360.
- van Dorp WT, Jonges E, Bruggeman CA, Daha MR, van Es LA, van Der Woude. Direct induction of MHC class I but not class II, expression on endothelial cells by cytomegalovirus infection. *Transplantation* 1989; 48: 469-472.
- Streblov DN, Soderberg-Naucler C, Vieira J, et al. The human cytomegalovirus chemokine receptor US28 mediates vascular smooth muscle cell migration. *Cell* 1999; 99: 511-520.
- Strenblow DN, Orloff SL, Nelson JA. The HCMV chemokine receptor US 28 is a potential target in vascular disease. *Curr Drug Targets Infect Disord* 2001; 1: 151-158.
- Zhou YF, Yu ZX, Wanishawad C, Shou M, Epstein SE. The immediate early gene products of human cytomegalovirus increase vascular smooth muscle cell migration, proliferation, and expression of PDGF beta-receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 256: 608-613.
- Tanaka K, Zou JP, Takeda K, et al. Effects of human cytomegalovirus immediate-early proteins on p53 mediated apoptosis in coronary artery smooth muscle cells. *Circulation* 1999; 99: 1656-1659.
- Zhou Y, Guetta E, Yu ZX, Finkel T, Epstein SE. Human cytomegalovirus increases modified low density lipoprotein uptake and scavenger receptor mRNA expression in vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1996; 98: 2129-2137.
- Szakaradkiewicz A, Bogaczvanska-Staniewicz J, Torlinski L, Wal M. Cytomegalovirus infection and atherosclerosis. *Med Sci Monit* 2002; 8: 104-107.
- Horne B, Muhlestein J, Carlquist J, et al. Statin therapy interacts with cytomegalovirus seropositivity and high C reactive protein in reducing mortality among patients with angiographically significant coronary disease.

- Circulation* 2003; 107: 258-263.
36. Prasad A, Zhu J, Halcox J, Waclawiw M, Epstein SE, Quyyumi A. Predisposition to atherosclerosis by infections. Role of endothelial dysfunction. *Circulation* 2002; 106: 184-190.
37. Pryzdial E, Wright J. Prothrombinase assembly on an enveloped virus. Evidence that cytomegalovirus surface contains procoagulant phospholipid. *Blood* 1994; 84: 3749-3757.
38. Bowman J, Visseren F, Bosch M, Bouter K, Diepersloot R. Procoagulant an inflammatory response of virus-infected monocytes. *Eur J Clin Invest* 2002; 32: 759-766.
39. Schambeck C, Hinney K, Gleixner J, Keller F. Venous thrombo-embolism and associated high plasma factor VIII levels: linked to cytomegalovirus infection? *Thromb Haemost* 2000; 83: 511.
40. Youd P, Main J, Jackson E. Cytomegalovirus infection and thrombosis: a causative association? *J Infect* 2003; 46: 141-143.
41. Abgueguen P, Delbos V, Chennebault J, Payan C, Pichard E. Vascular thrombosis and acute cytomegalovirus infection in immunocompetent patients: report of 2 cases and literature review. *CID* 2003; 36: 134-139.
42. González J. Papel del *Helicobacter pylori* y del citomegalovirus en la aterosclerosis coronaria. *Medicas UIS* 1999; 13: 285-289.
43. Degré M. Has cytomegalovirus infection any role in the development of atherosclerosis. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8: 191-195.
44. Reinhardt B, Minisini R, Mertens T. Opinion article: cytomegalovirus infection is a risk factor in atherogenesis. *Herpes* 2002; 9: 21-23.