USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ESCUELA DE DOCTORADO
INTERNACIONAL DE LA USC

Vanesa
Alende Castro

Tesis doctoral

# Marcadores de inflamación en la población general adulta: Relación con factores comunes (demográficos, metabólicos y de estilo de vida) y su influencia en la determinación de valores de referencia

Santiago de Compostela, 2023

Programa de doctorado en Investigación Clínica en Medicina

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

TESIS DE DOCTORADO

# Marcadores de inflamación en la población general adulta: Relación con factores comunes (demográficos, metabólicos y de estilo de vida) y su influencia en la determinación de valores de referencia

Vanesa Alende Castro

**ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA**

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA CLÍNICA**

SANTIAGO DE COMPOSTELA
2023

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

**DECLARACIÓN DEL AUTOR/A DE LA TESIS**

Dña. **Vanesa Alende Castro**

Título de la tesis: **Marcadores de inflamación en la población general adulta: Relación con factores comunes (demográficos, metabólicos y de estilo de vida) y su influencia en la determinación de valores de referencia**

Presento mi tesis, siguiendo el procedimiento adecuado al Reglamento y declaro que:

1) La tesis abarca los resultados de la elaboración de mi trabajo.
2) De ser el caso, en la tesis se hace referencia a las colaboraciones que tuvo este trabajo.
3) Confirmo que la tesis no incurre en ningún tipo de plagio de otros autores ni de trabajos presentados por mí para la obtención de otros títulos.
4) La tesis es la versión definitiva presentada para su defensa y coincide la versión impresa con la presentada en formato electrónico.

Y me comprometo a presentar el Compromiso Documental de Supervisión en el caso que el original no esté depositado en la Escuela.

En **Santiago de Compostela**, **08 de marzo de 2023**.

**Firma electrónica**

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS

MARCADORES DE INFLAMACIÓN EN LA POBLACIÓN GENERAL ADULTA: RELACIÓN CON LOS FACTORES COMUNES (DEMOGRÁFICOS, METABÓLICOS Y DE ESTILO DE VIDA) Y SU INFLUENCIA EN LA DETERMINACIÓN DE VALORES DE REFERENCIA

D. Arturo González Quintela

INFORMA:

Que la presente tesis, se corresponde con el trabajo realizado por Dª. Vanesa Alende Castro, bajo mi dirección/tutorización, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

De acuerdo con lo indicado en el Reglamento de Estudios de Doctorado, declara también que la presente tesis doctoral es idónea para ser defendida en base a la modalidad de COMPENDIO DE PUBLICACIONES, en los que la participación del doctorando/a fue decisiva para su elaboración y las publicaciones se ajustan al Plan de Investigación.

En Santiago de Compostela, 09 de Marzo de 2023

Fdo. Arturo González Quintela

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS

MARCADORES DE INFLAMACIÓN EN LA POBLACIÓN GENERAL ADULTA: RELACIÓN CON LOS FACTORES COMUNES (DEMOGRÁFICOS, METABÓLICOS Y DE ESTILO DE VIDA) Y SU INFLUENCIA EN LA DETERMINACIÓN DE VALORES DE REFERENCIA

D. Francisco Gude Sampedro

INFORMA:

Que la presente tesis, se corresponde con el trabajo realizado por Dª. **Vanesa Alende Castro**, bajo mi dirección/tutorización, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

De acuerdo con lo indicado en el Reglamento de Estudios de Doctorado, declara también que la presente tesis doctoral es idónea para ser defendida en base a la modalidad de COMPENDIO DE PUBLICACIONES, en los que la participación del doctorando/a fue decisiva para su elaboración y las publicaciones se ajustan al Plan de Investigación.

En Santiago de Compostela, 09 de Marzo de 2023

Fdo. Francisco Gude Sampedro

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS

MARCADORES DE INFLAMACIÓN EN LA POBLACIÓN GENERAL ADULTA: RELACIÓN CON LOS FACTORES COMUNES (DEMOGRÁFICOS, METABÓLICOS Y DE ESTILO DE VIDA) Y SU INFLUENCIA EN LA DETERMINACIÓN DE VALORES DE REFERENCIA

D. Bernardo Sopeña Pérez Arguelles

INFORMA:

Que la presente tesis, se corresponde con el trabajo realizado por Dª. **Vanesa Alende Castro**, bajo mi dirección/tutorización, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

De acuerdo con lo indicado en el Reglamento de Estudios de Doctorado, declara también que la presente tesis doctoral es idónea para ser defendida en base a la modalidad de COMPENDIO DE PUBLICACIONES, en los que la participación del doctorando/a fue decisiva para su elaboración y las publicaciones se ajustan al Plan de Investigación.

En Santiago de Compostela, 09 de Marzo de 2023

Fdo. Bernardo Sopeña Pérez Arguelles

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR/TUTOR DE LA TESIS

MARCADORES DE INFLAMACIÓN EN LA POBLACIÓN GENERAL ADULTA: RELACIÓN CON LOS FACTORES COMUNES (DEMOGRÁFICOS, METABÓLICOS Y DE ESTILO DE VIDA) Y SU INFLUENCIA EN LA DETERMINACIÓN DE VALORES DE REFERENCIA

D. Arturo González Quintela

INFORMA:

Que la presente tesis, se corresponde con el trabajo realizado por Dª. **Vanesa Alende Castro**, bajo mi dirección/tutorización, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

De acuerdo con lo indicado en el Reglamento de Estudios de Doctorado, declara también que la presente tesis doctoral es idónea para ser defendida en base a la modalidad de COMPENDIO DE PUBLICACIONES, en los que la participación del doctorando/a fue decisiva para su elaboración y las publicaciones se ajustan al Plan de Investigación.

En Santiago de Compostela, 09 de Marzo de 2023

Fdo. Arturo González Quintela

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

## ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES

Los estudios de la presente tesis fueron revisados y aprobados por el Comité Regional de Ética

(Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia / Comité de Ética de la Investigación Santiago-Lugo), código CEIC 2010-315 (adjunto como Anexo). Todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

## FINANCIACIÓN

El estudio ha sido financiado por proyectos (PI16/01404 y PI16/01395), la Red Española de Trastornos Adictivos (RD16/0017/0018), y la Red Española de Investigación en Actividades Preventivas y Promoción de la Salud en Atención Primaria (RD16/0007/0006), todos ellos del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII, Ministerio de Sanidad de España), y fondos FEDER.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

## CONFLICTOS DE INTERESES

El autor y los directores de esta tesis declaran no tener conflictos de interés en relación con los contenidos de la presente tesis doctoral.

Fdo. Vanesa Alende Castro

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

## AGRADECIMIENTOS

***"Para juzgar cosas grandes y nobles,***
***es necesario poseer un alma igual de grande y noble''***
**(*Montaigne*)**

Son muchas las personas a las que quiero agradecer el apoyo, la ayuda y el esfuerzo que me han prestado durante estos años de realización de Tesis.

A mis directores de Tesis, los Dres. Arturo González Quintela, Bernardo Sopeña Pérez-Arguelles y Francisco Gude Sampedro, por enseñarme, guiarme y transmitirme la ilusión por investigar. Arturo, mi mención especial para ti, sabes que este trabajo no habría sido posible sin tu esfuerzo y dedicación en él.

A mi familia por el apoyo y la comprensión que han tenido por el tiempo que esta tesis "les ha robado".

A Manuela, por su ayuda y disponibilidad con esta línea de investigación.

A mis actuales compañeros del Hospital do Salnés, por hacer agradable la rutina diaria.

Aprovecho para disculparme si me he olvidado de alguien, no era mi intención.

A todos vosotros, gracias.

**"*El buen médico trata la enfermedad;***
***el gran médico trata al paciente que tiene la enfermedad*"**
**(Sir William Osler)**

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

## RESUMEN

**Antecedentes**: Apenas existen estudios que analicen la distribución de marcadores inflamatorios en la población general adulta y sus posibles variaciones con factores comunes.

**Objetivos**: Investigar, en la población general adulta sin aparente enfermedad inflamatoria, la posible influencia de factores comunes (demográficos, metabólicos y de estilo de vida) en los niveles de los marcadores de inflamación de uso más habitual, como VSG, PCR sérica e IL-6 sérica, así como en los niveles séricos de sIL2-R, un nuevo marcador inflamatorio. Investigar, en la misma población, los factores asociados con las discordancias entre los resultados de la VSG y la PCR sérica, los dos marcadores de uno clínico más común en el momento actual.

**Métodos**: Estudio observacional, transversal, de 1499 sujetos adultos (edad mediana 52 años, intervalo 18-91 años, 44.8% varones), sin aparente enfermedad inflamatoria, seleccionados aleatoriamente del municipio de A-Estrada (Pontevedra, España). Las variables de exposición de recogieron mediante las medidas antropométricas, de cuestionarios administrados por sanitario y de tests de laboratorio pertinentes. Las variables de efecto (marcadores de inflamación) se determinaron mediante técnicas estandarizadas en el laboratorio clínico de referencia.

**Resultados y conclusiones principales**: (1) La edad se asocia con un incremento de la VSG y de la IL-6. El efecto de la edad en la PCR es menor. (2) El sexo se asocia con diferentes niveles de



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

marcadores de inflamación, pero de modo no uniforme: el sexo femenino se asocia con mayores niveles de VSG, el sexo masculino se asocia con mayores niveles de IL-6 y no se demuestra efecto independiente del sexo en los niveles de PCR. (3) El consumo regular de alcohol ligero o moderado se asocia con unos menores niveles de VSG, PCR e IL-6, en comparación con los bebedores ocasionales y abstemios. (4) El tabaquismo activo se asocia con unos mayores niveles de VSG, PCR e IL-6. (5) El ejercicio físico regular moderado y alto se asocia con unos menores niveles de VSG y no se demuestra un efecto independiente del mismo sobre la PCR o la IL-6. (6) La obesidad y los trastornos metabólicos con ella relacionados se asocian con unos mayores niveles de VSG, de IL-6 y de PCR, de la que es el principal determinante. (7) El aumento de PCR con cifras normales de VSG se asocia con un mayor índice de masa corporal, mientras que el aumento de VSG con cifras normales de PCR se asocia con la edad. (8) En lo que respecta a la sIL-2R, nuevo marcador en desarrollo, de modo análogo a algunos de los marcadores clásicos, sus niveles séricos aumentan con la edad, son mayores en varones, en fumadores y en sujetos con obesidad, al igual que son menores en bebedores ligeros de alcohol. A diferencia de los marcadores clásicos, los niveles de sIL-2R son mayores en los sujetos con atopia.



USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

## ABREVIATURAS UTILIZADAS

| | |
|---|---|
| AEGIS | *A Estrada Glycation and Inflammation Study* |
| APR | *Acute Phase Reactants* |
| BMI | *Body Mass Index* |
| COVID-19 | *Coronavirus Disease*-2019 |
| CRP | *C-Reactive Protein* |
| EPOC | Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica |
| ESR | *Erythrocyte Sedimentation Rate* |
| GAMLSS | *Generalized Additive Models for Location Scale and Shape* |
| HLH | *Haemophagocytic Lymphohistiocytosis* |
| IL-6 | *Interleukin-6*/Interleucina-6 |
| IL-8 | *Interleukin-8*/ interleucina-8 |
| IMC | Indice de Masa Corporal |
| LAK | *Lymphokine-activated killer cells* |
| MCV | *Mean Corpuscular Volume* |
| MET | *Metabolic Equivalents of Task* |
| MS | *Metabolic Syndrome* |



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

| | |
|---|---|
| MVPA | *Moderate-to-vigorous Physical Activity* |
| PAMP | *Pathogen-Associated Molecular Pattern* |
| PCR | Proteína C Reactiva |
| RFA | Reactantes de Fase Aguda |
| sIL2r | *Soluble IL-2 Receptor* |
| TLR | *Toll-like receptor* |
| TNFα | *Tumoral Necrosis Factor* alpha |
| VCM | Volumen Corpuscular Medio |
| VSG | Velocidad de Sedimentación Globular |



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN ..... 31

1.1. Justificación racional de la unidad y la coherencia temática y metodológica de la tesis ..... 31

1.2. La respuesta de fase aguda ..... 33

1.3. La velocidad de sedimentación globular (VSG) ..... 35

1.4. La proteína C reactiva (PCR) sérica ..... 37

1.5. La determinación de citocinas séricas ..... 39

1.6. Factores frecuentes de exposición y su relación con la inflamación ..... 44

1.7. Justificación general de los trabajos de la presente tesis ..... 48

2. OBJETIVOS 53

3. METODOLOGÍA GENERAL ..... 57

3.1. Diseño del estudio y población de estudio ..... 57

3.2. Aspectos éticos ..... 59

3.3. Determinaciones principales ..... 59

3.3.1. Valoración del consumo de alcohol ..... 59

3.3.2. Valoración del tabaquismo ..... 59

3.3.3. Definición de anormalidades metabólicas ..... 60

3.3.4. Valoración de la actividad física ..... 60

3.3.5. Definición de atopia ..... 61

3.3.6. Determinación de la velocidad de sedimentación globular ..... 62

3.3.7. Determinación de la proteína C reactiva (PCR) ..... 63

3.3.8. Determinación de interleucina-6 (IL-6) ..... 63



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.3.9. Determinación del receptor soluble de la interleucina-2 (sIL-2R) .....63
3.4. Métodos estadísticos .....63

4. DISCUSIÓN GENERAL.....67
4.1. Justificación general.....67
4.2. Conclusiones comentadas .....68
4.2.1. La edad se asocia con un incremento de la VSG y de la IL-6. El efecto de la edad en la PCR es menor. .....68
4.2.2. El sexo se asocia con diferentes niveles de marcadores de inflamación, pero de modo no uniforme: el sexo femenino se asocia con mayores niveles de VSG, el sexo masculino se asocia con mayores niveles de IL-6 y no se demuestra efecto independiente del sexo en los niveles de PCR. .....70
4.2.3. El consumo regular de alcohol ligero o moderado se asocia con unos menores niveles de VSG, PCR e IL-6 en comparación con los bebedores ocasionales y abstemios. .....72
4.2.4. El tabaquismo activo se asocia con unos mayores niveles de VSG, PCR e IL-6.....74
4.2.5. El ejercicio físico regular moderado y alto se asocia con unos menores niveles de VSG y no se demuestra un efecto independiente del mismo sobre la PCR o la IL-6.....75
4.2.6. La obesidad y los trastornos metabólicos con ella relacionados se asocian con unos mayores niveles de VSG, de IL-6 y de PCR, de la que es el principal determinante. .....77
4.2.7. El aumento de PCR con cifras normales de VSG se asocia con un mayor índice de masa corporal, mientras que el aumento de VSG con cifras normales de PCR se asocia con una mayor edad.....78
4.2.8. En lo que respecta a la sIL-2R, nuevo marcador en desarrollo, de modo análogo a algunos de los marcadores clásicos, sus niveles séricos aumentan con la edad, son mayores en varones, en fumadores y en sujetos con obesidad, al igual que son menores en bebedores ligeros de alcohol. A diferencia de los marcadores clásicos, los niveles de sIL-2R son mayores en los sujetos con atopia. .....80



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.3. Fortalezas y limitaciones de los estudios ..... 83
4.3.1. Fortalezas de los estudios ..... 83
4.3.2. Limitaciones de los estudios ..... 84

5. CONCLUSIONES ..... 91

6. FUENTES REFERENCIADAS ..... 95

7. COPIA DE LAS PUBLICACIONES ..... 119

ARTÍCULO 1. Factors influencing erythrocyte sedimentation rate in adults: New evidence for an old test. ..... 121

ARTÍCULO 2 C-reactive protein versus erythrocyte sedimentation rate: Implications among patients with no known inflammatory conditions. ..... 133

ARTÍCULO 3 Serum concentrations of interleukin-6 (IL-6) in the general adult population: Possible implications for anti-IL-6 therapy in SARS-Cov-2 infection and IL-6-related diseases. ..... 145

ARTÍCULO 4 Factors influencing serum concentrations of soluble interleukin-2 receptor: a general adult population study. ..... 151

ARTÍCULO 5 Vigencia de la velocidad de sedimentación globular (VSG). ..... 161

ANEXO I Dictamen del Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia ..... 167

ANEXO II Lista de verificación STROBE ..... 169

ANEXO III Permiso de las editoriales ..... 173

ANEXO IV Contribución del autor ..... 179



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# 1

# Introducción

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. JUSTIFICACIÓN RACIONAL DE LA UNIDAD Y LA COHERENCIA TEMÁTICA Y METODOLÓGICA DE LA TESIS

Esta tesis doctoral "*Marcadores de inflamación en la población general adulta: relación con factores comunes (demográficos, metabólicos y de estilo de vida) y su influencia en la determinación de valores de referencia*" consta de cinco artículos diferenciados, publicados en revistas científicas indexadas, que son coherentes entre sí para los objetivos de la tesis.

El **primer artículo** ("*Factors influencing erythrocyte sedimentation rate in adults. New evidence for an old test*"), investiga la distribución de la velocidad de sedimentación globular (VSG) en una muestra aleatoria de la población general adulta. La VSG es el marcador de inflamación más clásico, con más de 100 años de antigüedad, pero sigue teniendo vigencia clínica. El presente estudio aporta nueva información sobre las variaciones de la VSG en relación con variables comunes sociodemográficas, de estilo de vida y metabólicas, en relación con el título de la tesis. Asimismo, plantea nuevos valores referencia en relación con variables básicas.

El **segundo artículo** ("*C-reactive protein versus erythrocyte sedimentation rate: Implications among patients with no known inflammatory conditions*") tuvo como objetivo investigar los factores asociados con las posibles discordancias entre los resultados de la proteína C reactiva (PCR, el otro marcador inflamatorio de uso más común actualmente en la clínica) y la VSG en adultos, utilizando la misma población de estudio anterior.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

El **tercer artículo** ("*Serum concentrations of interleukin-6 (IL-6) in the general adult population: possible implications for anti-IL-6 therapy in SARS-Cov-2 infection and IL-6-related diseases*") y el **cuarto artículo** ("*Factors influencing serum concentrations of soluble interleukin-2 receptor: a general adult population study*") tuvieron como objetivo describir las concentraciones séricas de citocinas como marcadores inflamatorios en la misma población. El primero de ellos (IL-6) empieza a ser de uso común en la clínica, como ha demostrado la reciente pandemia por coronavirus, y el segundo de ellos (sIL-2R) comienza a estar en implementación clínica. La relación entre estos marcadores (VSG, PCR y citocinas séricas) se esquematiza en la figura siguiente (Figura 1).

El **quinto artículo** ("*Vigencia de la velocidad de sedientación globular*") es un editorial encargado a los autores en el que se hace un resumen y contextualización actual de los resultados anteriores y la experiencia previa en la literatura, con especial énfasis en la vigencia de un marcador tradicional, como la VSG.

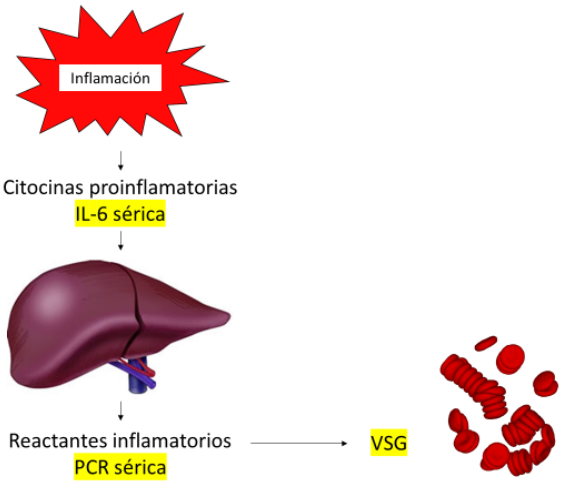


**Figura 1.** Esquema simplificado de la relación entre los principales marcadores de inflamación de uso clínico estudiados en esta tesis. La inflamación local o sistémica induce la liberación de citocinas proinflamatorias al torrente circulatorio. Éstas, particularmente la IL-6, estimulan en el hígado la síntesis de proteínas conocidas en



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

conjunto con la denominación de "reactantes", entre los que se encuentra la proteína C reactiva (PCR). Estos reactantes, especialmente el fibrinógeno, son los responsables principales de disipar las cargas negativas de la superficie de los hematíes que en condiciones normales se oponen a su agregación, favoreciendo así el aumento de la velocidad de sedimentación globular (VSG). Así, en este esquema, la IL-6 sería un marcador inflamatorio "*de primera mano*", la PCR sería un marcador "*de segunda mano*" y la VSG sería un marcador "*de tercera mano*". En términos históricos, sin embargo, el orden sería inverso: la VSG fue el primer marcador en ser utilizado, la PCR lo fue a continuación y el uso clínico de las citocinas séricas, como la IL-6, es mucho más reciente (de hecho, no suele formar parte de los marcadores más habituales, que siguen siendo la VSG y la PCR). En la presente tesis se investigan estos marcadores en una población general adulta y su relación con factores frecuentes (demográficos, de estilo de vida y metabólicos). La figura es de elaboración propia de los autores.

**Rol de la doctoranda**: La doctoranda es autora preferente (primera autora) de los cinco artículos. Como tal, la doctoranda ha sido la encargada de la exploración estadística de la base de datos AEGIS (*A-Estrada Glycation and Inflammation Study*) asi como de la redacción de los artículos mencionados, bajo la supervisión de los directores de la tesis.

## 1.2. LA RESPUESTA DE FASE AGUDA

La inflamación es la consecuencia de la respuesta del organismo ante cualquier tipo de agresión. El daño puede ser causado tanto por un agente interno como externo, aunque la respuesta inflamatoria final resulta en la activación de una cascada de citocinas, hasta cierto punto independientemente del agente causal. La lesión tisular produce un aumento de la concentración de proteínas séricas (tradicionalmente llamados *reactantes de fase aguda* [RFA], aunque también puedan verse elevados, y mucho, en las formas crónicas de inflamación) que acompaña a la inflamación y la lesión tisular (*Koj, 1996*), producidas fundamentalmente a nivel hepático (Figura 1). Las proteínas de fase aguda se clasifican como positivas si incrementan su concentración plasmática en más de un 25% durante la respuesta, o negativas si disminuyen su concentración durante la misma. Como norma general



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

se acepta que las proteínas de fase aguda positivas tienen funciones generales en la opsonización y captura de microorganismos y sus productos, así como en la activación del complemento, en la unión de restos celulares como fracciones nucleares, en la neutralización de enzimas, en la eliminación de hemoglobina y radicales libres, y en la modulación de la respuesta inmunitaria del huésped (*Gruys et al., 2005*). Esta respuesta inflamatoria, a pesar de su nombre, puede ser tanto aguda como crónica, y está relacionada con un elevado número de trastornos como infecciones, traumatismos, infartos, enfermedades autoinmunes e inflamatorias sistémicas y neoplasias. Algunas citocinas y mediadores actúan para aumentar la inflamación (proinflamatorias), mientras que otras sirven para reducir la inflamación (antiinflamatorias). Además de su función fisiológica, muchos de estos mediadores de la inflamación pueden utilizarse como marcadores de inflamación en la práctica clínica (*Mantovani y Garlanda, 2023*). Sin embargo, es necesario tener en cuenta que la inflamación es un proceso complejo y altamente orquestado que involucra muchos tipos de células y moléculas que pueden iniciar, amplificar, mantener, atenuar o eliminar el propio proceso inflamatorio. Los macrófagos tisulares son las células más comúnmente implicadas en iniciar la respuesta de fase aguda, aunque multitud de grupos celulares están involucrados en este proceso, como los leucocitos polimorfonucleares, plaquetas, linfocitos T, células endoteliales y fibroblastos (*Gauldi et al., 1987*). Las células inflamatorias liberan citocinas proinflamatorias que activan células endoteliales e inducen la expresión en su superficie de moléculas de adhesión. Estas moléculas facilitan la adherencia y migración de los leucocitos hacia el sitio de la lesión. Asimismo, los monocitos y los macrófagos presentan en su superficie "receptores de patrones de reconocimiento", que incluyen los *toll-like receptors* (TLR), que interaccionan con determinadas estructuras moleculares compartidas por grupos de microorganismos denominadas "patrones moleculares



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

asociados a patógenos" (PAMP). Esta interacción entre PAMP y TLR activa rutas que conducen a la activación del factor NF-kB, que una vez activado migra desde el citoplasma al núcleo e induce la transcripción de citocinas (*Gabay et al., 1999*). Estas citocinas liberadas durante la reacción inflamatoria desencadenan a su vez la secreción de proteínas de fase aguda componentes de la respuesta inmune innata (*Hoffmann et al., 2013*).

Existen numerosos marcadores de inflamación utilizados en la práctica clínica diaria (*Mantovani y Garlanda, 2023*). Entre ellos, los más utilizados y a investigar en esta tesis, se encuentran la velocidad de sedimentación globular (VSG), la proteína C reactiva (PCR) sérica y, más recientemente, algunas citocinas (interleucinas) séricas (Figura 1).

## 1.3. LA VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN GLOBULAR (VSG)

La VSG es bien conocida y de gran utilidad en la práctica clínica habitual (*Grzybowski et al., 2012*). Aunque se describió por primera vez hace más de un siglo, su utilidad clínica permanece inalterada. La VSG mide la velocidad (mm/h) a la que los glóbulos rojos forman agregados (o rouleaux) que sedimentan cuando se deja sangre fresca anticoagulada en un recipiente de tubo vertical. Por lo tanto, es la medida de un fenómeno físico (*Sox et al., 1986*). Junto con la PCR, constituye uno de los reactantes de fase aguda más comúnmente utilizados. La VSG es un método barato y sencillo. La presencia de las proteínas antes mencionadas en el plasma durante el episodio de inflamación provoca un cambio en la carga de la superficie de los hematíes que tienden a sedimentar con mayor rapidez (*Imhof et al., 2001*). La VSG es, por tanto, un método indirecto de la valoración de las distintas proteínas de la fase aguda. La proteína que más contribuye al aumento de la VSG es el fibrinógeno (en un 55%), seguido de la alfa-2 macroglobulina, inmunoglobulinas y albúmina



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(*Bain, 1983*). La VSG solía determinarse por el método de Westergren, que sigue siendo el de referencia y que consiste en mezclar 2 ml de sangre del paciente con 0,5 ml de citrato en un tubo de 200 mm de longitud y 2,5-3 mm de diámetro interno. Al cabo de una hora se calcula la distancia en milímetros de la zona libre de hematíes, lo que expresa la velocidad con que éstos han descendido. Sólo debe realizarse la medición de la VSG en la primera hora (*Fabry, 1987*). Sin embargo, recientemente se han desarrollado nuevos métodos de medición, con seguridad y confiabilidad del procedimiento (*Arikan et al., 2007*), que deben referenciarse al método de Westergren (*Jou et al., 2011*).

La VSG es un estimador de la inflamación global porque depende de la concentración de proteínas de fase aguda que circulan en la sangre, en particular del fibrinógeno (*Piva et al., 2001*); estas proteínas aumentan la constante dieléctrica en sangre y neutralizan las cargas negativas en la superficie de los glóbulos rojos, que se repelen entre sí y se oponen fisiológicamente a la agregación (*Fabry, 1987*). A pesar de sus limitaciones y de la introducción de marcadores de inflamación más específicos, la VSG sigue siendo ampliamente utilizado para el diagnóstico y seguimiento de una variedad de condiciones, particularmente infecciones y enfermedades reumáticas. La sensibilidad y especificidad de la VSG no son altas, pero la prueba tiene las ventajas de familiaridad, simplicidad, velocidad, bajo costo y amplia cobertura en la literatura (*Zlonis et al., 1993; Romero et al., 2003*). El rango de referencia de la VSG es variable en función del género, edad del paciente y del laboratorio de referencia. La VSG aumenta con la edad en adultos (*Hilder et al., 1964; Bain, 1983; Steinvil et al., 2008*) y a una edad dada es mayor en mujeres que en hombres (*Griffiths et al., 1984; Siemons et al. 2014*). Las anomalías metabólicas comunes, como la obesidad y el síndrome metabólico relacionado, son estados proinflamatorios que pueden estar asociados



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

con aumento de la VSG (*Bonora et al.; 2003, De Silva et al., 2009; Vallianou et al., 2010*). Esto también se ha visto en subgrupos seleccionados de pacientes (*Pavlonik et al., 2013*). Con respecto a factores de estilo de vida, estudios previos han informado VSG más bajas en relación con la actividad física en una población anciana seleccionada (*Geffken et al., 2001*). Estudios previos también han demostrado que fumar aumenta la VSG en mujeres y en muestras seleccionadas de pacientes con artritis (*Bermúdez et al., 2002*). El efecto potencial de factores de estilo de vida adicionales, como el consumo de alcohol, en la VSG no se ha explorado completamente. El consumo excesivo de alcohol tiene efectos proinflamatorios; de hecho, la enfermedad hepática alcohólica es un paradigma de trastorno inflamatorio (*Das et al., 2011*). Por lo tanto, la VSG está aumentada en pacientes con complicaciones por abuso de alcohol y en aquellos con hepatitis alcohólica. Por último, la VSG puede estar influenciada por el número, volumen y forma de los eritrocitos, tendiendo a ser mayor en pacientes con anemia o alto volumen de glóbulos rojos (*Kanfer et al.,1997; Brigden, 1999; Siemons et al., 2014*).

## 1.4. LA PROTEÍNA C REACTIVA (PCR) SÉRICA

La PCR constituye el reactante de fase aguda más utilizado en la clínica habitual. Es sintetizada por los hepatocitos en una respuesta a estímulos mediada por citocinas (Figura 1) como IL-1, IL-6 y TNF-alfa (*Black et al., 2004*). Una función importante de la PCR es su capacidad para unirse a la fosfocolina, lo que permite el reconocimiento tanto de patógenos extraños que presentan este resto como de los componentes fosfolípidos de las células dañadas (*Black et al., 2004*) Desde el descubrimiento fosfocolina como ligando para la PCR, se han ido identificando otros. Así, la PCR además es capaz de activar la vía clásica del complemento, estimular la fagocitosis y unirse a los receptores de inmunoglobulinas (*Du Clos, 2003*). De ahí



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

que entre los efectos proinflamatorios de la PCR se incluyan la activación del sistema del complemento y la inducción en los monocitos de citocinas inflamatorias, así como la liberación del receptor de IL-6. Los niveles elevados de PCR pueden producir efectos directos sobre las células vasculares, incluyendo inducción de citocinas y factores protrombóticos (*Ticinese A et al., 2017*).

Pocos estudios han investigado la influencia potencial de factores demográficos, metabólicos y de estilo de vida en las concentraciones de PCR. La PCR aumenta con la edad y factores de estilo de vida en adultos como el consumo de alcohol o el consumo de tabaco (*Ahmadi-Abhari et al., 2013; Stephan et al., 2015*). Con respecto a los efectos del consumo de alcohol en el nivel de PCR, el consumo ligero de alcohol se asocia con concentraciones más bajas de PCR (*Sierksma et al., 2019*). Como se informó en otra parte, este hallazgo podría estar relacionado con los efectos antiinflamatorios del consumo de alcohol de leve a moderado (*Imhof et al., 2001; Raum et al., 2017*). Las anomalías metabólicas comunes, como la obesidad, el síndrome metabólico y la diabetes son estados proinflamatorios que pueden estar asociados con concentraciones elevadas de PCR (*Belfki et al., 2012; Kawamoto et al., 2013*) y estudios previos han revelado la asociación de PCR con obesidad y adiposidad (*Tchernof et al., 2002*). En cuanto al efecto de la actividad física sobre las concentraciones de PCR, los resultados son controvertidos y discordantes (*Rawson et al., 2003; Hammonds et al. 2016*). En este sentido, es muy discutido el papel aterogénico de la PCR. Se sabe que la PCR inhibe la producción de óxido nítrico a nivel endotelial y contribuye a la inestabilidad de la placa al aumentar la expresión de moléculas de adhesión de células endoteliales, al promover el reclutamiento de monocitos en la placa ateromatosa y al unirse enzimáticamente a la lipoproteína de baja densidad. La PCR también contribuye a la trombosis, de tal forma que es un regulador potencial de las vías de señalización asociadas con la



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

trombosis, la angiogénesis y la inflamación (*Badimon et al., 2018*). Sin embargo, los mecanismos por los que la PCR influye en la enfermedad cardiovascular no son tan sencillos. La PCR contribuye a la progresión de la aterosclerosis ejerciendo efectos proinflamatorios, modulando la respuesta inmunitaria innata y activando el sistema del complemento, promoviendo la activación plaquetaria, la formación de trombos, la inflamación vascular, remodelación y angiogénesis (*Hakobyan et al., 2008; Strang et al., 2014*). Sin embargo, queda por dilucidar por completo el papel regulador o amplificador de la PCR sobre la respuesta inmunitaria innata, así como si es posible considerarlo un biomarcador clínico de enfermedad cardiovascular.

## 1.5. LA DETERMINACIÓN DE CITOCINAS SÉRICAS

Las interleucinas una forma de citocinas, (del griego "*kyto*", célula, y "*kinos*", movimiento) son un grupo de proteínas producidas por células (leucocitos, en el caso de las interleucinas) que actúan como reguladoras del sistema inmunitario. Suelen ser de bajo peso molecular (por lo general menos de 30 kDa) y están constituidas por unos 120 a 180 aminoácidos. Existen múltiples poblaciones celulares capaces de producir citocinas, de tal forma que actúan mediando complejas interacciones entre células de estirpe linfoide, células inflamatorias y células hematopoyéticas, tanto durante la respuesta inmune innata como específica (*Dinarello, 2007*). Para ejercer su efecto, se unen a receptores específicos de la membrana iniciando una cascada de transducción intracelular de señal que altera el patrón de expresión génica, de modo que esas células diana producen una determinada respuesta biológica. En función del tipo de células sobre las que actúan, se habla de efecto autocrino, cuando actúan sobre las propias células productoras, efecto paracrino, cuando actúan sobre diferentes tipos celulares, o efecto endocrino, cuando ejercen su efecto en otros órganos y tejidos, transportadas por circulación sanguínea



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(*Zhang et al., 2007*). Las citocinas desempeñan un papel fundamental en la respuesta inflamatoria e inmune, estando implicadas además en múltiples procesos biológicos como la hematopoyesis, la embriogénesis y la angiogénesis, así como en diferentes procesos celulares como la mitosis, la diferenciación, la migración o incluso la muerte celular. Las citocinas son pleiotrópicas y redundantes, lo que quiere decir que una citoquina puede ejercer una actividad funcional sobre varios tipos celulares y que una determinada función puede ser realizada por diferentes citocinas (*Filella et al., 1998*).

En la respuesta inflamatoria las citocinas pueden actuar de dos formas: favoreciendo el desarrollo de inflamación, las citocinas proinflamatorias, o ejerciendo un efecto supresor de la misma, las citocinas inmunosupresoras. Las citocinas más estudiadas, que comienzan a formar parte del petitorio habitual de determinaciones de laboratorio clínico, han sido la IL-6, el TNF-alfa y la IL-8, sobre todo la primera. Muchos de los estudios previos, sin embargo, han sido realizados en poblaciones seleccionadas (*Carter et al., 2008; Wagner et al., 2016; So-Armah et al., 2019; Lainampetch J et al., 2019*). En el presente trabajo se han estudiado los niveles séricos en la población general de la IL-6 y del receptor soluble de la IL-2 (sIL-2R).

**La interleucina 6 (IL-6) e**s la principal responsable de la producción de proteínas de fase aguda por el hígado (Figura 1) (*Kishimoto, 1989*), Además, esta citoquina induce en la médula osea la producción de células precursoras de neutrófilos, monocitos y megacariocitos y promueve la diferenciación de linfocitos B hacia células plasmáticas, induciendo la producción de inmunoglobulinas (*Tanaka et al., 2014; Li X et al., 2020*). La IL-6 juega un papel muy importante en la respuesta inflamatoria y en el establecimiento de la respuesta inmune innata. Puede asimismo inducir resorción ósea, atrofia muscular, anemia y desencadenar una coagulopatía de consumo (*Yao et al., 2020*).



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

La IL-6 es una citocina importante en la salud y la enfermedad (*Hunter et al., 2015*), con funciones en la inmunidad, la regeneración de tejidos y el metabolismo. La producción rápida de IL-6 contribuye a la defensa del huésped durante la infección y la lesión tisular, pero la síntesis excesiva de IL-6 y la desregulación de la señalización del receptor de IL-6 están involucradas en el daño en la enfermedad (*Kang et al., 2021*). Además, se puede considerar a la IL-6 al mayor regulador de la respuesta de fase aguda en los hepatocitos (*Heinrich et al., 1990*) La IL-6 sérica es un marcador inflamatorio bien conocido (*Glady et al., 2020*). Además, las terapias neutralizantes de IL-6 se utilizan en una variedad de enfermedades inflamatorias, incluida la artritis reumatoide, la artritis idiopática juvenil poliarticular y sistémica, la arteritis de células gigantes, la enfermedad de Castleman y la terapia de células T con receptor de antígeno quimérico (CAR-T) (*Rubbert-Rothet al., 2018*) inducida por citocinas y algunas formas de asma grave (*Esty et al., 2019*). Las concentraciones séricas de IL-6 han llamado la atención durante la actual pandemia de coronavirus (SARS-Cov-2, COVID-19) (*Guan et al., 2020*) porque la infección puede ir seguida de respuestas inmunitarias graves y potencialmente mortales que incluyen concentraciones séricas de IL-6 muy aumentadas, fenómeno conocido como “tormenta de citocinas” (*McGonagle et al., 2020*). Sin embargo, en el contexto de esta hiperinflamación que ocurre durante la tormenta de citocinas, no está claro por qué se mantiene la expresión de IL-6 y cómo la inhibición de la señalización de IL-6 tiene una eficacia positiva (*Kang et al., 2019*). Además, las concentraciones séricas de IL-6 pueden tener valor pronóstico y pueden usarse como criterio para iniciar la terapia anti-IL-6 (*Henry et al., 2020*). Específicamente, tocilizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado contra el receptor de IL-6 que se ha utilizado con cierto éxito en pacientes con COVID-19 grave (*Buonaguro et al., 2020; Fu et al., 2020*). Así pues, la IL-6 es una citocina proinflamatoria con importantes funciones en la regulación



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

del sistema inmunitario. Estudios previos han descrito el papel de la IL-6 en patologías como cánceres, enfermedades inflamatorias y autoinmunes.

**La interleucina 2** (IL-2) es secretada por linfocitos T CD4+ y CD8+ activados y se describió como factor de crecimiento de células T, ya que es el principal agente que controla su proliferación (*Boyman et al., 2012*). Es un factor estimulador del crecimiento de linfocitos T, B y natural killer, y promueve la actividad citotóxica mediada por linfocitos T, natural killer, y células LAK (células asesinas activadas por citocinas) (*Zelante et al., 2012; Arenas-Ramirez et al., 2015*). Tras unirse a su receptor en los linfocitos T, activa la secreción de IFN-alfa, IL-3 e IL-4. Tiene un papel esencial en el desarrollo de las respuestas inflamatorias crónicas, tanto humorales como celulares (*Knoechel B et al., 2005; Malek et al., 2010*).

**El receptor soluble de la interleucina 2 (sIL-2R)** se secreta tras la activación de las células T y se producen niveles elevados de sIL-2R en la sangre en una variedad de enfermedades inmunológicas. La vía de la interleucina (IL)-2 – receptor de IL2 (IL-2R) desempeña funciones importantes en la salud y las enfermedades humanas. La cadena soluble (s) IL-2Rα, sIL-2R (CD25) se desprende tras la activación inmunitaria y se encuentra abundantemente en la circulación de individuos sanos (*Damoiseaux, 2020; Dik y Heron, 2020*). La unión de IL-2 a sIL-2R puede reducir o mejorar las respuestas según la célula objetivo que esté involucrada en la inmunidad o la autotolerancia (*Damoiseaux, 2020; Dik y Heron, 2020*). En resumen, sIL-2R es un marcador de activación de células T (*Rubin y Nelson, 1990*). Así, se han encontrado niveles elevados de sIL-2R soluble en suero en pacientes con diversas patologías, como leucemia, cáncer, enfermedades autoinmunes, sarcoidosis y enfermedades infecciosas. De especial interés es el papel de la IL-2r en el diagnóstico, pronóstico y respuesta del síndrome hemofagocítico



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

o linfohistiocitosis hemofagocítica (HLH). El aumento de las concentraciones séricas de sIL-2R es un marcador para diagnosticar o monitorizar enfermedades inmunomediadas, como se revisó recientemente (*Damoiseaux, 2020; Dik y Heron, 2020*). Las concentraciones séricas de sIL-2R son un biomarcador prometedor en varias enfermedades raras que involucran la activación de células T, incluida la sarcoidosis (*Nguyen et al., 2017*), la enfermedad granulomatosa asociada a la inmunodeficiencia variable común (*van Sitigt et al., 2021*) y la enfermedad de Kawasaki (*Teraura et al., 2017*). Si bien la mayor parte de la literatura se centra en los niveles altos de sIL-2R, se debe tener en cuenta que los niveles bajos de sIL-2R predicen la respuesta a infliximab en la artritis reumatoide (*Kuuliala et al., 2006*). Los sIL-2R séricos están particularmente elevados en pacientes con linfohistiocitosis hemofagocítica (HLH), donde constituyen un criterio diagnóstico (*Lin et al., 2017*). La sIL-2R sérica se usó inicialmente en ensayos de HLH pediátrica, pero recientemente se demostró que también es un marcador sensible de la enfermedad en la HLH de adultos (*Hayden et al., 2017*). Un estudio reciente ha encontrado que una ferritina sérica >1000 ng/mL y sIL-2R >3900 U/mL (el llamado "índice inflamatorio de HLH optimizado") son una prueba excelente para la HLH asociada a malignidad (*Zoref-Lorenz et al., 2022*). Las concentraciones séricas de sIL-2R tienen valor pronóstico no solo para HLH sino también en linfomas (*Morita-Fujita et al., 2019; Nozaki et al., 2020*). Más recientemente, las concentraciones de sIL-2R se están utilizando para controlar la tormenta inmunitaria en pacientes con COVID-19 (*Quartuccio et al., 2021*), aunque la principal alteración de la vía de las citocinas en la COVID-19 no es la IL-2/IL-2R sino el eje IL-6/IL-6R (*Chen et al., 2021*). Al igual que en la HLH, el papel de la IL-2R y más aún de las terapias relacionadas con la IL-2R podría jugar un papel clave en la tormenta de citocinas que se produce en la COVID-19, debido a la similitud con el síndrome de activación de macrófagos.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Los estudios que han investigado hasta la fecha la distribución de sIL-2R han incluido muestras seleccionadas de donantes de sangre (*Rothkrantz-Kos et al., 2004*) o grupos definidos por exposiciones (*Tollerud et al., 1992*), enfermedad (*Matsumoto et al., 1991; Lassalle et al., 1992; Lin et al., 2017; Damoiseaux., 2020; Dik y Heron, 2020; Quartuccio et al., 2021*), o la edad (*Manoussakis et al., 1990; Miller et al., 1996; Durda et al, 2015*).

## 1.6. FACTORES FRECUENTES DE EXPOSICIÓN Y SU RELACIÓN CON LA INFLAMACIÓN

**El consumo de alcohol** es un factor de morbilidad y mortalidad bien conocido. Los daños del consumo de alcohol son varios, con efectos neurotóxicos, hepatotóxicos y cancerígenos sin olvidarnos del profundo daño hepático (*Rehm et al, 2009; Rehm et al, 2017*). Según los expertos no existe una dosis segura de consumo de alcohol (*Mukamal, 2020*); existen dosis de poco riesgo que probablemente sean menores en las mujeres que en los hombres. Las razones para esto incluyen un tamaño corporal más pequeño, un porcentaje del peso corporal compuesto por agua y la menor actividad del enzima alcohol-deshidrogenasa gástrica entre las mujeres, lo que da como resultado una exposición efectiva al alcohol más intensa para un nivel determinado de consumo (*Frezza et al, 1990*). El consumo de alcohol se ha asociado con un mayor riesgo de varios tipos de cáncer, y el consumo excesivo se asocia con mayor riesgo (*Praud et al., 2016; Xiet al., 2017*). Es de sobra conocida la gran morbimortalidad de la enfermedad hepática relacionada con el alcohol, la patogenia de la enfermedad hepática asociada con la ingestión de alcohol no se conoce por completo. Sabemos que algunos pacientes que abusan crónicamente del alcohol desarrollan enfermedad hepática, principalmente porque el hígado metaboliza la mayor parte del etanol ingerido. Además, se requiere el metabolismo del etanol para que



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ocurra la lesión hepática, aunque las variaciones en el metabolismo del etanol no explican por completo la susceptibilidad variable a la enfermedad hepática asociada con el alcohol (*Lieber, 1993; Enomoto, 1991*). Entre las enfermedades relacionadas con el consumo de alcohol se encuentran la colelitiasis, la pancreatitis, trastornos psiquiátricos, la diabetes mellitus, trastornos hematológicos, la demencia o la osteoporosis, entre otros (*Durbec et al. 1978; Bikle et al., 1985; Eckardt et al., 1985; Grodstein et al., 1994*). En lo que respecta a la enfermedad cardiovascular, el consumo de alcohol ha demostrado riesgos y beneficios, sin embargo, los factores responsables de los aparentes beneficios cardiovasculares del consumo ligero de alcohol son inciertos. Entre los cambios objetivados como beneficiosos en cuanto a la reducción del riesgo de enfermedad coronaria entre otros, se objetivaron un aumento de la apolipoproteína A sérica, una disminución del fibrinógeno plasmático, un aumento de la concentración del activador del plasminógeno de tipo tisular (tPA) (*Rimm et al., 1999*). Otro de los efectos beneficiosos más discutido es el efecto antioxidante, inhibiendo la producción de especies reactivas de oxígeno de los macrófagos, facilitando la migración celular a través de la restauración de la actividad de la quinasa de adhesión focal y previniendo la activación de factores de transcripción involucrados en la ateroesclerosis (*Park, 2009; Hamed et al., 2010*). Otros potenciales beneficios a nivel cardiovascular del alcohol podrían ser un aumento de la sensibilidad a la insulina, un efecto antitrombótico y un efecto antiinflamatorio. Se ha demostrado que el consumo moderado de alcohol mejora la sensibilidad a la insulina y la utilización de la glucosa hasta en las siguientes 24 horas (*Greenfield et al., 2004*), tiene actividades antitrombóticas que incluyen la modificación de la función plaquetaria y de otros componentes del sistema de coagulación y la fibrinólisis (*Mukamal et al., 2001; Wannamethee et al., 2003*) y asimismo parece haber una relación inversa entre los niveles de marcadores inflamatorios, como la PCR y la IL-6, y la ingesta de



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

alcohol de leve a moderada de alcohol (*Albert et al., 2003; Volpato et al., 2004*).

En cuanto a los efectos del alcohol a nivel cardiovascular van a depender del consumo diario del mismo. Varios estudios sugieren que el consumo leve a moderado reduce el riesgo de enfermedad coronaria, en comparación con no beber alcohol o con un consumo excesivo de alcohol (*O'Keefe et al., 2007*). Lo mismo ocurre con el riesgo de mortalidad; mientras que el consumo moderado de alcohol se asocia con una reducción específica de la mortalidad cardiovascular (*Mukamal KJ et al., 1987; Ronksley et al., 2011; Daj et al., 2015*), el consumo excesivo de alcohol aumenta el riesgo de muerte súbita (*Wannamethee et al., 1992*). Una de las afectaciones más relevantes del consumo crónico de alcohol es el desarrollo de miocardiopatía dilatada (*McKenna et al., 1998; Lee et al., 2002*).

**El tabaquismo** también es proinflamatorio. A pesar de los conocidos daños para la salud, la prevalencia del tabaquismo en todo el mundo continúa siendo alta. Estudios previos han demostrado que la respuesta inflamatoria al humo del cigarrillo viene mediada por NF-kB (*Rom et al., 2013*). Así, las células inflamatorias producen una variedad de mediadores en respuesta al tabaquismo (*Gonçalves et al., 2011*). Numerosos estudios han investigado la asociación entre fumar y niveles elevados de marcadores inflamatorios y citocinas. Se ha demostrado que el humo del cigarrillo aumenta la producción de citocinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral-α (TNF-α), la interleucina (IL)-1, IL-6 e IL-8 y disminuye los niveles de antiinflamatorios, como IL-10 (*Wannamethee et al., 2003; Arnson et al., 2012;*). Por el contrario, dejar de fumar reduce la inflamación sistémica y los niveles de endotelina-1 circulante (*Derella et al., 2021*).



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

**La actividad física** reduce la inflamación crónica, especialmente en individuos obesos con altos niveles de biomarcadores inflamatorios (*Bruunsgaard, 2005*). El efecto antiinflamatorio del ejercicio físico es controvertido, pero se han descrito varios mecanismos. Entre los mecanismos descritos para reducir la inflamación crónica se encuentra el efecto sobre el tejido muscular para generar y sintetizar mioquinas anti-inflamatorias, el efecto sobre el tejido adiposo para mejorar la hipoxia y reducir la inflamación local, el efecto sobre las células endoteliales para reducir la adhesión de leucocitos y la producción sistémica de citocinas pro-inflamatorias, y el efecto sobre el sistema inmune para reducir el número de células proinflamatorias (*You et al., 2013*). A su vez el ejercicio agudo aumenta la producción del músculo de IL-6 (*Febbraio et al., 2002*). Parece ser que la IL-6, cuando es segregada por el músculo inducida por el ejercicio, inhibe la síntesis de TNF-α, actuando como anti-inflamatoria y contribuyendo a la reducción de la inflamación crónica (*Starkie et al., 2003; Pal et al., 2014*).

**La obesidad, el síndrome metabólico y la ateroesclerosis** son trastornos crónicos inflamatorios de bajo grado. La aterosclerosis es un proceso patológico que causa enfermedad de las arterias, incluyendo las coronarias, cerebrales y periféricas y de la aorta, con las posibles complicaciones bien conocidas. Existen múltiples factores que contribuyen a la patogenia de la aterosclerosis, en los que se incluyen la disfunción endotelial, la dislipidemia, los factores inflamatorios e inmunológicos, y el tabaquismo. Los macrófagos que han absorbido LDL oxidado liberan múltiples mediadores inflamatorios, citocinas y factores de crecimiento, entre los que se encuentran interleucina IL-1, IL-3, IL-6, IL-8 e IL-18 y factor de necrosis tumoral alfa, entre otros (*Rectenwald et al., 2000; Brizzi et al., 2001; Horton et al., 2008*). Por todo ello, se puede considerar un trastorno inflamatorio crónico de bajo grado. Lo mismo ocurre con el



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

síndrome metabólico Es ampliamente aceptado que el llamado síndrome metabólico y sus componentes, especialmente la obesidad y la diabetes mellitus, que son trastornos inflamatorios crónicos de bajo grado y son factores de riesgo para desarrollar enfermedad cardiovascular aterotrombótica. El aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular en pacientes con síndrome metabólico y obesidad está probablemente asociado con los estados inflamatorios que pueden ocurrir en estos pacientes (*Esser et al., 2014; Saltiel et al., 2017*).

## 1.7. JUSTIFICACIÓN GENERAL DE LOS TRABAJOS DE LA PRESENTE TESIS

Los marcadores de inflamación a estudio, con la excepción de la sIL-2R, son bien conocidos y de uso clínico muy común, especialmente la VSG y la PCR. Sin embargo, de los comentarios precedentes se puede deducir que los estudios realizados hasta la fecha para conocer la posible influencia de factores comunes (demográdicos, de estilo de vida y metabólicos) en los niveles de esos marcadores han sido insuficientes.

Los estudios de analitos clínicos en la población general pueden ayudar a la interpretación de resultados de laboratorio anormales en la enfermedad y la influencia de factores comunes. Determinar analitos en poblaciones generales, seleccionadas al azar, es importante para interpretar los valores de referencia. Las guías para la definición y determinación de los intervalos de referencia indican que se debe considerar la partición de los valores (es decir, el establecimiento de diferentes valores de referencia en función de la presencia o no de esos factores) cuando existen diferencias significativas entre subgrupos definidos por edad, sexo y exposiciones comunes (*Sasse EA, 1992; Horn PS et al., 2003*). En este aspecto, las poblaciones generales son más fiables que las de estudios basados en poblaciones



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

seleccionadas de controles sanos o de donantes de sangre. Por todo ello, resulta pertinente un grupo de trabajos titulados, como la presente tesis "*Marcadores de inflamación en la población general adulta: Relación con factores comunes (demográficos, metabólicos y de estilo de vida) y su influencia en la determinación de valores de referencia*".



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# 2

# Objetivos

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# 2. OBJETIVOS

1. Investigar, en la población general adulta sin aparente enfermedad inflamatoria, la posible influencia de factores comunes en los niveles de los marcadores de inflamación de uso más habitual, como VSG, PCR sérica e IL-6 sérica. Concretamente, los factores a estudiar son:

    - Demográficos: edad y sexo.
    - De estilo de vida: consumo de alcohol y de tabaco, actividad física regular.
    - Metabólicos: obesidad (general y abdominal) y el *síndrome metabólico* relacionado con la misma, con sus componentes (hiperglucemia, dislipemia, hipertensión arterial).
    - Inmunopatológicos comunes: atopia.

2. Investigar la posible influencia de los mismos factores en los niveles séricos de sIL2-R, un nuevo marcador inflamatorio.

3. Investigar, en la misma población, los factores asociados con las discordancias entre los resultados de la VSG y la PCR sérica, los dos marcadores de uno clínico más común en el momento actual.

Los objetivos relacionados con la VSG se abordan en el Trabajo número 1. Los relacionados con la PCR se abordan en el Trabajo



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

número 2. Los relacionados con la discordancia entre VSG y PCR se abordan también en el Trabajo número 2. Los relacionados con la IL-6 se abordan en el Trabajo número 3. los objetivos relativos a la sIL2-R se abordan en el trabajo número 4. Por último, la contextualización de los trabajos mencionados, especialmente lo que se refiere a la vigencia clínica de la VSG, se aborda en el trabajo 5.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

# 3

# Metodología General

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# 3. METODOLOGÍA GENERAL

Los métodos específicos se desarrollan en cada uno de los artículos publicados que siguen a continuación. De todos modos, los artículos tienen aspectos metodolódicos generales que se exponen en este apartado.

## 3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO Y POBLACIÓN DE ESTUDIO

Realizamos un estudio transversal en el municipio de A-Estrada (Noroeste de España, ubicación 42°41′21″N, 8°29′14″W). Un esquema del estudio (AEGIS, *A-Estrada Glycation and Inflammation Study*) está disponible en la web www.clinicaltrials.gov (código NCT01796184).

El municipio tenía una población adulta (edad >18 años) de 18.474 personas cuando comenzó el estudio en 2012. En la Figura 2 se muestra un diagrama de flujo del perfil del estudio. Se extrajo una muestra aleatoria estratificada por edad de la población de 18 años o más del Registro del Sistema Nacional de Salud de España, que cubre a más del 95% de la población y contiene el nombre, fecha de nacimiento y domicilio de todas las personas con derecho a atención primaria. La muestra se estratificó en los siguientes grupos de edad: 18 a 29 años; 30 a 39 años; 40 a 49 años; 50 a 59 años; 60 a 69 años; 70 a 79 años; y 80 años y mayores. Un programa de computadora generó una muestra aleatoria de un número igual (n=500) de sujetos en cada grupo de edad. De esta muestra inicial de 3500 personas, se pudo evaluar la elegibilidad de 2230 y no mostraron criterios de exclusión; de estos,



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1516 personas aceptaron participar (tasa de participación general, 68%). La participación fue menor en hombres que en mujeres (65% vs. 71%). No hubo diferencias significativas en términos de edad o residencia (rural vs. urbana) entre participantes y no participantes. Desde noviembre de 2012 hasta marzo de 2015, todos los sujetos fueron contactados sucesivamente y se les pidió que asistieran al Centro de Atención Primaria para su evaluación, que incluyó un cuestionario estructurado administrado por un entrevistador y una muestra de sangre venosa en ayunas. Además, 17 individuos fueron excluidos de este estudio específico, debido a enfermedades inflamatorias crónicas que podrían influir en la determinación de marcadortes de inflamación. La población final del conjunto de los estudios incluyó así a 1499 individuos, 669 (44.8%) de los cuales eran hombres. La mediana de edad fue de 52 años (intervalo, 18-91 años).

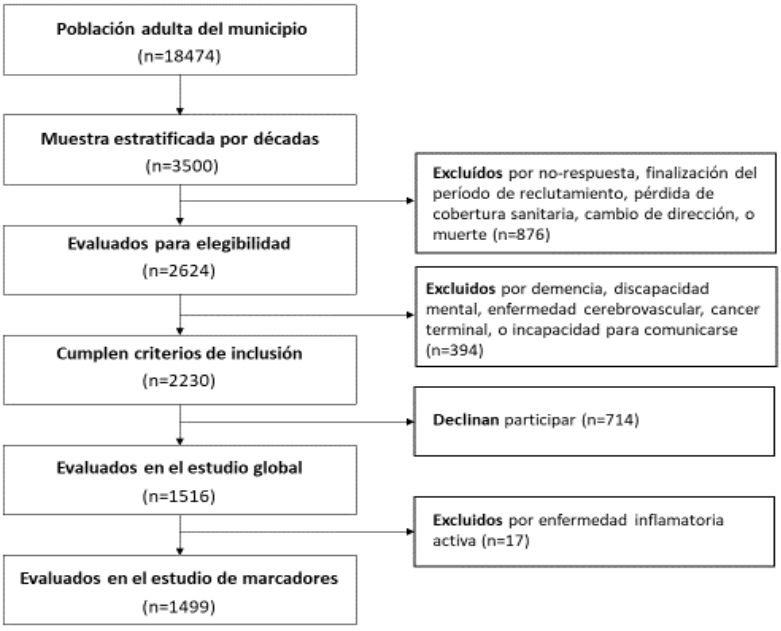


**Figura 1**. Diagrama de flujo de de los participantes en el estudio. Se representa la población del municipio, los sujetos seleccionados al azar, la participación y los sujetos excluidos por diferentes motivos.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

## 3.2. ASPECTOS ÉTICOS

Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de todos los participantes. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética Regional (código 2010-315) y se ajustó a la Declaración de Helsinki vigente.

## 3.3. DETERMINACIONES PRINCIPALES

### 3.3.1. Valoración del consumo de alcohol

El consumo de alcohol se evaluó en unidades de bebida estándar, sumando el número de copas de vino (~10 g), botellas de cerveza (~10 g) y unidades de bebidas espirituosas (~20 g) consumidas regularmente por semana (*Gual et al., 1999*). Los individuos con un consumo de alcohol de 1-140 g/semana se definieron como bebedores ligeros, aquellos con un consumo de alcohol de 141-279 g/semana se definieron como bebedores moderados y aquellos con un consumo de alcohol ≥280 g/semana se definieron como bebedores excesivos. La mediana de consumo de alcohol en bebedores empedernidos fue de 350 g/semana (rango, 280-1100 g/semana). El resto, formado por abstemios de alcohol y bebedores ocasionales de alcohol, se incluyó en el mismo grupo.

### 3.3.2. Valoración del tabaquismo

Se consideraron fumadores los consumidores de al menos un cigarrillo al día. Los individuos que habían dejado de fumar durante el año anterior siguieron siendo considerados fumadores, mientras que los que habían dejado de fumar más de un año antes del estudio se consideraron ex fumadores.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

### 3.3.3. Definición de anormalidades metabólicas

El índice de masa corporal (IMC) se calculó como el peso (en kg) dividido por el cuadrado de la altura (en metros). Siguiendo los criterios estándar, los individuos se clasificaron como de peso normal (<25 kg/m$^2$), con sobrepeso (25-30 kg/m$^2$) u obesos (>30 kg/m$^2$).

El síndrome metabólico se definió de acuerdo con los criterios del *Adult Treatment Panel III* (2001), a saber: (a) obesidad abdominal (circunferencia de cintura >102 cm en hombres o >88 cm en mujeres); (b) hipertrigliceridemia (triglicéridos séricos en ayunas ≥150 mg/dL); (c) niveles bajos de colesterol-HDL (colesterol-HDL en ayunas <40 mg/dL en hombres o <50 mg/dL en mujeres); (d) aumento de la presión arterial (presión arterial ≥130/≥85 mmHg o uso actual de medicamentos antihipertensivos); y (e) hiperglucemia (glucosa sérica en ayunas ≥110 mg/dl o tratamiento antidiabético actual). Las personas que cumplían al menos tres de estos criterios se clasificaron como que padecían síndrome metabólico.

### 3.3.4. Valoración de la actividad física

Todos los participantes del estudio completaron el Cuestionario Internacional de Actividad Física en su versión abreviada (*Craig et al., 2003*). El cuestionario está disponible gratuitamente en https://sites.google.com/site/theipaq/home y ha sido validado en España (*Roman-Viñas et al., 2013*). El cuestionario permite el cálculo de Equivalentes Metabólicos de Tarea (*Metabolic Equivalents of Task*, MET) y la estratificación de la actividad física habitual como baja, moderada o alta. Se consideró que las personas mostraban actividad física moderada cuando cumplían cualquiera de los siguientes 3 criterios: 3 o más días de actividad vigorosa de al menos 20 minutos



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

por día o 5 o más días de actividad física moderada. actividad de intensidad o caminata de al menos 30 minutos por día o 5 o más días de cualquier combinación de caminata, actividades de intensidad moderada o vigorosa que alcancen un mínimo de al menos 600 METs-min/semana. Se consideró que los individuos mostraban actividad física alta cuando cumplían cualquiera de los 2 criterios siguientes: actividad de intensidad vigorosa durante al menos 3 días y acumulando al menos 1500 METs-minutos/semana, o 7 días de cualquier combinación de caminata, moderada- actividades de intensidad o intensidad vigorosa que alcancen un mínimo de al menos 3000 METs-minutos/semana. Aquellos individuos que no cumplían criterios de actividad física moderada o alta fueron considerados de baja actividad/inactivos.

### 3.3.5. Definición de atopia

A todos los participantes se les realizó una batería de tests cutáneos de alergia (skin prick tests) frente a aeroalergenos relevantes en el área, que incluyeron ácaros del polvo doméstico (*Dermatophagoides pteronyssinus, Lepidoglyphus destructor*), pólenes (*Phleum pratense, Plantago lanceolata, Betula alba, Parietaria judaica*), panalergenos vegetales (profilina, *lipid transfer protein* de melocotón), hongos (*Alternaria alternata, Aspergillus spp*.), y epitelios de animales (perro y gato). Los tests de control fueron 10 mg/mL de histamina (control positivo) and solución salina (control negativo). Los habones con un diámetro medio >3 mm a los 15 min se consideraron positivos. La presencia de al menos un test cutáneo positive se consideró indicativa de sensibilización alérgica o atopia.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

### 3.3.6. Determinación de la velocidad de sedimentación globular

La VSG se midió en un dispositivo TEST-1 automatizado (Alifax, Padua, Italia), que utiliza tecnología de microsedimentación y fotometría capilar cuantitativa. El sistema utiliza un microfotómetro de rayos infrarrojos con una longitud de onda de luz de 950 nm. Los impulsos eléctricos son recogidos por un detector de fotodiodos y se correlacionan con la concentración de glóbulos rojos en ese nivel capilar. Los impulsos medidos por unidad de tiempo se usan luego para delinear una curva de sedimentación para cada muestra. La prueba fue diseñada para superar algunos inconvenientes del método de Westergren; permite calcular la VSG en volúmenes de sangre bajos (150 µL) y detecta la formación de *rouleaux* en 20 segundos. La determinación de la VSG por este método parece verse menos afectada por la hemoglobina y el volumen corpuscular. El TEST-1 ha sido validado en relación con el método de referencia de Westergren (*Piva et al., 2001; Romero et al., 2003*) siguiendo los criterios del Consejo Internacional de Normalización en Hematología (ICSH). Actualmente se utilizan dispositivos similares para la determinación de la VSG en la mayoría de los laboratorios clínicos de todo el mundo. Según las instrucciones del fabricante, el coeficiente de variación es del 4,8 % para muestras con VSG normal y del 5,0 % para muestras con VSG alta. Para este estudio, se extrajo sangre en tubos de vacío que contenían K3EDTA (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, EE. UU.). La determinación de VSG se realizó dentro de las siguientes 4 horas. Se usó la misma muestra de sangre para medir la concentración de hemoglobina y el VCM. El método, los dispositivos y el personal para la determinación de la VSG fueron los mismos que los utilizados habitualmente en nuestro hospital con fines clínicos. Los valores de VSG de referencia del hospital son 0-20 mm/h para hombres y 0-30 mm/h para mujeres. La determinación de VSG estuvo disponible en 1472 individuos.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

### 3.3.7. Determinación de la proteína C reactiva (PCR)

Las concentraciones de PCR se determinaron en muestras de suero en fresco por medio de inmunoturbidimetría mejorada con látex comercial en un sistema de química clínica Advia 2400 (Siemens, Alemania). Los valores normales de referencia de la concentración de PCR que emplean este método son 0-0.5 mg/dL. Las mediciones de PCR estuvieron disponibles para los 1499 participantes.

### 3.3.8. Determinación de interleucina-6 (IL-6)

Medimos las concentraciones de IL-6 en muestras de suero en fresco mediante un inmunoensayo quimioluminiscente comercial (Immulite 2000 System, Siemens). El límite de sensibilidad para este método es de 2.0 pg/mL, y los valores de referencia de la concentración normal de IL-6 van desde indetectables hasta 5.9 pg/mL. Las mediciones IL-6 estuvieron disponibles para los 1499 participantes.

### 3.3.9. Determinación del receptor soluble de la interleucina-2 (sIL-2R)

Las concentraciones de sIL-2R se midieron, como la IL-6, inmunoensayo quimioluminiscente comercial (Immulite 2000 System, Siemens). La sensibilidad analítica del método 5 U/mL, y los valores de concentración normal oscilan, según el fabricante, entre 158 U/mL y 623 U/mL. Las mediciones IL-6 estuvieron disponibles para los 1499 participantes.

## 3.4. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Los métodos empleados se describen el detalle en cada uno de los trabajos. Como estrategia general, se empleó el test de Chi-



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

cuadrado para la comparación de proporciones, con la corrección de continuidad cuando fue precisa. Para las variables numéricas, se empleó estadística no paramétrica por la distribución no-normal de la mayoría de las variables. Así, se empleó el test de Mann-Whitney para la comparación de estas variables entre dos grupos, el test de Kruskal-Wallis cuando el número era mayor de dos (con el test de Johkheere-Terpstra cuando se estudiaba la tendencia) y el test de rangos de Spearman para el estudio de correlaciones. Para el análisis multivariante se empleó la regresión logística cuando la variable de efecto era binaria. Cuando la variable de efecto era numérica, se emplearon, según su distribución, modelos de regresión lineal (como para la PCR, previa transformación logarítmica), modelos basados en distribución Box–Cox t (BCT, como para sIL-2R) y *Generalized Inverse Gaussian* (GIG, como para la VSG). Para la definición de percentiles de referencia en función de edad y sexo se utilizaron *Generalized Additive Models for Location, Scale, and Shape* (GAMLSS).

El tamaño muestral (n=1499 para la mayoría de las determinaciones) permitiría, en la estimación de una proporción para una variable de máxima dispersión (p=q=0.5) una precisión del 5% con una confianza del 95%. El tamaño muestral tendría una potencia del 90% (riesgo beta, 0.1) para detectar diferencias del 7% en la proporción de elevación de un marcador (una vez dicotomizados sus valores) entre sujetos expuestos y no expuestos (considerando una covariable de alta prevalencia en la población, como el 50% en el caso de obesidad/sobrepeso), co una frecuencia esperada de elevación del marcador del 25% en el grupo no expuesto, con un riesgo alfa del 5%.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

# 4

# Discusión General

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# 4. DISCUSIÓN GENERAL

## 4.1. JUSTIFICACIÓN GENERAL

Los resultados concretos de los artículos que constituyen esta tesis doctoral se comentan en el apartado correspondiente de cada uno. La presente discusión no pretende repetir las discusiones antes mencionadas, sino resumirlas, agrupadas por las conclusiones del conjunto de los trabajos, que se enumeran y discuten en el apartado siguiente.

Una contextualización de los resultados es, precisamente, la que resume el último de los trabajos presentados (numero 5), que no es un trabajo original de investigación sino una reflexión conjunta sobre estos marcadores de inflamación, sobre todo la VSG, en forma de artículo editorial. El número de marcadores de inflamación disponibles hoy en día es muy amplio, cada uno con sus características de elevación preferente en algunas situaciones y de perfil evolutivo durante la inflamación (*Mantovani y Garlanda, 2023*), pero los más *viejos* marcadores siguen vigentes a día de hoy. No en vano, el artículo número 1 de esta tesis, que versa sobre la VSG y se tituló intencionadamente "*New evidence for an old test*" ya acumula 25 citaciones en JCR, muestra indirecta de su vigencia y del interés que suscita este marcador de más de 120 años de antigüedad. En la misma línea, el editorial mencionado (artículo número 5) se titula "*Vigencia de la VSG*". A día de hoy, la VSG y la PCR siguen siendo los marcadores rutinarios de inflamación de uso clínico más común. A pesar de sus limitaciones, les avala la sencillez en su determinación, la



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

facilidad de su uso y la experiencia acumulada en su uso a lo largo de décadas en la literatura. De ahí que sea pertinente investigar su distribución en una población general, así como los factores comunes (demográficos, metabólicos y de estilo de vida) que pueden influir en sus resultados. No infrecuentemente, la VSG y la PCR se solicitan conjuntamente en un mismo paciente, por lo que tiene un especial interés conocer los posibles factores asociados a la discordancia en sus valores (Trabajo número 2). Es posible que, en un futuro, estos marcadores (los reactantes, "*de segunda mano*", y la VSG, "*de tercera mano*", se vean desplazados por otros de "*primera mano*" según el esquema de la Figura 1, concretamente las múltiples citocinas séricas y sus moléculas relacionadas con poder proinflamatorio o con otras funciones especificas. En la presente tesis se analizan la distribución poblacional y los factores asociados a la que es, probablemente la más utilizada con este fin (marcador inflamatorio) como es la IL-6, junto con el análisis, con las mismas intenciones, de otro marcador inflamatorio más reciente y prometedor, como es la sIL-2R.

## 4.2. CONCLUSIONES COMENTADAS

La visión conjunta de los trabajos de esta tesis ofrece una serir de conclusiones generales, referibles, dada la población de estudio, a la población general adunta sin aparente enfecmedad inflamatoria activa. Dichas conclusiones generales se comentan a continuación.

### 4.2.1. La edad se asocia con un incremento de la VSG y de la IL-6. El efecto de la edad en la PCR es menor.

En estudios previos se ha visto que la inflamación es un fenómeno común durante el envejecimiento, como expresión de la desregulación de la red de citocinas y su homeostasis, fenónemo en ocasiones denominado "*inflammaging*" (*Franceschi et al., 2000*; *Rea*



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

*et al., 2018*). En este sentido, las citocinas proinflamatorias desempeñan un papel central en la remodelación del sistema inmunitario con la edad. Esta idea general es concordante con el aumento de marcadores de inflamación con la edad, tal y como se observa en los presentes trabajos. Esto es especialmente evidente para la VSG. Tanto en hombres como en mujeres, el percentil-97.5, que podría aplicarse como definitorio de normalidad, es 2-3 veces mayor en sujetos mayores de 80 años que en sujetos cuya edad está entre los 18 y 30 años (trabajo 1). Muy probablemente, estas diferencias deberían ser suficientes para establecer diferentes intervalos de referencia de normalidad en función de la edad (*Sasse, 1992; Lahti et al., 2004*). Hay que recordar que los sujetos del presente grupo de trabajos no presentaban ninguna enfermedad inflamatoria clínicamente manifiesta. Nuestros resultados indican, por ejemplo, que una VSG de 50 mm/hora nunca debe considerarse normal en una persona joven pero no tiene por qué ser indicativa de enfermedad en una persona de edad avanzada, especialmente si es mujer. Los hallazgos de la VSG en relación con la edad son concordantes con todos los estudios previos (*Hilder y Gunz, 1964; Bain, 1983; Sox et al. 1986; Shearn y Kang, 1986; Piva et al., 2001; Steinvil et al., 2008*). Nuestros datos permiten refrendar ese concepto en la población general adulta, de forma robusta, tras ajustar por múltiples covariables. Algo parecido ocurre con la edad y las concentraciones séricas de IL-6. Estas concentraciones aumentaron paulatinamente con la edad (trabajo 3). Así, el percentil-97.5 fue, aproximadamente el doble en los sujetos mayores de 80 años que en los menosres de 40 años. La edad, de hecho, fue el principal determinante de las conentraciones altas de IL-6 en esta población. De nuevo, las diferencias de IL-6 con la edad deberían ser suficientes para establecer valores de referencia en función de ella (*Sasse, 1992; Lahti et al., 2004*). Esto ha sido importante, por ejemplo, durante la reciente pandemia COVID-19, en la que los tratamientos anti-IL-6, como el



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

tocilizumab, cobraron protagonismo, especialmente si se tiene en cuenta que los niveles de IL-6 se utilizaron como criterio para el tratamiento en algunos protocolos y que la COVID-19 era (y es) más grave canto mayor es la edad del paciente (*McGonagle et al., 2020; Henry et al., 2020; Buonauguro et al., 2020; Fu et al., 2020*). Las concentraciones séricas de sIL-2R también aumentaron con la edad, especialmente en los sujetos mayores de 65 años (trabajo 4), aunque los resultados de esta molécula se comentan aparte. Las concentraciones séricas de PCD (trabajo 2) también tendieron a aumentar co la edad en esta población, si bien el efecto fue menos evidente que para la VSG y la IL-6 y tendió a atenuerse al ajustar por otras covariables (trabajo 2).

En conjunto, los datos son concordantes con un mayor estado inflamatorio asociado a la edad avanzada (*inflammaging*) (*Ferrucci et al., 1999; Harris et al., 1999; Forsey et al., 2003; Franceschi et al., 2014; Fredman et al., 2016*). Los resultados de estos trabajos resultan especialmente importantes por tratarse de una población general sin aparente enfermedad inflamatoria clínica. Las posibles consecuencias del mayor estado inflamatorio en la edad avanzada deberán elucidarse en estudios futuros.

#### 4.2.2. El sexo se asocia con diferentes niveles de marcadores de inflamación, pero de modo no uniforme: el sexo femenino se asocia con mayores niveles de VSG, el sexo masculino se asocia con mayores niveles de IL-6 y no se demuestra efecto independiente del sexo en los niveles de PCR.

Es conocido que el funcionamiento del sistema inflamatorio difiere entre hombres y mujeres (*Klein et al., 2016; Rainville et al., 2017*). Las diferencias hormonales pueden ser algunas de las causas. Los estrógenos en dosis bajas inducen niveles elevados de citocinas



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

como IL-6, IL-1β y TNF-α, mientras que en niveles altos pueden suprimir la actividad inflamatoria (*Bekhbat et al., 2018*). Es bien sabido que la VSG es mayor en mujeres que en hombres en todos los grupos de edad, y así se confirmó en el trabajo 1 de la presente tesis doctoral. Esta diferencia se mantiene tras ajustar por todas las posibles variables de confusión por las que se ha controlado. De hecho, la VSG es el único analito de uso habitual, junto con la gamma-glutamil transferasa (GGT), que en las analíticas rutinarias de nuestro centro de referencia (de modo similar a otros centros), establece diferentes niveles de normalidad para hombres y mujeres. El efecto del sexo se mantiene en todos los rangos de edad, por lo que, probablemente, existan para ello más causas subyacentes que las hormonales, pero estas causas son desconocidas. Por el contrario, en nuestro estudio encontramos que las concentraciones séricas de IL-6 fueron mayores en hombres que en mujeres, aunque el percentil 97.5 fue similar en ambos sexos (trabajo 2). Tras ajustar por potenciales factores de confusión, los niveles altos de IL-6 mantuvieron la asociación positiva con el sexo masculino. Sin embargo, en algunos estudios, el efecto de la IL-6 fue el contrario, encontrando asociasión con el sexo femenino (*Milan-Mattos et al., 2019*), lo que iría en concordancia con lo observado para la VSG y la posible influencia estrogénica. En nuestros estudios no encontramos diferencias significativas en los valores de PCR en relación al sexo (trabajo 3). Sin embargo, en estudios previos, se han encontrado niveles más elevados de PCR en mujeres (*Milan-Mattos et al., 2019*). En nuestros estudios (trabajo 4), las concentraciones de sIL-2R fueron más altas en varores que en mujeres, aunque esto se comenta más adelante. En conjunto, se puede decir que el efecto del sexo en los marcadores de inflamación no es uniforme ni enteramente consistente entre estudios, con la excepción de la mayor VSG en mujeres. Serán necesarios más estudios para conocer los factores que subyacen en esta diferencia y en las de los otros marcadores de inflamación.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

### 4.2.3. El consumo regular de alcohol ligero o moderado se asocia con unos menores niveles de VSG, PCR e IL-6 en comparación con los bebedores ocasionales y abstemios.

En nuestros trabajos encontramos que el consumo ligero de alcohol se asoció con una VSG más baja que las de los sujetos abstemios o bebedores ocasionales (trabajo 1) y lo mismo ocurrió con la PCR (trabajo 2), en ambos casos tras ajustar por potenciales factores de confusión. En el caso de la VSG, el efecto fue especialmente evidente entre las mujeres (trabajo 1). En la misma línea, los bebedores moderados de alcohol también mostraron niveles más bajos de IL-6 que los abstemios y bebedores ocasionales (trabajo 3) y niveles más bajos de sIL-2R (trabajo 4), aunque éstos se discuten separadamente más abajo.

Es conocido que el efecto del alcohol en la salud humana es dependiente de la dosis. Así, es posible que los bebedores ligeros a moderados tengan un menor riesgo de mortalidad por todas las causas en comparación con los abstemios, mientras que los bebedores excesivos tendrían un riesgo mayor (*O'Keefe et al., 2007*). Además, es posible que el consumo moderado de alcohol se asocie con un menor riesgo de enfermedad cardiovascular (*Klatsky, 1999; Holmes et al., 2014*) mientras que el consumo excesivo de alcohol aumenta el riesgo de cirrosis hepática, hipertensión arterial, enfermedad cerebrovascular, diabetes tipo 2, cáncer y deterioro de la función inmunitaria (*Ahmed, 1995; Szabo, 1998*). En el caso del sistema inmunitario, el consumo moderado de alcohol puede asociarse con cierto efecto antiinflamatorio, mientras que el consumo excesivo crónico de alcohol se asocia con el efecto contrario y con un mayor riesgo de infecciones bacterianas y virales (*Boule et al., 2017*). El consumo de alcohol además modula los niveles plasmáticos de varias citocinas y otros factores. Varios estudios de cohortes han mostrado una asociación



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

negativa entre el consumo moderado de etanol y los niveles plasmáticos de PCR (*Imhof et al., 2001, Albert MA et al., 2003; Pai JK et al., 2006*). También se había reportado asociación negativa entre el consumo de alcohol y las concentraciones de IL-6 (*Pai et al., 2006*). Dado el papel conocido de la inflamación en el riesgo cardiovascular, los resultados serían consistentes con el efecto antiinflamatorio de las dosis ligeras-moderadas de alcohol como mecanismo para la protección cardiovascular de este tipo de ingesta (*Lagrand et al., 1999*).

En nuestros trabajos no encontramos una asociación significativa entre el consumo excesivo de alcohol y la modificación de los niveles de marcadores de inflamación. Probablemente, aunque se caracterice como consumo excesivo la ingesta de 280 g de alcohol o más por semana (40 g al día o más), no sean niveles de ingesta suficientes para producir el daño inflamatorio que consiguen mayores niveles de consumo. La mediana de consumo de alcohol en los bebedores excesivos de nuestro estudio fue 50 g al día, mientras que la mediana en bebedores excesivos ingresados en el hospital de nuestra área que sí presentaron elevación de marcadores de inflamación fue 120 g al día (*Campos et al., 2005*).

En conjunto, los datos son consistentes con un efecto antiinflamatorio, siempre moderado, de la ingesta crónica de pequeñas cantidades de alcohol diario. El potencial beneficio antiinflamatorio y/o cardiovascular de estas dosis de alcohol no debe alentar dicha forma de consumo, ya que, para otros efectos del alcohol como el cáncer, no existe ese comportamiento bimodal, protector a dosis bajas (*Rhem et al., 2004; Rehm et al., 2017; Rehm y Shield, 2021*).



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

### 4.2.4. El tabaquismo activo se asocia con unos mayores niveles de VSG, PCR e IL-6.

El consumo activo de cigarrillos se asoció en nuestra experiencia, respecto a los sujetos no fumadores, con elevación de los marcadores de inflamación, tanto la VSG (trabajo 1), como la PCR (trabajo 2), como la IL-6 (trabajo 3). La asociación fue, en todos los casos, de un efecto moderado en comparación a otras covariables. Asimismo, el tabaquismo se asoció, en este caso fuertemente, con unos mayores niveles séricos de sIL-2R (trabajo 4), que se discuten aparte más abajo.

Es bien conocido el daño nocivo de la exposición a sustancias químicas tóxicas que supone el hábito tabáquico, suponiendo una de las principales causas evitables de morbimortalidad. Su toxicidad viene derivada de sus efectos sobre el sistema inmunológico-inflamatorio y por tanto sobre la respuesta inflamatoria (*Rom et al., 2013*). Una de las alteraciones que se ha visto relacionada con fumar afecta a una serie de mediadores biológicos de la inflamación a través de su efecto sobre las células inmunoinflamatorias, lo que lleva a un estado inmunosupresor, fundamentalmente a través de mecanismos moleculares que involucran a la familia del factor nuclear kappa B (NF-kB) (*Gonçalves et al., 2011*). Además, se ha visto que el humo del cigarrillo aumenta la producción de citocinas proinflamatorias, como el TNF-alfa, la IL-1, IL-6 e IL-8, y disminuye los niveles de citocinas antiinflamatorias como IL-10 (*Arnson et al., 2012; Wannamethee et al., 2005*). Nuestros resultados son consistentes con el efecto proinflamatorio del tabaco y acorde a la asociación entre el tabaco y marcadores de inflamación objetivados en estudios previos (*Aldaham et al., 2015; Wang T et al., 2020*). En otros estudios, sin embargo, no se encontraron diferencias análogas (*Aksu et al., 2013*).



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

La magnitud del efecto del tabaco sobre los niveles de matcadores de inflamación no es, probablemente, suficiente para establecer diferentes niveles de referencia (*Sasse, 1992; Lahti et al., 2004*) pero, sumado a otros efectos, puede ayudar a interpretar algunas elevaciones de estos marcadores en ciertas circunstancias.

### 4.2.5. El ejercicio físico regular moderado y alto se asocia con unos menores niveles de VSG y no se demuestra un efecto independiente del mismo sobre la PCR o la IL-6.

En la población general adulta, la práctica de actividad física regular, particularmente de alta intensidad, se asoció con menores niveles de VSG, en comparación con los individuos que realizaban baja actividad física (artículo 1). En nuestros estudios, sin embargo, no se demostró un efecto independiente de la actividad física sobre la PCR o la IL-6 tras ajuste por otras covariables.

En general, se asume que el ejercicio físico tiene un efecto atiinflamatorio (*Pinto et al., 2012*). Es bien conocido que la inactividad física favorece el desarrollo de síndromes metabólicos o trastornos relacionados con la edad (*Suzuki, 2019*), mediante la infiltración de macrófagos inflamatorios en los tejidos grasos, la producción de citocinas inflamatorias y necrosis/fibrosis celular (*Kawanishi et al., 2013*). La OMS y el *American College of Sports Medicine* (ACSM) recomiendan un mínimo de 150 min de actividad física moderada a vigorosa por semana para la promoción de la salud (*Nemoto et al., 2018*). En línea con nuestros estudios, estudios previos han demostrado niveles menores de VSG en una muestra seleccionada de individuos de edad avanzada, así como una correlación negativa entre reactantes de fase aguda como la PCR y el ejercicio (*Geffken et al., 2001*). Se ha sugerido que la interleucina IL-6 es un importante contribuyente a los efectos antiinflamatorios del ejercicio (*Pedersen et*



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

*al., 2008*). Los músculos al contraerse producen IL-6 y la liberan a la circulación dependiendo de la demanda de energía; esta IL-6 moviliza sustratos energéticos de manera similar a las hormonas del estrés. Por lo tanto, se consideró que la IL-6 respaldaba el suministro de energía y el rendimiento de resistencia y, por lo tanto, se la denominó mioquina (*Pedersen et al., 2008*). A su vez el ejercicio agudo aumenta la producción de IL-6 por el músculo (*Febbraio et al., 2002*). Parece ser que la IL-6, cuando es segregada por el músculo inducida por el ejercicio, inhibe la síntesis de TNF-α, actuando como anti-inflamatoria y contribuyendo a la reducción de la inflamación crónica (*Pal et al., 2014; Starkie et al., 2003*). Fallon et al. estudiaron varios reactantes de fase aguda, entre ellos PCR y VSG durante un período de descanso y después de semanas de entrenamiento moderado y pesado en miembros de equipos de élite y no encontraron respuesta significativa en ningún marcador inflamatorio estudiado (*Fallon et al., 2001*). En otro estudio, los autores seleccionaron a un grupo de 18 atletas que competían en un triatlón de 160 km y los evaluaron analíticamente con numerosos determinantes (incluyendo hierro plasmático, lactoferrina, ferritina, haptoglobina, cortisol y recuento de leucocitos, entre otros) a los a los 30 min, 24 h y 48 h de finalizar. En lo que se refiere a la PCR, encontraron que aumentó casi un 300% a las 24 horas (*Taylor et al., 1987*). Todas estas controversias sobre el efecto del ejercicio físico sobre los reactantes de fase aguda, hacen que sean necesarios más estudios para dilucidar su efecto concreto sobre los mismos. En nuestra experiencia, la actividad física regular no tuvo un efecto determinante sobre los marcadores clínicos habituales de inflamación, con la excepción mencionada para la VSG.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

### 4.2.6. La obesidad y los trastornos metabólicos con ella relacionados se asocian con unos mayores niveles de VSG, de IL-6 y de PCR, de la que es el principal determinante.

En nuestro estudio en la población general adulta, los niveles de VSG fueron mayores en individuos con trastornos metabólicos, incluyendo sobrepeso, obesidad y síndrome metabólico (artículo 1). De modo similar, tanto la concentración de PCR sérica como de IL-6 sérica se correlacionaron positivamente con el índice de masa corporal, al igual que los niveles de sIL-2R (trabajos 2, 3, y 4). El índice masa corporal (trabajo 2) fue el factor con asociación positiva más fuerte con la PCR sérica.

Estos hallazgos, o similares, han sido descrito previamente y son consistentes con el estado proinflamatorio que suponen estos trastornos. La obesidad y el síndrome metabólico son trastornos inflamatorios crónicos de bajo grado, lo cual es responsable de parte de sus complicaciones. Esta inflamación está sostenida gracias a la secreción adipocinas inflamatorias por los adipocitos disfuncionales y a la infiltración de células inmunitarias que emiten señales a través de la producción de citocinas y quimiocinas (*Roberto et al., 2015; Kawai et al., 2020*). Estos hallazgos van en línea con otros estudios que confirman el papel de la inflamación en las enfermedades cardiometabólicas (*Esser et al., 2015; Chandrasekhar J et al., 2020*). Todas estas enfermedades se caracterizan por factores proinflamatorios elevados (IL-6, entre otras), factores antiinflamatorios disminuidos (adiponectina) y presencia de células inmunitarias activadas (como macrófagos y linfocitos T) (*Al-Mansoori et al., 2021*). Esto hace que algunos autores consideren al tejido adiposo como a una glándula inflamatoria. En la misma línea, los marcadores inflamatorios elevados son un dato predictivo independiente de riesgo vascular. El más estudiado ha sido la PCR,



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

pero también la elevación de VSG y de IL-6 muestran una similar asociación (*Böttiger et al., 1973; Kaptoge S et al., 2014; Daniels, 2016; Fanola et al., 2017; Wu et al., 2002*).

Nuestro estudio no fue dirigido al riesgo cardiovascular, sino a las covariables que pueden influenciar los niveles de marcadores de uso clínico en la práctica habitual. En este sentido, el efecto de la obesidad y el síndrome metabólico asociado con los niveles de PCR cobra especial importancia, especialmente cuando sus niveles elevados se acompañan de valores normales de VSG, como se discute en el punto siguiente.

### 4.2.7. El aumento de PCR con cifras normales de VSG se asocia con un mayor índice de masa corporal, mientras que el aumento de VSG con cifras normales de PCR se asocia con una mayor edad.

La solicitud simultánea de VSG y de PCR en sujetos asintomáticos puede no ser una práctica recomendable como test de cribado de enfermedad, pero lo cierto es que, con frecuencia, se solicitan ambas determinaciones con esta o parecida intención. Es por ello importante analizar los posibles factores asociados a la discordancia en sus resultados. Las determinaciones de de PCR y VSG tienen propósitos similares (diagnóstico y seguimiento de enfermedades inflamatorias), pero son medidas distintas influenciadas por diferentes factores. En el trabajo 2, además del estudio de la distribución de los valores de PCR en la población y sus factores asociados, estudiamos las discordancias entre ambas determinaciones. Este tema había sido estudiado en trabajos previos con pacientes con diferentes enfermedades o con mezcla de ellas, pero no en individuos de una población general. Los estudios que han investigado las causas de discordancia entre VSG y PCR, realizados en grupos heterogéneos de pacientes, ofrecen resultados dispares lo cual es, en parte,



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

justificable por los entornos diferentes en los que los estudios fueron realizados (*Hansson et al., 1995; Costembader et al., 2007; Colombet et al., 2010; Feldman et al., 2013; Bray et al., 2016*). Es plausible que el hallazgo de VSG elevada con PCR normal se observe durante la resolución de los procesos inflamatorios (*Hansson et al., 1995; Colombet et al., 2010*) dada la mayor lentitud en los movimientos (tanto de ascenso como de descenso) de la VSG y a que la PCR tiene una vida media corta (*Bray et al., 2016*). La presencia de VSG elevada con PCR normal también se ha visto asociada con infección osteoarticular (*Costembader et al., 2007; Bray et al., 2016*) insuficiencia renal (*Costembader et al., 2007*), mieloma múltiple y otras discrasias de células plasmáticas (*Bray et al., 2016*), algunas conectivopatías como el lupus eritematoso sistémico y la enfermedad cerebrovascular (*Feldman et al., 2013*). Por el contrario, la presencia de PCR elevada con VSG normal se ha visto asociada con otras infecciones (*Feldman et al., 2013*), artritis reumatoide (*Costembader et al., 2007*), enfermedad inflamatoria activa (*Costembader et al., 2007*), infarto de miocardio y enfermedad tromboembólica venosa (*Feldman et al., 2013*). En lo que respecta a enfermedades inflamatorias específicas, como la artritis reumatoide, algunos sistemas de puntuación de actividad de uso habitual, basados en el número de articulaciones afectadas, siguen incluyendo, además, la VSG, sin clara diferencia en la precisión respecto al uso de similares sistemas de puntuación que incluyen la PCR en lugar de la VSG (*Wells et al., 2009; Nielung et al., 2015*). En la arteritis de células gigantes, la VSG sigue estando entre los criterios vigentes de clasificación, con una ponderación elevada (*Ponte et al., 2022*). En esta entidad, la VSG y la PCR tienen una precisión diagnóstica similar, aunque hay casos discordantes en función de dónde se disponga el punto de corte de ambos marcadores (*Parikh et al., 2006; Kermani et al., 2012, Chan et al., 2019*). En la polimialgia reumática, entidad relacionada, es posible que la VSG sea un mejor predictor de



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

recaída que la PCR, aunque la PCR puede ser un indicador más sensible de actividad que la VSG (*Cantini et al., 2000*). Por acabar con algunos ejemplos de vigencia de la VSG, en la infección osteoarticular la VSG y la PCR mostraron similar precisión diagnóstica en un metaanálisis (*Lapic et al., 2020*).

En nuestro estudio (trabajo 2) en una población general adulta, la elevación de VSG con una PCR normal (presente en el 5% de los sujetos) se asoció independientemente con una mayor edad. Por otro lado, la elevación de PCR con VSG normal (presente en el 14.5% de los sujetos) se asoció con un índice de masa corporal elevado. Estos hallazgos pueden tener importancia clínica a la hora de interpretar los resultados de estos marcadores de uso común en la población, y son consistentes con lo expresado en puntos anteriores, con la edad como determinante principal de la VSG (junto con el sexo) y el índice de masa corporal como determinante fundamental de la PCR. La elevada frecuencia de obesidad y sobrepeso en esta población (presentes en más de los dos tercios de la misma) explicaría esta elevada proporción de discordancia entre VSG y PCR, con PCR anormal.

#### 4.2.8. En lo que respecta a la sIL-2R, nuevo marcador en desarrollo, de modo análogo a algunos de los marcadores clásicos, sus niveles séricos aumentan con la edad, son mayores en varones, en fumadores y en sujetos con obesidad, al igual que son menores en bebedores ligeros de alcohol. A diferencia de los marcadores clásicos, los niveles de sIL-2R son mayores en los sujetos con atopia.

La distribución y los factores asociados con las concentraciones de sIL-2R en la población se discuten aparte porque este marcador es de reciente introducción y no forma parte, todavía, de la rutina clínica habitual, salvo en procesos concretos. La sIL-2R está cobrando



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

especial importancia en el diagnóstico y seguimiento de ciertas enfermedades, como es la sarcoidosis, la enfermedad relacionada con IgG4 y algunos trastronos hematológicos (*Takahashi et al., 1991; Grutters et al., 2003; Gundlach et al., 2016; Tang et al., 2020; Sakai et al., 2014*). De hecho, los niveles elevados de sIL-2R se han correlacionado con un mal pronóstico en tumores malignos que van desde el linfoma no Hodgkin hasta el carcinoma hepatocelular (*Niitsu et al., 2001; Cabrera et al., 2010*). Los niveles elevados de sIL-2R son un sello distintivo del síndrome hemofagocítico, también llamado lifohistiocitosis hemofagocítica (HLH) (*Lin et al., 2017*), que es el resultado de un sistema inmunitario hiperactivado con una tormenta de citocinas proinflamatorias y un fallo multiorgánico (*Hayden et al., 2017*). La HLH puede ser secundaria a tumores malignos, infecciones (como el virus de Epstein Barr) y trastornos reumatológicos, o primaria debida a errores congénitos. Los niveles de sIL-2R se han incorporado a los criterios diagnósticos de HLH (*Henter et al., 2007*). Asimismo, dada su implicación en el desarrollo de la tormenta de citocinas, de forma similar a lo que sucede en HLH, ha cobrado especial interés durante la pandemia COVID19 (*Azmy et al.., 2021*).

En nuestro estudio observamos que, en la población general (trabajo 4), los niveles séricos de sIL-2R aumentan con la edad, son mayores en varones, en fumadores y en sujetos con obesidad, al igual que son menores en bebedores ligeros de alcohol. Un estudio previo en una muestra más pequeña de donantes de sangre no observó diferencias en las concentraciones de sIL-2R en cuanto al sexo (*Rothkrantz-Kos et al., 2004*). Las concentraciones más altas de sIL-2R en hombres son consistentes con los resultados de una muestra de individuos mayores de 65 años (*Durda et al., 2015*), y con un efecto de los estrógenos que pueda suprimir la IL-2 y el receptor de IL-2 (*McMurray et al., 2001*). La relación con la edad también se observó en estudios centrados en personas mayores de 65 años (Durda et al.,



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2015) y en estudios que compararon ancianos sanos con controles no ancianos (*Manoussakis et al. 1990*). El percentil 97.5 entre los individuos mayores de 65 años de nuestra serie fue más del doble que el rango de referencia recomendado, lo que indica además que el valor de referencia superior debe incrementarse en este grupo de edad. Los factores relacionados con el estilo de vida como son el consumo de alcohol y el tabaquismo influyeron en las concentraciones séricas de sIL-2R. De modo consistente con estudios anteriores (*Lassalle et al., 1992; Tollerud et al., 1992*), fumar se asoció con concentraciones más altas de sIL-2R. Este resultado concuerda con un efecto proinflamatorio global del tabaquismo (*Tollerud et al., 1992*). En lo que respecta al consumo del alcohol, el consumo ligero se asoció de forma independiente con concentraciones séricas más bajas de sIL-2R. Hasta donde sabemos, esta asociación se había publicado previamente y es consistente con un efecto antiinflamatorio del consumo de alcohol en dosis bajas, como se ha comentado en apartados precedentes. Los trastornos metabólicos comunes (concretamente, los componentes del síndrome metabólico, como la obesidad abdominal) se asociaron con concentraciones séricas más altas de sIL-2R. Durda et al. observaron asociaciones similares de las concentraciones de IL-2R con anormalidades metabólicas en una muestra seleccionada de individuos mayores de 65 años (*Durda et al., 2015*). Por el contrario, la hipertrigliceridemia se asoció negativamente con las mediciones de sIL-2R. Esto es consistente con el hallazgo de inhibición de la expresión de IL-2R por suero hiperlipémico in vitro (*Terao y Fukase, 1991*). En línea con la asociación de sIL-2R con factores de riesgo como trastornos metabólicos y tabaquismo, los pacientes con antecedentes de cardiopatía isquémica mostraron concentraciones más altas de sIL-2R que los pacientes sin ella, de modo independiente. Estos resultados son consistentes con un estado proinflamatorio en pacientes con cardiopatía isquémica (*Liuzzo y Rizzello, 2001; Natali et al., 2003*), que también se ha comentado en apartados precedentes.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

A diferencia de los marcadores inflamatorios clásicos, como la IL-6 (trabajo 3), la VSG y la PCR (datos no mostrados) los niveles de sIL-2R son mayores en los sujetos con atopia (positividad de las pruebas cutáneas para aeroalérgenos) que en los sujetos sin atopia, después de ajustar por los potenciales factores de confusión. En niños se ha observado una asociación similar entre atopia (el trastorno inmunitario más frecuente en los países industrializados) y sIL-2R (*Matsumoto et al., 1991; Miller et al., 1996*) pero no en muestras más pequeñas de adultos (*Lassalle et al., 1992; Tollerud et al. 1992*). Sin embargo, son necesarios más estudios para conocer el papel potencial de IL-2 y sIL-2R en el asma alérgica y no alérgica.

En conjunto, las concentraciones de sIL-2R, un marcador novedoso de posible implementación futura, se ven afectados por factores comunes en la población, especialente la edad, que requeriría, probablemente, una definición específica de valores de referencia (*Lahti et al., 2004*).

## 4.3. FORTALEZAS Y LIMITACIONES DE LOS ESTUDIOS

### 4.3.1. Fortalezas de los estudios

La primera fortaleza de los estudios puede ser su diseño, basado en el muestreo aleatorio de una población general adulta. Existen pocos estudios que analicen la distribución de las determinaciones de laboratorio en poblaciones generales. La mayoría de los estudios encaminados a definir valores de referencia de los analitos se basan en muestras de voluntarios *sanos* o de donantes de sangre. Este tipo de muestreo, tan seleccionado, puede no ser representativo de la población general. Además, esos voluntarios o donantes no suelen estar adecuadamente caracterizados. No es posible, con esos tipos de muestreo, investigar la posible influencia de factores comunes



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(demográficos, metabólicos o de estilo de vida) en los niveles de los analitos, en este caso de los marcadores de inflamación. Esa puede ser la segunda fortaleza de los presentes estudios, es decir, haber investigado simultáneamente la influencia de múltiples posibles factores en los niveles de los marcadores de inflamación de uso más habitual, cosa que no se había hecho hasta la fecha, en nuestro conocimiento. Los resultados permiten así una visión global de estos marcadores en la población general, de todos los grupos de edad y sexo, con y sin alteraciones metabólicas comunes (obesidad y los componentes del síndrome metabólico), con y sin hábitos tóxicos (consumo de alcohol en sus diferentes grados y tabaquismo), e incluso en relación con la actividad física regular. Por último, los estudios tienen la fortaleza del amplio tamaño muestral, que les confiere potencia estadística para investigar relaciones con poca fuerza de asociación y para ajustar por el resto de covariables, con garantías.

### 4.3.2. Limitaciones de los estudios

Las limitaciones de cualquier estudio se pueden clasificar en aquellas que comprometen su validez interna o externa. Las primeras incluyen los posibles sesgos de confusión, de selección, de medición (clasificación) o de análisis (especificación). La validez externa hace referencia a la *generalizabilidad* de los resultados. Algunas limitaciones son inherentes al diseño, como se desarrolla a continuación.

#### Limitaciones inherentes al diseño

El presente se trata de un grupo de estudios observacionales y de diseño transversal (de corte). La ambigüedad temporal es una limitación inherente al diseño transversal cuando se investiga causalidad. En este tipo de diseño es posible la *causalidad inversa* y la



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

denominada falacia de Neyman o sesgo incidencia-prevalencia. De todas maneras, este tipo de estudios es el habitual cuando el objetivo fundamental buscado es analizar la distribución de marcadores clínicos de enfermedad en una población general (en este caso, marcadores de inflamación) y su posible asociación con factores comunes, a efectos de interpretación de sus resultados en la práctica. En los presentes estudios no se ha investigado el valor pronóstico de estos marcadores, que requeriría otro tipo de diseño.

### Problemas de confusión

La confusión, en términos epidemiológicos (distorsión de la asociación entre un potencial agente causal y el efecto por una tercera variable que se asocia con la exposición y, causalmente, con el efecto) puede considerarse un sesgo o no (de ahí el epígrafe de *problema*), según la intención del estudio. Cuando el estudio investiga causalidad, como el actual, y no la búsqueda de meros marcadores (predicción), la confusión supone un sesgo. El problema de la confusión puede controlarse en los análisis de los datos mediante estratificación o mediante modelos multivariantes, siempre que se hayan recogido las variables necesarias. El grupo de presentes estudios, realizados de forma prospectiva y basados en protocolos pre-establecidos, ha intentado recoger el mayor número de covariables posible para ajustar en los modelos multivariantes correspondientes y confirmar así que determinada asociación encontrada puede ser real (causal y no espúrea). Así, por ejemplo, se ha desgranado la obesidad y el síndrome metabólico en sus componentes. Sin embargo, es imposible controlar todos los factores de confusión en un estudio observacional. El mejor ejemplo es la edad, que muestra una fuerte asociación con algunos marcadores de inflamación, como la VSG. La edad, en si misma, como evento cronológico, no es un factor, sino que otros



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

factores asociados a la edad, en buena parte desconocidos, han de ser los responsables de ese efecto aparente de el paso de los años.

### Problemas de selección

Los problemas de selección pueden aparecen en el muestreo o por pérdidas selectivas de información. Se ha comentado más arriba que el muestreo (aleatorio y basado en la población general) puede ser una de las fortalezas del estudio. Siendo así, hay que reconocer que ningún muestreo es perfecto. La cobertura por el Sistema Público de Salud, base para el muestreo, no es universal, aunque alcanza la gran mayoría de la población. La participación en el estudio se puede considerar adecuada para este tipo de iniciativas, y no hubo diferencias apreciables en las variables básicas (edad hábitat rural/urbano) entre los sujetos que participaron en el estudio y los que no, aunque la participación fue algo mayor en mujeres y no fue universal, como es lo habitual. La información para el estudio estuvo disponible en prácticamente todos los participantes. En conjunto, dada la intención de los estudios (análisis de marcadores de laboratorio), es poco probable que estos posibles problemas en la selección hayan influido en los resultados.

### Problemas de medición (clasificación)

La información de las variables de exposición (demográficas, metabólicas, inmunológicas comunes y de estilo de vida) se recogió mediante medidas objetivas (como las antropométricas y de presión arterial en las alteraciones metabólicas), de laboratorio (mediante técnicas estandarizadas en el laboratorio de referencia, como para la definición de las mismas alteraciones metabólicas) o mediante cuestionarios validados, administrados por un sanitario. Las variables de efecto (marcadores de inflamación) también fueron determinadas



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

mediante técnicas estandarizadas en el laboratorio de referencia, mediante dispositivos comerciales, siempre siguiendo las instrucciones de los fabricantes. Ninguna herramienta de medida, sin embargo, es perfecta. La precisión de las técnicas de laboratorio se ha reflejado en los apartados correspondientes. Los cuestionarios, aunque validados en España y administrados por un sanitario entrenado, tampoco son una medida perfecta. Es el caso, por ejemplo, de la cuantificación del consumo de alcohol, que es una difícil disciplina en si misma, expuesta a sesgos de medición. El haber realizado los cuestionarios en el centro sanitario (centro de salud al que pertenecían los participantes) es un punto a favor para pensar que los participantes han respondido con veracidad, con escaso *efecto Hawthorne* (sesgo por el que los sujetos de un estudio modifican su actitud al saber que están siendo estudiados), más propio de otros entornos, como el laboral. Mucha de la información que ha de recogerse (antecedentes y datos de la historia) tienen un componente retrospectivo, con las limitaciones bien conocidas de ello (*Talari y Goyal, 2020*). En cualquier caso, es adecuado pensar que los posibles sesgos de clasificación, de haberlos, fueron no-diferenciales, con lo cual los hallazgos hubieran tendido hacia el nulo (no asociación, en su caso) lo cual, de alguna manera, refuerza la verosimilitud de los hallazgos observados.

### Problemas de especificación (análisis)

Los resultados espurios pueden aparecer por el uso de herramientas estadísticas inadecuadas. En general, la mayoría de las técnicas utilizadas en el estudio ha sido básica y siempre supervisada por expertos. Se ha preferedido la estadística no paramétrica, a pesar del amplio tamaño muestral, por el tipo de distribución de la gran mayoría de variables. Esta estadística es más exigentente, en general para llegar al umbral de *significación*, lo cual también representa un



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

sesgo conservador que reforzaría las conclusiones. La supervisión ha sido especialmente estricta en los modelos multivariantes empleados, que son fuente frecuente de este tipo de sesgos. En todos los casos se ha buscado el tipo de regresión que mejor se adaptaba a la distribución de los datos y se ha comprobado el cumplimiento de los requisitos de cada modelo.

### Limitaciones a la validez externa

Asumiendo la validez interna de los resultados de acuerdo con los párrafos anteriores, queda por determinar la validez externa, esto es, la *generalizabilidad* de los resultados. El estudio se ha realizado en población adulta. Si bien el rango de edades estudiadas fue amplio, los resultados no pueden extrapolarse a sujetos de edades infanto-juveniles (menores de 18 años), que no han sido incluidos. Aunque no han sido descritas hasta ahora diferencias apreciables en los marcadores de inflamación entre las diferentes etnias, es preciso tener en cuenta que todos los participantes en el presente estudio fueron de etnia blanca (*caucásica*), por lo que los datos obtenidos sólo pueden extrapolarse a los mismos, de entrada. El muestreo se realizó en una población concreta (municipio de A-Estrada, comunidad autónoma de Galicia, España). Aún tratándose de una muestra así seleccionada, no parece que haya, de entrada, razones para pensar que el comportamiento de la distribución de los marcadores de inflamación y sus asociaciones sea diferente al de otras poblaciones de similar edad, sexo y etnia. Con las limitaciones mencionadas, parace sensato pensar que las conclusiones son así generalizables.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

# 5

# Conclusiones

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# 5. CONCLUSIONES

En lo que respecta a los marcadores de inflamación de uso más habitual (VSG y niveles séricos de PCR e IL-6), en sujetos adultos sin aparente enfermedad inflamatoria:

1. La edad se asocia con un incremento de la VSG y de la IL-6. El efecto de la edad en la PCR es menor.

2. El sexo se asocia con diferentes niveles de marcadores de inflamación, pero de modo no uniforme: el sexo femenino se asocia con mayores niveles de VSG, el sexo masculino se asocia con mayores niveles de IL-6 y no se demuestra efecto independiente del sexo en los niveles de PCR.

3. El consumo regular de alcohol ligero o moderado se asocia con unos menores niveles de VSG, PCR e IL-6, en comparación con los bebedores ocasionales y abstemios.

4. El tabaquismo activo se asocia con unos mayores niveles de VSG, PCR e IL-6.

5. El ejercicio físico regular moderado y alto se asocia con unos menores niveles de VSG y no se demuestra un efecto independiente del mismo sobre la PCR o la IL-6.

6. La obesidad y los trastornos metabólicos con ella relacionados se asocian con unos mayores niveles de VSG, de IL-6 y de PCR, de la que es el principal determinante.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

7. El aumento de PCR con cifras normales de VSG se asocia con un mayor índice de masa corporal, mientras que el aumento de VSG con cifras normales de PCR se asocia con la edad.

En lo que respecta a la sIL-2R, nuevo marcador en desarrollo, de modo análogo a algunos de los marcadores clásicos, sus niveles séricos aumentan con la edad, son mayores en varones, en fumadores y en sujetos con obesidad, al igual que son menores en bebedores ligeros de alcohol. A diferencia de los marcadores clásicos, los niveles de sIL-2R son mayores en los sujetos con atopia.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

# 6

# Fuentes Referenciadas

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# 6. FUENTES REFERENCIADAS


Adult Treatment Panel III, 2001. Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. Executive summary of third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. JAMA 2011;285:2486–2497.

Ahmadi-Abhari S, Luben RN, Wareham NJ, et al. Distribution and determinants of C-reactive protein in the older adult population: European Prospective Investigation into Cancer- Norfolk study. Eur J Clin Invest 2013;43:899–911.

Ahmed FE. Toxicological effects of ethanol on human health. Crit Rev Toxicol 1995;25:347-367.

Ajubi NE, Bakker AJ, van den Berg GA. Determination of the length of sedimentation reaction in blood using the TEST 1 system: comparison with the Sedimatic 100 method, turbidimetric fibrinogen levels, and the influence of M-proteins. Clin Chem Lab Med 2006;44:904–906.

Aksu F, Capan N, Aksu K, et al. C-reactive protein levels are raised in stable chronic obstructive pulmonary disease patients independent of smoking behavior and biomass exposure. J Thorac Dis 2013;5:414-421.

Al-Mansoori L, Al-Jaber H, Prince MS, et al. Role of inflammatory cytokines, growth factors and adipokines in adipogenesis and insulin resistance. Inflammation 2022;45:31-44.

Albert MA, Glynn RJ, Ridker PM. Alcohol consumption and plasma concentration of C-reactive protein. Circulation 2003;107:443–447.

Albert MA, Glynn RJ, Ridker PM. Effect of physical activity on serum C-reactive protein. Am J Cardiol 2004;93:221-225.




USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Aldaham S, Foote JA, Chow HH, et al. Smoking status effect on inflammatory markers in a randomized trial of current and former heavy smokers. Int J Inflam 2015;2015:439396.

Arenas-Ramirez N, Woytschak J, Boyman O. Interleukin-2: Biology, design and application. Trends Immunol 2015;36:763-777.

Arikan S, Akalin N. Comparison of the erythrocyte sedimentation rate measured by the Micro Test 1 sedimentation analyzer and the conventional Westergren method. Ann Saudi Med 2007;27:362-365.

Arnson Y, Shoenfeld Y, Amital H. Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. J Autoimmun 2012; 34:258-265.

Azmy V, Kaman K, Tang D, et al. Cytokine profiles before and after immune modulation in hospitalized patients with COVID-19. J Clin Immunol 2021;41:738-747.

Bain BJ. Some influences on the ESR and the fibrinogen level in healthy subjects. Clin Lab Haematol 1983;5:45–54.

Barati M, Alinejad F, Bahar MA, et al. Comparison of WBC, ESR, CRP and PCT serum levels in septic and non-septic burn cases. Burns 2008;34:770-774.

Barr T, Helms C, Grant K, et al. Opposing effects of alcohol on the immune system. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2016;65:242-251.

Bekhbat M, Neigh GN. Sex differences in the neuro-immune consequences of stress: Focus on depression and anxiety. Brain Behav Immun 2018;67:1-12.

Belfki H, Ben Ali S, Bougatef S, et al. Relationship of C-reactive protein with components of the metabolic syndrome in a Tunisian population. Eur J Intern Med 2012;23:e5-9.

Bermudez EA, Rifai N, Buring JE, et al. Relation between markers of systemic vascular inflammation and smoking in women. Am J Cardiol 2002;89:1117–1119.

Bikle DD, Genant HK, Cann C, et al. Bone disease in alcohol abuse. Ann Intern Med 1985;103:42-48.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive protein. J Biol Chem 2004;279:48487–48490.

Boyman O, Sprent J. The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. Nat Rev Immunol 2012;12:180-190.

Bonora E, Kiechl S, Willeit J, et al. Metabolic syndrome: epidemiology and more extensive phenotypic description. Cross-sectional data from the Bruneck study. Int J Obes Relat Metab Disord 2003;27:1283–1289.

Böttiger LE, Carlson LA, Ekelund LG, et al. Raised erythrocyte sedimentation rate in asymptomatic hyperlipidaemia. Br Med J 1973;2:681-684.

Boule LA, Kovacs EJ. Alcohol, aging, and innate immunity. J Leukoc Biol 2017;102:41-55.

Bray C, Bell LN, Liang H, et al. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein measurements and their relevance in clinical medicine. WMJ 2016;115:317-321.

Brigden M. The erythrocyte sedimentation rate. Still a helpful test when used judiciously. Postgrad Med 1998;103:257-262.

Brizzi MF, Formato L, Dentelli P, et al. Interleukin-3 stimulates migration and proliferation of vascular smooth muscle cells: a potential role in atherogenesis. Circulation 2001;103:549-554.

Bruunsgaard H. Physical activity and modulation of systemic low-level inflammation. J Leukoc Biol 2005;78:819-835.

Buonaguro FM, Puzanov I, Ascierto PA. Anti-IL6R role in treatment of COVID-19-related ARDS. J Transl Med 2020;18:165.

Cabrera R, Ararat M, Cao M, et al. Hepatocellular carcinoma immunopathogenesis: clinical evidence for global T cell defects and an immunomodulatory role for soluble CD25 (sCD25). Dig Dis Sci 2010;55:484-495.

Campos J, Gonzalez-Quintela A, Quinteiro C, et al. The -159C/Tpolymorphism in the promoter region of the CD14 gene is associated with advanced liver disease and higher serum levels of acute- phase proteins in heavy drinkers. Alcohol Clin Exp Res 2005;29: 1206–1213.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Cantini F, Salvarani C, Olivieri I, et al. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in the evaluation of disease activity and severity in polymyalgia rheumatica: a prospective follow-up study. Semin Arthritis Rheum 2000;30:17-24.

Carter KW, Hung J, Powell BL, et al. Association of Interleukin-1 gene polymorphisms with central obesity and metabolic syndrome in a coronary heart disease population. Hum Genet 2008;124:199-206.

Chan FLY, Lester S, Whittle SL, etal. The utility of ESR, CRP and platelets in the diagnosis of GCA. PMR with a normal ESR at diagnosis was infrequent in our study compared with previous studies. BMC Rheumatol 2019;3:14

Chandrasekhar J, Zaman S. Associations between C-reactive protein, obesity, sex, and PCI outcomes: The fat of the matter. JACC Cardiovasc Interv 2020;13:2893-2895.

Chen LYC, Biggs CM, Jamal S, et al. Soluble interleukin-6 receptor in the COVID-19 cytokine storm syndrome. Cell Rep Med 2021;2:100269.

Chung HY, Cesari M, Anton S, et al. Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. Ageing Res Rev 2009;8:18-30.

Colombet I, Pouchot J, Kronz V, et al. Agreement between erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in hospital practice. Am J Med 2010;123:863.e7-13.

Costenbader KH, Chibnik LB, Schur PH. Discordance between erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein measurements: clinical significance. Clin Exp Rheumatol 2007;25:746–749.

Craig CL, Marshall AL, Sjostrom M, et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. Med Sci Sports Exerc 2003;35:1381395.

Dai J, Mukamal KJ, Krasnow RE, et al. Higher usual alcohol consumption was associated with a lower 41-y mortality risk from coronary artery disease in men independent of genetic and common environmental factors: the prospective NHLBI Twin Study. Am J Clin Nutr 2015;102:31-9.

Damoiseaux J. The IL-2 - IL-2 receptor pathway in health and disease: The role of the soluble IL-2 receptor. Clin Immunol 2020;218:108515.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Daniels LB. Pretenders and contenders: Inflammation, C-reactive protein, and interleukin-6. J Am Heart Assoc 2017;6:e007490.

Das SK, Mukherjee S, Vasudevan DM, et al. Comparison of haematological parameters in patients with non-alcoholic fatty liver disease and alcoholic liver disease. Singapore Med J 2011;52:175–181.

De Silva DA, Woon FP, Chen C, et al. Serum erythrocyte sedimentation rate is higher among ethnic South Asian compared to ethnic Chinese ischemic stroke patients. Is this attributable to metabolic syndrome or central obesity? J Neurol Sci 2009;276:126–129.

Derella CC, Tingen MS, Blanks A, et al. Smoking cessation reduces systemic inflammation and circulating endothelin-1. Sci Rep 2021;11:24122.

Dieguez-Alvarez M, Carballo I, Alonso-Sampedro M, et al. Serum immunoglobulin-A (IgA) concentrations in a general adult population: association with demographics and prevalence of selective IgA deficiency. Clin Chem Lab Med 2020;58:e109-e112.

Dik WA, Heron M. Clinical significance of soluble interleukin-2 receptor measurement in immune-mediated diseases. Nether J Med 2020;78:220-231.

Dinant GJ, de Kock CA, van Wersch JW. Diagnostic value of C-reactive protein measurement does not justify replacement of the erythrocyte sedimentation rate in daily general practice. Eur J Clin Invest 1995;25:353-359.

Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. Chest 2000;118:503-508.

Dolsen EA, Crosswell AD, Prather AA. Links between stress, sleep, and inflammation: Are there sex differences? Curr Psychiatry Rep 2019;21:8.

Du Clos TW. C-reactive protein as a regulator of autoimmunity and inflammation. Arthritis Rheum 2003;48:1475-1457.

Durbec JP, Sarles H. Multicenter survey of the etiology of pancreatic diseases. Relationship between the relative risk of developing chronic pancreaitis and alcohol, protein and lipid consumption. Digestion 1978;18:337-350.

Durda P, Sabourin J, Lange EM, et al. Plasma levels of soluble interleukin-2 receptor α: associations with clinical cardiovascular events and genome-wide association scan. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2015;35:2246-2253.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Eckardt MJ, Martin PR. Clinical assessment of cognition in alcoholism. Alcohol Clin Exp Res 1986;10:123-127.

Eiler P, Marx B. Flexible smoothing with B-splines and penalties (with comments and rejoinder). Stat Sci 1996;11:89–121.

Enomoto N, Takase S, Yasuhara M, et al. Acetaldehyde metabolism in different aldehyde dehydrogenase-2 genotypes. Alcohol Clin Exp Res 1991;15:141-144.

Esty B, Harb H, Bartnikas LM, et al. Treatment of severe persistent asthma with IL-6 receptor blockade. J Allergy Clin Immunol Pract 2019;7:1639-1642.

Evans CR, Long DL, Howard G, et al. C-reactive protein and stroke risk in blacks and whites: The REasons for Geographic And Racial Differences in Stroke cohort. Am Heart J 2019;217:94-100.

Esser N, Paquot N, Scheen AJ. Inflammatory markers and cardiometabolic diseases. Acta Clin Belg 2015;70:193-199.

Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in AdultsExecutive Summary of Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA 2001;285:2486–2497.

Fabry TL. Mechanism of erythrocyte aggregation and sedimentation. Blood 1987;70:1572– 1576.

Fallon KE, Fallon SK, Boston T. The acute phase response and exercise: court and field sports. Br J Sports Med 2001;35:170-173.

Fanola CL, Morrow DA, Cannon CP, et al. Interleukin-6 and the risk of adverse outcomes in patients after an acute coronary syndrome: observations from the SOLID-TIMI 52 (stabilization of plaque using darapladib—thrombolysis in myocardial infarction 52) trial. J Am Heart Assoc 2017;6:e005637.

Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. J Allergy Clin Immunol 2005;115:911-920.

Febbraio MA, Pedersen BK. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. FASEB J 2002;16:1335-1347.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Feldman M, Aziz B, Kang GN, et al. C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate discordance: frequency and causes in adults. Transl Res 2013;161:37-43.

Ferrucci L, Harris TB, Guralnik JM, et al. Serum IL-6 level and the development of disability in older persons. J Am Geriatr Soc 1999;47:639-646.

Filella X, Bladé J, Montoto S, et al. Impaired production of interleukin 6 and tumour necrosis factor alpha in whole blood cell cultures of patients with multiple myeloma. Cytokine 1998;10:993-996.

Filella X, Molina R, Ballesta A. Estructura y función de las citocinas. Med Integr 1980;39:63–71

Fleischmann RM, van der Heijde D, Gardiner PV, et al. DAS28-CRP and DAS28-ESR cut-offs for high disease activity in rheumatoid arthritis are not interchangeable. RMD Open 2017;3:e000382.

Forsey RJ, Thompson JM, Ernerudh J, et al. Plasma cytokine profiles in elderly humans. Mech Ageing Dev 2003;124:487-493.

Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, et al. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. Ann N Y Acad Sci 2000;908:244-254.

Franceschi C, Campisi J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 2014;69 Suppl 1:S4-9.

Fredman G, Hellmann J, Proto JD, et al. An imbalance between specialized pro-resolving lipid mediators and pro-inflammatory leukotrienes promotes instability of atherosclerotic plaques. Nat Commun 2016;7:12859.

Frezza M, di Padova C, Pozzato G, et al. High blood alcohol levels in women. The role of decreased gastric alcohol dehydrogenase activity and first-pass metabolism. N Engl J Med 1990;32:95-99.

Fu B, Xu X, Wei H. Why tocilizumab could be an effective treatment for severe COVID-19? J Transl Med 2020;18:164.

Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. N Engl J Med 1999;340:448-454.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Gauldie J, Richards C, Harnish D, et al. Interferon beta 2/B-cell stimulatory factor type 2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte-stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells. Proc Natl Acad Sci U S A 1987;84:7251-7255.

García-Lorda P, Bulló M, Balanzà R, et al. C-reactive protein, adiposity and cardiovascular risk factors in a Mediterranean population. Int J Obes (Lond) 2006;30:468-474.

Geffken DF, Cushman M, Burke GL, et al. Association between physical activity and markers of inflammation in a healthy elderly population. Am J Epidemiol 2001;153:242–250.

Glady L, Lavaux T, Charchour R, et al. Interleukin-6 chemiluminescent immunoassay on Lumipulse G600 II: analytical evaluation and comparison with three other laboratory analyzers. Clin Chem Lab Med 2020 25;58:e229-e231.

Gonçalves RB, Coletta RD, Silvério KG, et al. Impact of smoking on inflammation: overview of molecular mechanisms. Inflamma Res 2011;60:409-424.

Greenfield JR, Samaras K, Hayward CS, et al. Beneficial postprandial effect of a small amount of alcohol on diabetes and cardiovascular risk factors: modification by insulin resistance. J Clin Endocrinol Metab 2005;90:661-672.

Griffiths RA, Good WR, Watson NP, et al. Normal erythrocyte sedimentation rate in the elderly. Br Med J (Clin Res Ed) 1984;289:724-725.

Grodstein F, Colditz GA, Hunter DJ, et al. A prospective study of symptomatic gallstones in women: relation with oral contraceptives and other risk factors. Obstet Gynecol 1994;84:207-214.

Gual A, Martos AR, Lligona A, et al. Does the concept of a standard drink apply to viticultural societies? Alcohol Alcohol 1999;34:153–160.

Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical characteristics of Coronavirus disease 2019 in China. N Engl J Med 2020;382:1708-1720.

Gundlach E, Hoffmann MM, Prasse A, et al. Interleukin-2 receptor and angiotensin-converting enzyme as markers for ocular sarcoidosis. PLoS One 2016;11:e0147258.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Gruys E, Toussaint MJ, Niewold TA, et al. Acute phase reaction and acute phase proteins. J Zhejiang Univ Sci B 2005;6:1045-1056.

Grzybowski A, Sak J. A short history of the discovery of the erythrocyte sedimentation rate. Int J Lab Hematol 2012;34:442–444.

Hakobyan S, Harris CL, van den Berg CW, et al. Complement factor H binds to denatured rather than to native pentameric C-reactive protein. J Biol Chem 2008;283:30451–30460.

Hamed S, Alshiek J, Aharon A, et al. Red wine consumption improves in vitro migration of endothelial progenitor cells in young, healthy individuals. Am J Clin Nutr 2010;92:161-169.

Hammonds TL, Gathright EC, Goldstein CM, et al. Effects of exercise on C- reactive protein in healthy patients and in patients with heart disease: A meta-analysis. Heart Lung 2016;45:273-282.

Hayden A, Lin M, Park S, et al. Soluble interleukin-2 receptor is a sensitive diagnostic test in adult HLH. Blood Adv 2017;1:2529-2534.

Hansson LO, Carlsson I, Hansson E, et al. Measurement of C- reactive protein and the erythrocyte sedimentation rate in general practice. Scand J Prim Health Care 1995;13:39-45.

Harris TB, Ferrucci L, Tracy RP, et al. Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. Am J Med 1999;106:506-12.

Henry BM, de Oliveira MHS, Benoit S, et al. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. Clin Chem Lab Med 2020;81:1-8.

Henter JI, Horne A, Aricó M, et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. Pediatr Blood Cancer 2007;48:124-131.

Hilder FM, Gunz FW. The effect of age on normal values of the Westergren sedimentation rate. J Clin Pathol 1964;17:292–293.

Hoffmann J, Akira S. Innate immunity. Curr Opin Immunol 2013;25:1-3.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Horn PS, Pesce AJ. Reference intervals: an update. Clin Chim Acta 2003;334:5–23.

Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. PCSK9: a convertase that coordinates LDL catabolism. J Lipid Res 2009;50 Suppl:S172-S177. D

Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. Nature 2006;444:860–867.

Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. Nat Immunol 2015;16:448-457.

Ilmarinen P, Tuomisto LE, Niemelä O, et al. Comorbidities and elevated IL-6 associate with negative outcome in adult-onset asthma. Eur Respir J 2016;48:1052-1062.

Imhof A, Froehlich M, Brenner H, et al. Effect of alcohol consumption on systemic markers of inflammation. Lancet 2001;357:763–767.

Grutters JC, Fellrath JM, Mulder L, et al. Serum soluble interleukin-2 receptor measurement in patients with sarcoidosis: a clinical evaluation. Chest 2003;124:186-195.

Jia RF, Li L, Li H, et al. Meta-analysis of C-reactive protein and risk of angina pectoris. Am J Cardiol 2020;125:1039-1045.

Jou JM, Lewis SM, Briggs C, et al. International Council for Standardization in Haematology. ICSH review of the measurement of the erythocyte sedimentation rate. Int J Lab Hematol 2011;33:125-132.

Kalchiem-Dekel O, Yao X, Levine SJ. Meeting the challenge of identifying new treatments for type 2-low neutrophilic asthma. Chest 2020;157:26-33.

Kanfer EJ, Nicol BA. Haemoglobin concentration and erythrocyte sedimentation rate in primary care patients. J R Soc Med 1997;90:16-18.

Kang S, Tanaka T, Narazaki M, et al. Targeting interleukin-6 signaling in clinic. Immunity 2019;50:1007-1023.

Kang S, Kishimoto T. Interplay between interleukin-6 signaling and the vascular endothelium in cytokine storms. Exp Mol Med 2021;53:1116-1123.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Kaptoge S, Seshasai SR, Gao P, et al. Inflammatory cytokines and risk of coronary heart disease: new prospective study and updated meta-analysis. Eur Heart J 2014;35:578–589.

Katz PR, Gutman SI, Richman G, et al. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein compared in the elderly. Clin Chem 1989;35:466-468.

Kawai T, Autieri MV, Scalia R. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. Am J Physiol Cell Physiol 2021;320:C375-C391.

Kawamoto R, Kusunoki T, Abe M, et al. An association between body mass index and high-sensitivity C-reactive protein concentrations is influenced by age in community-dwelling persons. Ann Clin Biochem 2013;50:457-464.

Kawanishi N, Mizokami T, Yano H, et al. Exercise attenuates M1 macrophages and CD8+ T cells in the adipose tissue of obese mice. Med Sci Sports Exerc 2013;45:1684–1693.

Kawanishi N, Niihara H, Mizokami T, et al. Exercise training attenuates adipose tissue fibrosis in diet-induced obese mice. Biochem Biophys Res Commun 2013;440:774–779.

Kenny RA, Saunders AP, Coll A, et al. A comparison of the erythrocyte sedimentation rate and serum C-reactive protein concentration in elderly patients. Age Ageing 1985;14:15-20.

Kermani TA, Schmidt J, Crowson CS, et al. Utility of erythrocyte sedimentation rate and C- reactive protein for the diagnosis of giant cell arteritis. Semin Arthritis Rheum 2012;41:866-871.

Kishimoto T. The biology of interleukin-6. Blood 1989;74:1-10.

Klein SL, Flanagan KL. Sex differences in immune responses. Nat Rev Immunol 2016;16:626-638.

Klatsky AL. Moderate drinking and reduced risk of heart disease. Alcohol Res Health 1999;23:15-23.

Kloner RA, Rezkalla SH. To drink or not to drink? That is the question. Circulation 2007;116:1306–1317.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Klöting N, Blüher M. Adipocyte dysfunction, inflammation and metabolic syndrome. Rev Endocr Metab Disord 2014;15:277-287.

Knoechel B, Lohr J, Kahn E, et al. Sequential development of interleukin 2-dependent effector and regulatory T cells in response to endogenous systemic antigen. J Exp Med 2005;202:1375-1386.

Koj A. Initiation of acute phase response and synthesis of cytokines. Biochim Biophys Acta 1996;1317:84-94.

Kuuliala A, Nissinen R, Kautiainen H, et al. Low circulating soluble interleukin 2 receptor level predicts rapid response in patients with refractory rheumatoid arthritis treated with infliximab. Ann Rheum Dis 2006;65:26-29.

Lahti A, Petersen PH, Boyd JC et al. Partitioning of nongaussian-distributed biochemical reference data into subgroups. Clin Chem 2004;50:891–900.

Lainampetch J, Panprathip P, Phosat C, et al. Association of tumor necrosis factor alpha, interleukin 6, and C-reactive protein with the risk of developing type 2 diabetes: A retrospective cohort study of rural Thais. J Diabetes Res 2019;2019:9051929.

Landry A, Docherty P, Ouellette S, et al. Causes and outcomes of markedly elevated C- reactive protein levels. Can Fam Physician 2017;63:e316–323.

Lagrand WK, Visser CA, Hermens WT, et al. C-reactive protein as a cardiovascular risk factor: more than an epiphenomenon? Circulation 1999;100:96-102.

Lapić I, Padoan A, Bozzato D, et al. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in acute inflammation. Am J Clin Pathol 2020;153:14-29.

Lassalle P, Sergant M, Delneste Y, et al. Levels of soluble IL-2 receptor in plasma from asthmatics. Correlations with blood eosinophilia, lung function, and corticosteroid therapy. Clin Exp Immunol 1992;87:266-271.

Lee WK, Regan TJ. Alcoholic cardiomyopathy: is it dose-dependent? Congest Heart Fail 2002;8:303-306.

Lieber CS. Biochemical factors in alcoholic liver disease. Semin Liver Dis 1993;13:136-153.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Liuzzo G, Rizzello V., C-reactive protein and primary prevention of ischemic heart disease. Clin Chim Acta 2001;311:45-48.

Li H, Liu W, Xie J. Circulating interleukin-6 levels and cardiovascular and all-cause mortality in the elderly population: A meta-analysis. Arch Gerontol Geriatr 2017;73:257-262.

Li X, Hastie AT, Peters MC, et al. Investigation of the relationship between IL-6 and type 2 biomarkers in patients with severe asthma. J Allergy Clin Immunol 2020;145:430-433.

Lin M, Park S, Hayden A, et al. Clinical utility of soluble interleukin-2 receptor in hemophagocytic syndromes: a systematic scoping review. Ann Hematol 2017;96:1241-1251.

Malek TR, Castro I. Interleukin-2 receptor signaling: at the interface between tolerance and immunity. Immunity 2010;33:153-165.

Manoussakis MN, Stavropoulos ED, Germanidis GS, et al. Soluble interleukin-2 receptors and autoantibodies in the serum of healthy elderly individuals. Autoimmunity 1990;7:129-137.

Mantovani A, Garlanda C. Humoral innate immunity and acute-phase proteins. N Engl J Med 2023; 388:439-452.

Marnell L, Mold C, Du Clos TW. C-reactive protein: Ligands, receptors and role in inflammation. Clin Immunol 2005;117:104–111.

Matsumoto T, Miike T, Yamaguchi K, et al. Serum levels of soluble IL-2 receptor, IL-4 and IgE-binding factors in childhood allergic diseases. Clin Exp Immunol 1991;85:288-292.

McKenna CJ, Codd MB, McCann HA, et al. Alcohol consumption and idiopathic dilated cardiomyopathy: a case control study. Am Heart J 1998;135:833-837.

McGonagle D, Sharif K, O´Regan, et al. The role of cytokines including interleukin-6 in COVID-19 induced pneumonia and macrophage activation syndrome-like disease. Autoimmun Rev 2020;19:102537

McMurray RW, Ndebele K, Hardy KJ, et al. 17-beta-estradiol suppresses IL-2 and IL-2 receptor. Cytokine 2001;14:324-333.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Milan-Mattos JC, Anibal FF, Perseguini NM, et al. Effects of natural aging and gender on pro-inflammatory markers. Braz J Med Biol Res 2019;52:e8392.

Miller AL, Stern DA, Martinez FD, et al. Serum levels of the soluble low affinity receptor for IgE and soluble interleukin-2 receptor in childhood, and their relation to age, gender, atopy and allergic disease. Pediatr Allergy Immunol 1996;7:68-74.

Monteiro R, Azevedo I. Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome. Mediators Inflamm 2010;2010:289645.

Morita-Fujita M, Katoh D, Shimomura Y, et al. High level of serum soluble interleukin-2 receptor is associated with poor survival in patients with first relapsed or refractory peripheral T-Cell lymphoma, not otherwise specified: A retrospective study. Clin Lymphoma Myeloma Leuk 2019;19:e337-e342.

Mukamal KJ. A safe level of alcohol consumption: the right answer demands the right question. J Intern Med 2020;288:550-559.

Mukamal KJ, Jadhav PP, D'Agostino RB, et al. Alcohol consumption and hemostatic factors: analysis of the Framingham Offspring cohort. Circulation 2001;104:1367-1373.

Mukamal KJ, Jensen MK, Grønbaek M, et al. Drinking frequency, mediating biomarkers, and risk of myocardial infarction in women and [illegible]men. Circulation 2005;112:1406–1413.

Myrhed M, Berglund L, Böttiger LE. Alcohol consumption and hematology. Acta Med Scand 1977;202:11–15.

Naranjo A, Toloza S, Guimaraes da Silveira I, et al. Smokers and non smokers with rheumatoid arthritis have similar clinical status: data from the multinational QUEST-RA database. Clin Exp Rheumatol 2010;28: 820–827.

Natali A, Abbate AL, Ferrannini E. Erythrocyte sedimentation rate, coronary atherosclerosis, and cardiac mortality. Eur Heart J 2003;24:639–648.

Nemoto Y, Suzuki K. Prevention of dementia onset with targeting at physical activity and social participation among Japanese community-dwelling older adults. Arch Phys Health Sports Med 2018;1:39–44.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Nielung L, Christensen R, Danneskiold-Samsøe B, et al. Validity and agreement between the 28- Joint disease activity score based on C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis 2015;2015:401690.

Niitsu N, Iijima K, Chizuka A. A high serum-soluble interleukin-2 receptor level is associated with a poor outcome of aggressive non-Hodgkin's lymphoma. Eur J Haematol 2001;66:24-30.

Nozaki K, Sugahara H, Ueda S, et al. Pretreatment serum soluble interleukin-2 receptor level predicts survival in patients with newly diagnosed follicular lymphoma. Leuk Lymphoma 2020;61:2113-2121.

O'Keefe JH, Bybee KA, Lavie CJ. Alcohol and cardiovascular health: the razor-sharp double-edged sword. J Am Coll Cardio. 2007;50:1009-1014.

Osei-Bimpong A, Meek JH, Lewis SM. ESR or CRP? A comparison of their clinical utility. Hematology 2007;12:353–357.

O'Sullivan JW, Stevens S, Hobbs FDR, et al. Temporal trends in use of tests in UK primary care, 2000-15: retrospective analysis of 250 million tests. BMJ 2018;363:k4666.

Ponte C, Grayson PC, Robson JC, Suppiah R, Gribbons KB, Judge A, et al. 2022 American College of Rheumatology/EULAR classification criteria for giant cell arteritis. Ann Rheum Dis 2022;81:1647-1653.

Pai JK, Hankinson SE, Thadhani R, et al. Moderate alcohol consumption and lower levels of inflammatory markers in US men and women. Atherosclerosis 2006;186:113-120.

Pal M, Febbraio MA, Whitham M. From cytokine to myokine: the emerging role of interleukin-6 in metabolic regulation. Immunol Cell Biol 2014;92:331-339.

Parikh M, Miller NR, Lee AG, et al. Prevalence of a normal C-reactive protein with an elevated erythrocyte sedimentation rate in biopsy-proven giant cell arteritis. Ophthalmology 2006;113:1842-1845.

Park YM, Febbraio M, Silverstein RL. CD36 modulates migration of mouse and human macrophages in response to oxidized LDL and may contribute to macrophage trapping in the arterial intima. J Clin Invest 2009;119:136-145.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Pavlović M, Babić D, Rastović P, et al. Association of erythrocyte sedimentation rate and fibrinogen concentration with metabolic syndrome in schizophrenic patients. Psychiatr Danub 2013;25 Suppl 1:51-55.

Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. Physiol Rev 2008;88:1379-1406.

Pepys MB. C-reactive protein fifty years on. Lancet 1981;1:653-657.

Pinto A, Di Raimondo D, Tuttolomondo A, et al. Effects of physical exercise on inflammatory markers of atherosclerosis. Curr Pharm Des 2012;18:4326–4349.

Piva E, Sanzari MC, Servidio G, et al. Length of sedimentation reaction in undiluted blood (erythrocyte sedimentation rate): variations with sex and age and reference limits. Clin Chem Lab Med 2001;39:451–454.

Plebani M, De Toni S, Sanzari MC, et al. The TEST 1 automated system: a new method for measuring the erythrocyte sedimentation rate. Am J Clin Pathol 1998;110:334–240.

Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, et al. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. JAMA 2001;286:327-334.

Praud D, Rota M, Rehm J, et al. Cancer incidence and mortality attributable to alcohol consumption. Int J Cancer 2016;138:1380-1387.

Quartuccio L, Fabris M, Sonaglia A, et al. Interleukin 6, soluble interleukin 2 receptor alpha (CD25), monocyte colony-stimulating factor, and hepatocyte growth factor linked with systemic hyperinflammation, innate immunity hyperactivation, and organ damage in COVID-19 pneumonia. Cytokine 2021;140:155438.

Rainville JR, Tsyglakova M, Hodes GE. Deciphering sex differences in the immune system and depression. Front Neuroendocrinol 2018;50:67-90.

Raum E, Gebhardt K, Buchner M, et al. Long-term and short-term alcohol consumption and levels of C-reactive protein. Int J Cardiol 2007;121:224-226.

Rawson ES, Freedson PS, Osganian SK, et al. Body mass index, but not physical activity, is associated with C-reactive protein. Med Sci Sports Exerc 2003;35:1160–1166.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Rectenwald JE, Moldawer LL, Huber TS, et al. Direct evidence for cytokine involvement in neointimal hyperplasia. Circulation 2000;102:1697-1702.

Rea IM, Gibson DS, McGilligan V, et al. Age and age-related diseases: Role of inflammation triggers and cytokines. Front Immunol 2018;9:586.

Rehm J, Mathers C, Popova S, et al. Global burden of disease and injury and economic cost attributable to alcohol use and alcohol-use disorders. Lancet 2009;373:2223-2233.

Rehm J, Gmel GE Sr, Gmel G, et al. The relationship between different dimensions of alcohol use and the burden of disease-an update. Addiction 2017;112:968-1001.

Rehm J, Shield KD. Alcohol use and cancer in the European Union. Eur Addict Res 2021;27:1-8.

Rimm EB, Williams P, Fosher K, et al. Moderate alcohol intake and lower risk of coronary heart disease: meta-analysis of effects on lipids and haemostatic factors. BMJ 1999;319:1523-1528.

Rigby RA, Stasinopoulos DM. Generalized additive models for location, scale and shape (with discussion). Appl Statist 2005;54:507–554.

Rubbert-Roth A, Furst DE, Nebesky JM, et al. A review of recent advances using tocilizumab in the treatment of rheumatic diseases. Rheumatol Ther 2018;5:21-42.

Roberto CA, Swinburn B, Hawkes C, et al. Patchy progress on obesity prevention: emerging examples, entrenched barriers, and new thinking. Lancet 2015;385:2400-9.

Rom O, Avezov K, Aizenbud D, Reznick AZ. Cigarette smoking and inflammation revisited. Respir Physiol Neurobiol 2013;187:5-10.

Román-Viñas B, Lourdes Ribas-Barba L, Ngo J, et al. Validity of the international physical activity questionnaire in the Catalan population (Spain) [in Spanish]. Gac Sanit 2013;27:254-257.

Romero A, Muñoz M, Ramírez G. Length of sedimentation reaction in blood: a comparison of the test 1 ESR system with the ICSH reference method and the sedisystem 15. Clin Chem Lab Med 2003;41:232–237.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Ronksley PE, Brien SE, Turner BJ, et al. Association of alcohol consumption with selected cardiovascular disease outcomes: a systematic review and meta-analysis. BMJ 2011;342:d671.

Roseman C, Truedsson L, Kapetanovic MC. The effect of smoking and alcohol consumption on markers of systemic inflammation, immuno- globulin levels and immune response following pneumococcal vaccina- tion in patients with arthritis. Arthritis Res Ther 2012;14:R170.

Rothkrantz-Kos S, Drent M, Schmitz MP, et al. Reference values of soluble interleukin-2 receptor on the IMMULITE. Clin Chem Lab Med 2004;42:976-977.

Rubbert-Roth A, Furst DE, Nebesky JM, et al. A Review of recent advances using tocilizumab in the treatment of rheumatic diseases. Rheumatol Ther 2018;5:21-42.

Rubin LA, Nelson DL. The soluble interleukin-2 receptor: biology, function, and clinical application. Ann Intern Med 1990;113:619-627.

Sakai A, Yoshida N. The role of tumor-associated macrophages on serum soluble IL-2R levels in B-cell lymphomas. J Clin Exp Hematop 2014;54:49-57.

Saltiel AR, Olefsky JM. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. J Clin Invest 2017;127:1-4.

Sasse EA. Determination of reference intervals in the clinical laboratory using the proposed guideline National Committee for Clinical Laboratory Standards C28-P. Arch Pathol Lab Med 1992;116:710–713.

Sbong S, Feldman M. Frequency and causes of C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate disagreements in adults. Int J Rheum Dis 2015;18:29-32.

Shearn M, Kang I. Effect of age and sex on the erythrocyte sedimentation rate. J Rheumatol 1986;13:297–298.

Siemons L, Ten Klooster PM, Vonkeman HE, et al. How age and sex affect the erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in early rheumatoid arthritis. BMC Musculoskelet Disord 2014;15:368.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Sierksma A, van der Gaag MS, Kluft C, et al. Effect of moderate alcohol consumption on fibrinogen levels in healthy volunteers is discordant with effects on C-reactive protein. Ann N Y Acad Sci 2001;936:630-633.

So-Armah KA, Cheng DM, Freiberg MS, et al. Association between alcohol use and inflammatory biomarkers over time among younger adults with HIV-The Russia ARCH Observational Study. PLoS One 2019;14:e0219710.

Solmaz D, Yildirim T, Avci O, et al. Performance characteristics of the simplified version of ankylosing spondylitis disease activity score (SASDAS). Clin Rheumatol 2016;35:1753-1758.

Sox H C Jr, Liang MH. The erythrocyte sedimentation rate. Guidelines for rational use. Ann Intern Med 1986;104:515–523.

Stephan Y, Sutin AR, Terracciano A. Younger subjective age is associated with lower C-reactive protein among older adults. Brain Behav Immun 2015;43:33-36.

Suzuki K. Chronic inflammation as an immunological abnormality and effectiveness of exercise. Biomolecules 2019;9:223.

Starkie R, Ostrowski SR, Jauffred S, et al. Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF-alpha production in humans. FASEB J 2003;17:884-6.

Stasinopoulos DM, Rigby RA. Generalized additive models for location scale and shape (GAMLSS) in R. J Stat Softw 2007;23:1–43.

Steinvil A, Shapira I, Arbel Y, et al. Determinants of the erythrocyte sedimentation rate in the era of microinflammation: excluding subjects with elevated C-reactive protein levels. Am J Clin Pathol 2008;129:486– 491.

Strang F, Schunkert H. C-reactive protein and coronary heart disease: all said—is not it? Mediators Inflamm 2014;2014:1–7.

Sykes WO. Erythrocyte sedimentation rate: the effect of alcohol as contaminant. BMJ 1948;1:393–394.

Szabo G. Alcohol's contribution to compromised immunity. Alcohol Health Res World 1997;21:30-41.

Takahashi S, Setoguchi Y, Nukiwa T, et al. Soluble interleukin-2 receptor in sera of patients with pulmonary tuberculosis. Chest 1991;99:310-314.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Talari K, Goyal M. Retrospective studies - utility and caveats. J R Coll Physicians Edinb 2020;50:398-402.

Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. Cold Spring Harb Perspect Biol 2014;6:a016295.

Tang J, Cai S, Ye C, et al. Biomarkers in IgG4-related disease: A systematic review. Semin Arthritis Rheum 2020;50:354-359.

Taylor C, Rogers G, Goodman C, et al. Hematologic, iron-related, and acute-phase protein responses to sustained strenuous exercise. J Appl Physiol 1987 ;62:464-469.

Tchernof A, Nolan A, Sites CK, et al. Weight loss reduces C-reactive protein levels in obese postmenopausal women. Circulation 2002;105:564-569.

Terao K, Fukase Y. Effects of hyperlipaemic serum on interleukin-2 (IL-2) production, IL-2 receptor expression, and T cell proliferation induced by IL-2 in cynomolgus monkeys. Jpn J Med Sci Biol 1991;44:17–28.

Teraura H, Kotani K, Minami T, et al. The serum concentration of soluble interleukin-2 receptor in patients with Kawasaki disease. Ann Clin Biochem 2017;54:209-213.

Ticinesi A, Lauretani F, Nouvenne A, et al. C-reactive protein (CRP) measurement in geriatric patients hospitalized for acute infection. Eur J Intern Med 2017;37:7-12.

Tillett WS, Francis T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. J Exp Med 1930;52:561–571.

Thi Hong Nguyen C, Kambe N, Kishimoto I, et al. Serum soluble interleukin-2 receptor level is more sensitive than angiotensin-converting enzyme or lysozyme for diagnosis of sarcoidosis and may be a marker of multiple organ involvement. J Dermatol 2017;44:789-797.

Tollerud DJ, Weiss ST, Leung DY. Elevated soluble interleukin-2 receptors in young healthy cigarette smokers: lack of association with atopy or airways hyperresponsiveness. Int Arch Allergy Immunol 1992;97:25-30.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Vallianou NG, Evangelopoulos AA, Panagiotakos DB, et al. Associations of acute-phase reactants with metabolic syndrome in middle-aged overweight or obese people. Med Sci Monit 2010;16:56–60.

van Buuren S, Fredriks M. Worm plot: a simple diagnostic device for modelling growth reference curves. Stat Med 2001;20:1259–1277.

van Stigt AC, Dalm VASH, Nagtzaam NMA, et al. Soluble interleukin-2 receptor Is a promising serum biomarker for granulomatous disease in common variable immune deficiency. J Clin Immunol 2021;41:694-697.

Villegas R, Xiang YB, Cai H, et al. Lifestyle determinants of C-reactive protein in middle-aged, urban Chinese men. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2012;22:223-230.

Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, et al. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. JAMA 1999;282:2131-2135.

Volpato S, Pahor M, Ferrucci L, et al. Relationship of alcohol intake with inflammatory markers and plasminogen activator inhibitor-1 in well-functioning older adults: the Health, Aging, and Body Composition study. Circulation 2004; 109:607.

Wannamethee G, Shaper AG. Alcohol and sudden cardiac death. Br Heart J 1992;68:443-448.

Watson J, de Salis I, Hamilton W, et al. 'I'm fishing really'--inflammatory marker testing in primary care: a qualitative study. Br J Gen Pract 2016;66:e200-206.

Watson J, Jones HE, Banks J, et al. Use of multiple inflammatory marker tests in primary care: using Clinical Practice Research Datalink to evaluate accuracy. Br J Gen Pract 2019;69:e462-e469.

Wells G, Becker JC, Teng J, et al. Validation of the 28-joint Disease Activity Score (DAS28) and European League Against Rheumatism response criteria based on C-reactive protein against disease progression in patients with rheumatoid arthritis, and comparison with the DAS28 based on erythrocyte sedimentation rate. Ann Rheum Dis 2009;68:954-960.

Yao X, Huang J, Zhong H, et al. Targeting interleukin-6 in inflammatory autoimmune diseases and cancers. Pharmacol Ther 2014;141:125-139.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

You T, Arsenis NC, Disanzo BL, et al. Effects of exercise training on chronic inflammation in obesity: current evidence and potential mechanisms. Sports Med 2013;43:243-256.

Wang T, Jiang CQ, Xu L,, et al. The mediating role of inflammation in the association between cigarette smoking and intima-media thickness: The Guangzhou biobank cohort study. Medicine (Baltimore) 2020;99:e19207.

Wannamethee SG, Lowe GD, Shaper G, et al. The effects of different alcoholic drinks on lipids, insulin and haemostatic and inflammatory markers in older men. Thromb Haemost 2003;90:1080-1087.

Wu LA, Tan SL, Wright RS, et al. Prognostic value of the erythrocyte sedimentation rate in patients with unstable angina. Arch Pathol Lab Med 2002;126:772.

Zelante T, Fric J, Wong AY, et al. Interleukin-2 production by dendritic cells and its immuno-regulatory functions. Front Immunol 2012;3:161.

Zhang JM, An J. Cytokines, inflammation, and pain. Int Anesthesiol Clin 2007;45:27-37.

Ziv-Baran T, Shenhar-Tsarfaty S, Etz-Hadar I, et al. The ability of the wide range CRP assay to classify individuals with low grade inflammation into cardiovascular risk groups. Clin Chim Acta 2017;471:185-190.

Zlonis M. The mystique of the erythrocyte sedimentation rate. A [1]reappraisal of one of the oldest laboratory tests still in use. Clin Lab Med [1]1993;13:787–800.

Zoref-Lorenz A, Murakami J, Hofstetter L, et al. An improved index for diagnosis and mortality prediction in malignancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. Blood 2022;139:1098-1110.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

# 7

# Copia de las Publicaciones

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# 7. COPIA DE LAS PUBLICACIONES

Para el desarrollo de esta tesis se han utilizado los siguientes artículos publicados:

**1.**

**Autores: Alende-Castro V**, Alonso-Sampedro M, Vazquez-Temprano N, Tuñez C, Rey D, García Iglesias C, Sopeña B, Gude F, Gonzalez-Quintela A.

**Título**: Factors influencing erythrocyte sedimentation rate in adults: New evidence for an old test.

**Revista**: *Medicine* (Baltimore) 2019;98:e16816.

**Factor de impacto y cuartil** en *Journal Citation Reports* (JCR) 2021: IF 1.817 (Q3).

**2.**

**Autores: Alende-Castro V**, Alonso-Sampedro M, Fernández-Merino C, Sánchez-Castro J, Sopeña B, Gude F, Gonzalez-Quintela A.

**Título**: C-reactive protein versus erythrocyte sedimentation rate: Implications among patients with no known inflammatory conditions.

**Revista**: *Journal of the American Board of Family Medicine* 2021;34:974-983.

**Factor de impacto y cuartil** en *Journal Citation Reports* (JCR) 2021: IF 2.395 (Q3).



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

**3.**

**Autores: Alende-Castro V**, Alonso-Sampedro M, Gude F, Gonzalez-Quintela A.

**Título**: Serum concentrations of interleukin-6 (IL-6) in the general adult population: Possible implications for anti-IL-6 therapy in SARS-Cov-2 infection and IL-6-related diseases.

**Revista**: *Journal of Investigational Allergology and Clininical Immunology* 2021;31:75-78.

**Factor de impacto y cuartil** en *Journal Citation Reports* (JCR) 2021: IF 8.185 (Q1).

**4.**

**Autores: Alende-Castro V**, Alonso-Sampedro M, Fernández-Merino C, Sopeña B, Vidal C, Gude F, Gonzalez-Quintela A.

**Título**: Factors influencing serum concentrations of soluble interleukin-2 receptor: a general adult population study.

**Revista**: *All Life (Frontiers in Life Science)* 2023;16:1.

**Factor de impacto y cuartil** en *Journal Citation Reports* (JCR) 2021: IF 2.000 (Q3).

**5.**

**Autores: Alende-Castro V**, Gonzalez-Quintela A.

**Título**: Vigencia de la velocidad de sedimentación globular (VSG).

**Revista**: *Medicina Clínica* 2023 (aceptado, en prensa).

**Factor de impacto y cuartil** en *Journal Citation Reports* (JCR) 2021: 3.200 (Q2).



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

# ARTÍCULO 1

**Autores:**

**Alende-Castro V**, Alonso-Sampedro M, Vazquez-Temprano N, Tuñez C, Rey D, García Iglesias C, Sopeña B, Gude F, Gonzalez-Quintela A.

**Título:**

Factors influencing erythrocyte sedimentation rate in adults: New evidence for an old test.

**Revista:**

*Medicine* (Baltimore) 2019;98:e16816.

Bibliometría en *Journal Citation Reports* (JCR) 2019

Factor de Impacto 1.552 (89/165 en el área *Medicine, General and Internal*, Q3)

Citaciones a marzo-2023: 23

**Enlace revista:**
https://journals.lww.com/md-journal/fulltext/2019/08230/factors_influencing_erythrocyte_sedimentation_rate.19.aspx



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# ARTÍCULO 2

**Autores:**

**Alende-Castro V**, Alonso-Sampedro M, Fernández-Merino C, Sánchez-Castro J, Sopeña B, Gude F, Gonzalez-Quintela A.

**Título:**

C-reactive protein versus erythrocyte sedimentation rate: Implications among patients with no known inflammatory conditions.

**Revista:**

*Journal of the American Board of Family Medicine* 2021;34:974-983.

Bibliometría en *Journal Citation Reports* (JCR) 2021

Factor de impacto 2.395 (103/172 en el área *Medicine, General and Internal*, Q3)

Citaciones a marzo-2023: 4

**Enlace revista:**
https://www.jabfm.org/content/34/5/974



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# ARTÍCULO 3

**Autores:**

**Alende-Castro V**, Alonso-Sampedro M, Gude F, Gonzalez-Quintela A.

**Título:**

Serum concentrations of interleukin-6 (IL-6) in the general adult population: Possible implications for anti-IL-6 therapy in SARS-Cov-2 infection and IL-6-related diseases.

**Revista:**

*Journal of Investigational Allergology and Clininical Immunology* 2021;31:75-78.

Bibliometría en *Journal Citation Reports* (JCR) 2021

Factor de impacto 8.185 (37/162 en el área *Immunology*, 5/28 en *Allergy*, en ambas Q1)

Citaciones a marzo-2023: 3

**Enlace revista**:
https://www.jiaci.org/revistas/doi10.18176_jiaci.0601.pdf



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# ARTÍCULO 4

**Autores:**

**Alende-Castro V**, Alonso-Sampedro M, Fernández-Merino C, Sopeña B, Vidal C, Gude F, Gonzalez-Quintela A.

**Título:**

Factors influencing serum concentrations of soluble interleukin-2 receptor: a general adult population study.

**Revista:**

*All Life (Frontiers in Life Sciences)* 2023;16:1.

Bibliometría en *Journal Citation Reports* (JCR) 2021 (ultimo disponible)

Factor de impacto 2.000 (53/74 en el área *Multidisciplinary Sciences*, Q3)

**Enlace revista:**
https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/26895293.2023.2169958



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# ARTÍCULO 5

**Autores:**

**Alende-Castro V**, Gonzalez-Quintela A.

**Título:**

Vigencia de la velocidad de sedimentación globular (VSG).

**Revista:**

*Medicina Clínica* 2023 (aceptado, en prensa; se adjuntan galeradas).

Bibliometría en *Journal Citation Reports* (JCR) 2021 (ultimo disponible)

Factor de impacto 3.200 (75/172 en el área *Medicine, General and Internal*, Q2)

**Enlace revista:**
in press



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# ANEXO I

## DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE GALICIA

XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DE SANIDADE
Secretaría Xeral

Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia
Edificio Administrativo de San Lázaro
15781 SANTIAGO DE COMPOSTELA
Tlf: 881 546425 Fax: 881 541804
ceic@sergas.es

### DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE GALICIA

Dña. Paula M. López Vázquez, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia

**CERTIFICA:**

Que este Comité evaluó en su reunión del día 21/12/2010 el estudio:

**Título:** Marcadores de inflamación y su relación con enfermedades frecuentes en la población general adulta
**Promotor**: Arturo González Quintela
**Version:**
**Código do Promotor**:
**Código de Registro CEIC de Galicia**: 2010/315

Y que este Comité de conformidad con sus Procedimientos Normalizados de Trabajo y tomando en cuenta los requisitos éticos, metodológicos y legales exigibles a los estudios de investigación con seres humanos, sus muestras o registros, emite un **DICTAMEN FAVORABLE** al estudio propuesto y que se llevará a cabo en:

| Centros | Investigadores principales |
|---|---|
| C.H. Universitario de Santiago | Arturo González Quintela |

En Santiago de Compostela a 03 de enero de 2011
La Secretaria

Paula M. López Vázquez



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

# ANEXO II

## LISTA DE VERIFICACIÓN STROBE

### Lista de verificación para estudios observacionales STROBE (*Strengthening the Reporting of Observational studies in Epidemiology*)

| Sí/no/NA | | Página** |
|---|---|---|
| **Título y resumen** | | |
| Sí | Indique, en el título o en el resumen, el diseño del estudio. | 13 |
| Sí | Proporcione en el resumen una sinopsis informativa y equilibrada de lo que se ha hecho y lo que se ha encontrado. | 13 |
| **Introducción** | | |
| Sí | Indique el fundamento científico de la Investigación que se comunica. | 19-32 |
| **Objetivos** | | |
| Sí | Indique los objetivos específicos, incluida cualquier hipótesis preespecificada. | 33 |
| **Material y métodos** | | |
| Diseño del estudio | | |
| Sí | Presente los elementos clave del diseño del estudio. | 35 |
| Contexto | | |
| Sí | Describa el marco, los lugares y fechas relevantes, incluidos períodos de reclutamiento, exposición, seguimiento y recogida de datos. | 35-36 |
| Participantes | | |
| NA | Para estudios de cohortes: proporcione los criterios de elegibilidad, así como las fuentes y el método de selección de los participantes. Especifique los métodos de seguimiento. | NA |
| NA | Estudios de casos y controles: proporcione los criterios de elegibilidad, así como las fuentes y el proceso diagnóstico de los casos y el de selección de los controles. Proporcione las razones para la elección de casos y controles. | NA |



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

| Sí/no/NA | | Página** |
|---|---|---|
| Sí | Estudios transversales: proporcione los criterios de elegibilidad y las fuentes y métodos de selección de los participantes. | 36 |
| NA | Estudios de cohortes apareados. Proporcione los criterios para la formación de parejas y el número de participantes con y sin exposición. | NA |
| NA | Estudios de casos y controles apareados. Proporcione criterios para la formación de parejas y el número de controles por cada caso. | NA |
| | Variables | |
| Sí | Defina claramente todas las variables: de respuesta, exposiciones, predictoras, *confusoras* y modificadoras del efecto. Si procede, proporcione los criterios diagnósticos. | 36-39 |
| | Fuentes de datos/medidas | |
| Sí | Para cada variable de interés, proporcione las fuentes de datos y los detalles de los métodos de valoración (medida). | 36-39 |
| Sí | Si hubiera más de un grupo, especifique la comparabilidad de los procesos de medida. | 36-39 |
| | Sesgos | |
| Sí | Especifique todas las medidas adoptadas para afrontar fuentes potenciales de sesgo. | 38-40, 52-55 |
| | Tamaño muestral | |
| Sí | Explique cómo se determinó el tamaño muestral. | 39 |
| | Variables cuantitativas | |
| Sí | Explique cómo se trataron las variables cuantitativas en el análisis. Si procede, explique cómo se categorizaron y por qué. | 39-40 |
| | Métodos estadísticos | |
| Sí | Especifique todos los métodos estadísticos, incluidos los empleados para controlar los factores de confusión. | 39-40 |
| Sí | Especifique todos los métodos utilizados para analizar subgrupos e interacciones. | 39-40 |
| Sí | Explique el tratamiento de los datos ausentes (*missing* data). | 36 |
| Sí | Estudio de cohortes: si procede, explique cómo se afrontan las pérdidas en el seguimiento. | NA |
| NA | Estudios de casos y controles: si procede, explique cómo se aparearon casos y controles. | NA |
| NA | Estudios transversales: si procede, especifique cómo se tiene en cuenta en el análisis la estrategia de muestreo. | NA |
| NA | Describa los análisis de sensibilidad. | NA |



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

| Sí/no/NA | | Página** |
|---|---|---|
| **Resultados** | | |
| Participantes | | |
| Sí | Número de participantes en cada fase del estudio; por ejemplo: cifras de los participantes potencialmente elegibles, los analizados para ser incluidos, los confirmados elegibles, los incluidos en el estudio, los que tuvieron un seguimiento completo y los analizados. | 36 |
| Sí | Razones de la pérdida de participantes en cada fase. | 36 |
| Sí | Considere el uso de un diagrama de flujo. | 36 |
| Datos descriptivos | | |
| Sí | Características de los participantes en el estudio (p. ej., demográficas, clínicas, sociales) e información sobre exposiciones y posibles factores de confusión. | 36-39 |
| Sí | Número de participantes con datos ausentes en cada variable de interés. | En cada tabla |
| Sí | Estudios de cohortes: resuma el período de seguimiento (p. ej., promedio y total). | NA |
| Datos de las variables de resultado | | |
| Sí | Estudios de cohortes: describa el número de eventos del efecto, o bien proporcione medidas resumen a lo largo del tiempo. | NA |
| NA | Estudios de casos y controles: describa el número de participantes en cada categoría de exposición, o bien proporcione medidas-resumen de exposición. | NA |
| Sí | Estudios transversales: describa el número de eventos del efecto, o bien proporcione medidas resumen. | En cada artículo |
| Resultados principales | | |
| Sí | Proporcione estimaciones crudas (no ajustadas) y, si procede, ajustadas por factores de confusión, así como su precisión (p. ej., intervalos de confianza del 95%). Especifique los factores de confusión por los que se ajusta y las razones para incluirlos. | En cada artículo |
| Sí | Si categoriza variables continuas, describa los límites de los intervalos | En cada artículo |
| NA | Si fuera pertinente, valore acompañar las estimaciones del riesgo relativo con estimaciones del riesgo absoluto para un período de tiempo relevante. | NA |
| Otros análisis | | |
| NA | Describa otros análisis efectuados (de subgrupos, interacciones o sensibilidad). | En cada artículo |



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

| Sí/no/NA | | Página** |
|---|---|---|
| **Discusión** | | |
| Resultados clave | | |
| Sí | Resuma los resultados principales de los objetivos del estudio. | 57 |
| Limitaciones | | |
| Sí | Discuta las limitaciones del estudio, teniendo en cuenta posibles fuentes de sesgo o de imprecisión. Razone tanto sobre la dirección como sobre la magnitud de cualquier posible sesgo. | 52-55 |
| Interpretación | | |
| Sí | Proporcione una interpretación global prudente de los resultados considerando objetivos, limitaciones, multiplicidad de análisis, resultados de estudios similares y otras pruebas empíricas relevantes. | 52-55 |
| Generabilidad | | |
| Sí | Discuta la posibilidad de generalizar los resultados (validez externa). | 55 |
| Financiación | | |
| Sí | Especifique la financiación y el papel de los patrocinadores del estudio y, si procede, del estudio previo en el que se basa el presente trabajo. | 9 |

****Nota**: se trata de una tesis por compendio de publicaciones, por lo que los extremos reflejados en la tabla también se encuentran, en su caso, en cada uno de los trabajos publicados.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

# ANEXO III

## PERMISO DE LAS EDITORIALES

## Journal of the American Board of Family Medicine

Gmail — Vanessa Alende <vanessa.alende@gmail.com>

**RE: Article JABFP Feedback Form**
1 mensaje

**Lupo, Phillip** <PLUPO@augusta.edu> 24 de marzo de 2023, 22:03
Para: "vanessa.alende@gmail.com" <vanessa.alende@gmail.com>

Greetings,
Thank you for your request. Yes, this sounds fine.

Best wishes on your thesis,
Phil

Phillip Lupo, MLIS
JABFM, Managing Editor

-----Original Message-----
From: drupal-admin@highwire.org <drupal-admin@highwire.org>
Sent: Tuesday, February 28, 2023 11:50 AM
To: SoM - JABFP Email Folder <jabfm@med.wayne.edu>
Subject: Article JABFP Feedback Form

[EXTERNAL]

Submitted on Tuesday, February 28, 2023 - 08:50 Submitted by anonymous user: 217.124.245.72 Submitted values are:

Name: VANESA ALENDE CASTRO
Email address: vanessa.alende@gmail.com
Subject: Article
==recipient==
To help your message go to the correct recipient, please indicate which of the following best describes the subject of your message: None of the above

Message:
Dear editor,

As the author of the article titled “C-Reactive Protein versus Erythrocyte Sedimentation Rate: Implications Among Patients with No Known Inflammatory Conditions” and published in your journal (Journal of the American Board of Family Medicine, JABFM), I wish to request your authorization for the inclusion of said article in my doctoral thesis.

Best regards
Vanessa Alende
I grant the abfm permission to reprint my comments for promotional purposes:
Yes

The results of this submission may be viewed at:
https://www.jabfm.org/node/10/submission/8742



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

# Journal of Investigational Allergology And Clinical Inmunology

Gmail **Vanessa Alende <vanessa.alende@gmail.com>**

**Article**
2 mensajes

**Vanessa Alende** <vanessa.alende@gmail.com> 28 de febrero de 2023, 17:53
Para: jiaci@unav.es

Dear editor,

As the author of the article titled "Serum Concentrations of Interleukin 6 in the General Adult Population: Possible Implications for Anti-IL-6 Therapy in SARS-Cov-2 Infection and IL-6-Related Diseases" and published in your journal (J Investig Allergol Clin Immunol 2021; Vol. 31(1): 65-84*)*, I wish to request your authorization for the inclusion of said article in my doctoral thesis.

Best regards

Vanessa Alende

**Journal Of Investigational Allergology And Clinical Immunology** <jiaci@unav.es> 1 de marzo de 2023, 11:13
Para: Vanessa Alende <vanessa.alende@gmail.com>

Dear Dr. Alende,

We are pleased to give you the required permission to reproduce the mentioned material providing credit according to standard AMA style.

Yours sincerely,

Dr. J.M. Olaguibel
Editor in Chief J Investig Allergol Clin Immunol

[El texto citado está oculto]
*Este mensaje puede contener información confidencial. Si usted no es el destinatario o lo ha recibido por error, por favor, bórrelo de sus sistemas y comuníquelo a la mayor brevedad al remitente. Los datos personales incluidos en los correos electrónicos que intercambie con el personal de la Universidad de Navarra podrán ser almacenados en la libreta de direcciones de su interlocutor y/o en los servidores de la Universidad durante el tiempo fijado en su política interna de conservación de información. La Universidad de Navarra gestiona dichos datos con fines meramente operativos, para permitir el contacto por email entre sus trabajadores/colaboradores y terceros. Puede consultar la Política de Privacidad de la Universidad de Navarra en la dirección: https://www.unav.edu/aviso-legal*

*This email message may contain confidential information. If you are not the intended recipient of this message or their agent, or if this message has been addressed to you in error, please immediately alert the sender by reply email and then delete this message and any attachments. The personal information included in email messages exchanged with employees of the University of Navarra may be stored in the database of your interlocutor and/or the servers of the University for the time-period stipulated by its internal information storage policy. The University stores such data for purely administrative purposes, to facilitate e-mail contact between its employees and third parties. The University of Navarra Privacy Policy may be accessed at https://www.unav.edu/aviso-legal*

*Antes de imprimir este mensaje o sus documentos anexos, asegúrese de que es necesario. Proteger el medio ambiente está en nuestras manos.*
*Before printing this e-mail or attachments, be sure it is necessary. It is in our hands to protect the environment.*



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

# Medicina Clínica

Gmail **Vanessa Alende <vanessa.alende@gmail.com>**

**Re: Article [230301-001539]**
1 mensaje

**Medicina Clinica** <medicinaclinica@elsevier.com> 2 de marzo de 2023, 18:38
Responder a: Medicina Clinica <medicinaclinica@elsevier.com>
Para: vanessa.alende@gmail.com

*How was our service today?*

Estimada Dra. Alende,

Gracias por su correo.
Con relación a su consulta, le confirmamos que sí puede incluir su artículo en su tesis doctoral.

Saludos cordiales.

Paz Fernández
Journal Manager
ELSEVIER Global Journals Production EMEA/LA
Mobile +34 610 573 636
ELSEVIER

ELSEVIER ESPAÑA, S.L.U. Av. Josep Tarradellas, 20-30 1 Planta | Barcelona España | 08029

---

**From:** Vanessa Alende
**Date:** Tuesday, February 28, 2023 05:04 PM GMT

Dear editor,

As the author of the article titled “Current validity of the erythrocyte sedimentation rate (ESR)/Vigencia de la velocidad de sedimentación globular (VSG)” and published in your journal (Medicina Clínica*)*, I wish to request your authorization for the inclusion of said article in my doctoral thesis.

Best regards

Vanessa Alende

This email is for use by the intended recipient and contains information that may be confidential. If you are not the intended recipient, please notify the sender by return email and delete this email from your inbox. Any unauthorized use or distribution of this email, in whole or in part, is strictly prohibited and may be unlawful. Any price quotes contained in this email are merely indicative and will not result in any legally binding or enforceable obligation. Unless explicitly designated as an intended e-contract, this email does not constitute a contract offer, a contract amendment, or an acceptance of a contract offer.

Elsevier Limited. Registered Office: The Boulevard, Langford Lane, Kidlington, Oxford, OX5 1GB, United Kingdom, Registration No. 1982084, Registered in England and Wales. Privacy Policy.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

# All Life

Gmail **Vanessa Alende <vanessa.alende@gmail.com>**

**Article**
2 mensajes

**Vanessa Alende** <vanessa.alende@gmail.com> 28 de febrero de 2023, 17:59
Para: amar.abderrahmani@univ-lille.fr

Dear editor,

As the author of the article titled “Factors influencing serum concentrations of soluble interleukin-2 receptor: a general adult population study” and published in your journal (All Life), I wish to request your authorization for the inclusion of said article in my doctoral thesis.

Best regards

Vanessa Alende

**abderrahmani** <amar.abderrahmani@univ-lille.fr> 28 de febrero de 2023, 18:02
Para: Vanessa Alende <vanessa.alende@gmail.com>

Dear Vanessa,

Yes for sure

I wish you all the best in your future and PhD defense

Best,

Amar Abderrahmani

[El texto citado está oculto]

--
Prof. Amar Abderrahmani
IEMN-UMR CNRS 8520
Campus CNRS Haute Borne
50, av de Halley – BP 70478
59658 Villeneuve d'Ascq cedex
France
Cell phone: 0615243844
Phone : 0362531704



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

# Medicine (Baltimore)



Gmail **Vanessa Alende <vanessa.alende@gmail.com>**

**Re: Article [230301-001539]**
1 mensaje

**Medicina Clinica** <medicinaclinica@elsevier.com> 2 de marzo de 2023, 18:38
Responder a: Medicina Clinica <medicinaclinica@elsevier.com>
Para: vanessa.alende@gmail.com

*How was our service today?*

Estimada Dra. Alende,

Gracias por su correo.
Con relación a su consulta, le confirmamos que sí puede incluir su artículo en su tesis doctoral.

Saludos cordiales.

Paz Fernández
Journal Manager
ELSEVIER Global Journals Production EMEA/LA
Mobile +34 610 573 636
ELSEVIER

ELSEVIER ESPAÑA, S.L.U. Av. Josep Tarradellas, 20-30 1 Planta | Barcelona España | 08029

---

**From:** Vanessa Alende
**Date:** Tuesday, February 28, 2023 05:04 PM GMT

Dear editor,

As the author of the article titled “Current validity of the erythrocyte sedimentation rate (ESR)/Vigencia de la velocidad de sedimentación globular (VSG)” and published in your journal (Medicina Clínica), I wish to request your authorization for the inclusion of said article in my doctoral thesis.

Best regards

Vanessa Alende

This email is for use by the intended recipient and contains information that may be confidential. If you are not the intended recipient, please notify the sender by return email and delete this email from your inbox. Any unauthorized use or distribution of this email, in whole or in part, is strictly prohibited and may be unlawful. Any price quotes contained in this email are merely indicative and will not result in any legally binding or enforceable obligation. Unless explicitly designated as an intended e-contract, this email does not constitute a contract offer, a contract amendment, or an acceptance of a contract offer.

Elsevier Limited. Registered Office: The Boulevard, Langford Lane, Kidlington, Oxford, OX5 1GB, United Kingdom, Registration No. 1982084, Registered in England and Wales. Privacy Policy





USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

En este caso, la publicación bajo licencia Creative Commons no requiere autorización editorial.



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

# ANEXO IV

## CONTRIBUCIÓN DEL AUTOR

**El autor ha participado tanto en la investigación como en la escritura de los siguientes artículos:**

ARTÍCULO 1. Factors influencing erythrocyte sedimentation rate in adults: New evidence for an old test.

ARTÍCULO 2. C-reactive protein versus erythrocyte sedimentation rate: Implications among patients with no known inflammatory conditions.

ARTÍCULO 3. Serum concentrations of interleukin-6 (IL-6) in the general adult population: Possible implications for anti-IL-6 therapy in SARS-Cov-2 infection and IL-6-related diseases.

ARTÍCULO 4. Factors influencing serum concentrations of soluble interleukin-2 receptor: a general adult population study.

ARTÍCULO 5. Vigencia de la velocidad de sedimentación globular (VSG)



USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

El objetivo de esta tesis es investigar, en la población general adulta sin aparente enfermedad inflamatoria, la posible influencia de factores comunes (demográficos, metabólicos y de estilo de vida) en los niveles de los marcadores de inflamación de uso más habitual, como VSG, PCR sérica e IL-6 sérica, así como en los niveles séricos de sIL2-R, un nuevo marcador inflamatorio. Investigar, en la misma población, los factores asociados con las discordancias entre los resultados de la VSG y la PCR sérica, los dos marcadores de uno clínico más común en el momento actual. Para ello realizamos un estudio observacional, transversal, de 1499 sujetos seleccionados aleatoriamente.