

## FACTORES INVOLUCRADOS EN LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR ATEROSCLERÓTICA Y SU POTENCIAL UTILIDAD COMO BIOMARCADORES

WALTER MARTINEZ LOAIZA<sup>1</sup>, ANNY KATHERYNE RIVERA RUIZ<sup>1</sup>, MONICA CHAVEZ VIVAS<sup>\*2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Medicina. Facultad de Salud. Universidad Santiago de Cali, Colombia.

<sup>2</sup> Departamento de Ciencias Biomédicas. Facultad de Salud. Universidad Santiago de Cali, Colombia.

Correspondencia: Mónica Chavez. Universidad Santiago de Cali. Campus Pampalinda. Calle 5, Cra 62. Cali - Colombia.

Recibido: 14-06-2020

Aprobado para su publicación: 26-10-2020

### Resumen

**Objetivo:** Abordar los principales mediadores que actualmente están en estudio y son considerados potenciales biomarcadores de riesgo cardíaco con el fin de predecir y estratificar el riesgo de pacientes con sospecha de **Enfermedad Cardiovascular Aterosclerótica (ECVA)**.

**Métodos:** Se realizó una revisión en la que se analizaron y discutieron 93 artículos de investigación publicados en los últimos 10 años para comprender mejor la fisiopatología de la aterosclerosis y los biomarcadores potenciales que se pueden emplear en la ECVA.

Todos los hallazgos y aseveraciones de esta revisión se basan en información publicada como se enumera en las referencias.

**Conclusiones:** Se han identificado una serie de moléculas como potenciales biomarcadores que participan en las etapas que componen la aterosclerosis y preceden el desarrollo de la ECVA. Las citocinas: **interleucina 1-β (IL-1β), IL-6, IL-12, y el interferón-γ (INF-γ), proteína que se une al lipopolisacárido (LBP), metaloproteinasas de la matriz-9 (MMP-9) y la ciclofilina A (CypA)** son considerados potenciales predictores independientes de riesgo cardiovascular.

**Palabras clave:** Enfermedad cardiovascular aterosclerótica, biomarcadores, riesgo cardiovascular.

### TOWARDS SOME POTENTIAL BIOMARKERS IN ATHEROSCLEROTIC CARDIOVASCULAR DISEASE

#### Abstract

**Objective:** To address the main mediators that are currently under study and regarded as potential biomarkers of cardiac risk to predict and stratify the risk of patients with suspected CVDs.

**Methods:** A review was conducted in which 92 research articles published in the last 10 years were analyzed and discussed to better delineate atherosclerosis pathophysiology along with the potential biomarkers that can be used in atherosclerotic cardiovascular disease. All of the findings and statements in this review are based on published information as listed in the references.

---

\* monikchavez@gmail.com

*Conclusions: A series of molecules have been identified as potential biomarkers that participate in the stages involving atherosclerosis and precede the development of atherosclerotic cardiovascular disease. Cytokines as interleukin 1- $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, IL-12, and interferon- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ), lipopolysaccharide binding protein (LBP), matrix metalloproteinases-9 (MMP9) and cyclophilin A (CypA) are considered potential independent predictors of cardiovascular risk.*

**Key words:** Atherosclerotic cardiovascular disease, biomarkers, cardiovascular risk.

## Introducción

La Enfermedad Cardiovascular (ECV) forma parte del conjunto de las enfermedades no transmisibles (ENT) que ha mostrado un marcado incremento en los últimos años, siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo.<sup>1,2</sup>

La Asociación Americana del Corazón, en su reporte del 2019 indican un incremento del 48% de ECVs como la enfermedad coronaria, la insuficiencia cardíaca, el accidente cerebrovascular (ACV) y la hipertensión arterial (HTA) en adultos mayores de 20 años en los Estados Unidos.<sup>3</sup>

En el año 2008, se reportó 17 millones de muertes debidas a ECVs, lo que constituye el 30% de las muertes registradas en el mundo.<sup>4</sup> Se proyecta que para el año 2030 el número de muertes por año se incrementará a 23.6 millones.<sup>5,6</sup> El 42% de las muertes serán debidas a la enfermedad cardíaca isquémica y el 34% al ACV.<sup>4,5</sup>

Los reportes para el 2012 en Latinoamérica y el Caribe establecieron a las ECVs como las principales causas de mortalidad, representando el 33.7% de las tasas de mortalidad total.<sup>7</sup>

El incremento en los reportes de las ECVs se atribuye principalmente a estilos de vida no saludables, al crecimiento económico de las naciones en desarrollo y a una mayor expectativa de vida en los países desarrollados.<sup>8,9</sup>

Los factores de riesgo conductuales más comúnmente asociados al desarrollo de las ECVs tienen que ver con el consumo de una dieta poco saludable, el sedentarismo, tabaquismo y consumo abusivo de alcohol. Estos factores desencadenan directamente la HTA, elevación sanguínea de lípidos y glucosa, el sobrepeso y la obesidad.<sup>5</sup> Aunque la identificación y el control de estos factores de riesgo ha mejorado la prevención primaria de las ECVs, y la mortalidad asociadas a las ECVs sigue aumentando.

Los avances en buscar la forma de prevenir y diagnosticar oportunamente las ECVs se han centrado en el

estudio de nuevos biomarcadores asociados con el riesgo cardiovascular. En este artículo se revisará los principales compuestos que actualmente están en estudio y son considerados potenciales biomarcadores cardíacos para el diagnóstico y la estratificación del riesgo en pacientes con sospecha de ECV.

Son muchos los factores de riesgo de tipo general o sistémico que favorecen el desarrollo de las ECVs; sin embargo, la aterosclerosis se encuentra entre las causas principales para el desarrollo de las ECVs; la enfermedad afecta preferentemente a determinadas regiones de la circulación y produce manifestaciones clínicas singulares las cuales dependen del lecho vascular afectado.<sup>10</sup>

## Fisiopatología de la ECV

La Enfermedad cardiovascular aterosclerótica abarca a la enfermedad arterial coronaria (EAC), el ACV y la enfermedad arterial periférica (EAP).<sup>11</sup> Estas enfermedades se desarrollan debido a un proceso inflamatorio crónico y progresivo en las arterias que ocasiona un daño endotelial y como consecuencia el engrosamiento de la capa íntima y media con pérdida de la elasticidad de los vasos sanguíneos.<sup>12</sup>

## Etapas de la progresión de la aterosclerosis

La aterosclerosis tiene lugar con el desarrollo de depósitos grasos en la íntima de las arterias con la interacción de inflamación, estrés oxidativo y disfunción endotelial.

## Etapas inflamatorias

La hipercolesterolemia es el desencadenante principal de la aterosclerosis. La enfermedad comienza con una etapa inflamatoria cuando los altos niveles del colesterol plasmático y de colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (LDL-C) alteran la permeabilidad del endotelio, con el consecuente el paso de las partículas de LDL-C hacia la pared arterial. Las células endoteliales se estimulan y expresan las moléculas de adhesión vascu-

lar-1 (VCAM-1) y las selectinas que permiten la fijación de los monocitos circulantes al endotelio y a través de la diapédesis migran al espacio subendotelial, una vez dentro de la íntima, los fagocitos mononucleares maduran y se transforman en macrófagos.<sup>13-15</sup>

Las LDLs atrapadas en la pared arterial son modificadas por procesos de oxidación y glicosilación, y actúan como estimuladores crónicos de la respuesta inmune innata y adaptativa.<sup>16</sup> La oxidación de la LDL tiene lugar por acción de las especies reactivas de oxígeno (ROS) liberadas por el endotelio.<sup>13</sup>

Los macrófagos en la íntima degradan las partículas lipoproteínicas nativas y modificadas (LDL oxidada, fosfatidilserina, entre otros) vía de la endocitosis mediada por receptores “barrenderos/carroñeros” y receptores de AGEs (por *advanced glycation end products*) (RAGE). La estimulación de los RAGEs induce la activación sostenida del factor nuclear- $\kappa\beta$  (NF- $\kappa\beta$ ), un factor de transcripción proinflamatorio que regula la activación entre otros del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I), y citocinas proinflamatorias (IL-1- $\beta$  y el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  [FNT- $\alpha$ ]).<sup>19</sup>

La presencia de LDL oxidadas (oxLDL), ROS y macrófagos en el espacio subendotelial ejercen un estímulo continuo sobre este último que lleva a la expresión constante de moléculas de adhesión y a la secreción de citocinas, como la proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1), el factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (CSF-GM), las interleucinas proinflamatorias (IL-1- $\beta$ , IL-6 e IL-18), el ligando soluble CD40 (CD40L) y el FNT- $\alpha$ . Manteniendo de esta forma el estado inflamatorio, condición necesaria para el desarrollo de la aterosclerosis.<sup>17, 18</sup>

Durante este proceso, las LDL nativas son degradadas; sin embargo, las oxLDL no son degradadas con facilidad por los lisosomas y tienden a acumularse en el citoplasma junto con el colesterol provocando la transformación de los macrófagos en células espumosas lipidóforas.<sup>13-15</sup>

Existen otros receptores altamente expresados en las lesiones ateroscleróticas, como es el receptor LOX1, que se encuentra en el tejido vascular y realiza captación de oxLDL, aumentando el contenido de esta molécula en el espacio subendotelial.<sup>14</sup>

### **Etapa de formación de la placa de ateroma**

Por la acción de la IL-1 $\beta$ , el FNT- $\alpha$  y el PDGF, las células espumosas producen ROS (anión superóxido,

peróxido de hidrógeno, y radicales hidroxilos) aumentando el contenido de estas especies. Las ROS estimulan la expresión de genes por la vía de la señalización mediada por NF- $\kappa\beta$  y Jun N-Terminal Quinasa (JNK).<sup>15</sup> Esta quinasa, al igual que NF- $\kappa\beta$  constituye el eslabón final de una ruta de transducción de señales que mantiene el proceso inflamatorio debido a la activación de genes que codifican para moléculas de adhesión (selectina E, ICAM-1, VCAM-1) y de citocinas proinflamatorias (TNF $\alpha$  y IL-6).<sup>16</sup>

Las citocinas proinflamatorias como la IL-1 $\beta$  y el FNT- $\alpha$  inhiben la actividad de la óxido nítrico sintetasa (ONS) producida por el endotelio en forma constitutiva, reduciendo la biodisponibilidad de óxido nítrico (ON). Las ROS por su parte, actúan sobre el ON disminuyendo el efecto vasodilatador y de relajación que normalmente tiene lugar en el endotelio y las células del músculo liso. Por estas razones, el estrés oxidativo es considerado el disparador que induce la disfunción endothelial.<sup>14, 18, 21</sup>

Existen sitios donde el flujo sanguíneo se hace turbulento, principalmente en las bifurcaciones arteriales o curvaturas, puntos de flexión, nacimientos de ramas que son áreas críticas para la presencia de lesiones ateroscleróticas.<sup>10, 14, 15, 22</sup>

Los reportes de investigaciones señalan la relación directa entre el daño endotelial con el flujo de sangre turbulento u oscilatorio. En estos sitios se reducen las concentraciones de ON y hay mayor producción de moléculas de adherencia que atraen células inflamatorias.<sup>13, 22</sup> En consecuencia, hay mayor síntesis de citocinas proinflamatorias, acumulación de oxLDL y de células espumosas lipidóforas que dan paso a la formación de estrías lipídicas sin daño en la íntima, lo que se conoce como engrosamiento patológico de la íntima.<sup>16, 17</sup>

Los factores de crecimiento que han sido liberados atraen plaquetas y estimulan la replicación de células musculares lisas y la formación de matriz extracelular alrededor de las células espumosas, quedando aisladas del lumen vascular por una capa de células del músculo liso y por colágeno.<sup>18-21</sup> Algunas de estas células pueden abandonar la pared arterial y durante ese proceso exportan lípidos. Si la cantidad de lípidos que penetra en la pared arterial excede la eliminada por los fagocitos mononucleares o por otros mecanismos, surge la acumulación de los primeros y con ello la propensión a la formación de la placa madura o ateromas.<sup>22</sup>

Los ateromas maduros están compuestos por un núcleo lipídico con un volumen bien definido, que se encuentra separado del lumen del vaso por la “capa fibrosa”. Esta placa madura puede ser estable o inestable.<sup>15, 17</sup>

Los ateromas estables se caracterizan por presentar un núcleo fibroso pequeño, seguido de una capa fibrosa gruesa y firme con una menor inflamación de los bordes, lo que le proporciona una mayor resistencia.

Sin embargo, en los ateromas inestables (o placa vulnerable) el núcleo lipídico es de mayor volumen con una capa fibrosa delgada y con bordes inflamatorios donde hay gran concentración de macrófagos activados con propensión a inducir trombosis.<sup>18</sup>

### Etapa de daño endotelial

La predisposición a la ruptura de la placa estaría mediada por la mayor acumulación de lípidos en el núcleo. Se ha determinado que las LDL levemente oxidadas inducen la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio y activan la expresión del gen *Mcp-1*, lo que aumenta la llegada y unión de monocitos al endotelio. Por otra parte, los intensos cambios que sufre la LDL hacen que el sistema inmune genere autoanticuerpos anti-oxLDL atrayendo un mayor número de macrófagos y células espumosas<sup>14</sup>. Estos aspectos explicarían la alta concentración de macrófagos que se observan en las placas fisuradas.<sup>16, 17, 20</sup>

Los macrófagos activos producen metaloproteinasas de la matriz (MMP) que digieren el colágeno de la capa fibrosa causando que la placa se adelgace y debilite, con lo cual la lesión aterosclerótica se torna susceptible a la ruptura.<sup>21-24</sup>

Se ha reportado que las MMPs: MMP-3, MMP-9, MMP-14 degradan la matriz extracelular, mientras que las enzimas MMP-1 y MMP-2 realizan un control inflamatorio de la placa mediante la inhibición de citocinas biológicamente activas.<sup>25</sup>

En estos sitios ocurre también la muerte de un gran número de células espumosas por la incapacidad que tienen para degradar los lípidos generándose sitios necróticos que ayudan a debilitar la placa.<sup>15, 16</sup>

De acuerdo con la evidencia epidemiológica, la lesión ateromatosa es la manifestación subclínica que predispone en forma significativa a la HTA, al infarto agudo de miocardio (IAM) y a los ACVs;<sup>2, 3, 8, 10</sup> por lo que el control en el desarrollo de la HTA y de la enfermedad cardiovascular aterosclerótica se basa en lograr

diagnosticar la enfermedad subclínica. En este sentido se viene estudiando una serie de moléculas como marcadores biológicos cardiacos que actuarían como predictores de riesgo cardiovascular en forma temprana.

### Biomarcadores de ECV

Los desarrollos tecnológicos han permitido avanzar en el estudio y la significación de varios compuestos que se presentarán a continuación con potencialidad cierta de llegar a constituir marcadores cardiacos.

### Biomarcadores inflamatorios y de formación de la placa de ateroma

#### Proteína C reactiva (PCR)

La PCR es un reactante de fase aguda producida por los hepatocitos como respuesta a procesos de infección aguda e inflamación local y vascular.<sup>26</sup> La PCR desempeña un papel importante en la génesis de la lesión aterosclerótica, ya que reduce la expresión de ONS y se une a LDL-C para promover su absorción por los macrófagos. La PCR también regula la expresión de las moléculas de adhesión en las células endoteliales, atrae quimiocinas, mediando la disfunción endotelial coronaria, (CE) que son pasos claves en la aterogénesis.<sup>27</sup>

Sin embargo, se ha establecido que los niveles de PCR liberados como respuesta a la inflamación vascular son generalmente bajos.<sup>26</sup> Como alternativa se emplea la PCR de alta sensibilidad (PCR-hs) lo cual permite detectar pequeños cambios en las concentraciones de la PCR.<sup>27</sup>

La PCR-hs se emplea en la medida de riesgo de cardiopatía coronaria, un nivel de menos de 1 mg/L indica un riesgo menor, un nivel entre 1 y 3 mg/L indica un riesgo moderado, un nivel superior a 3 mg/L indica un riesgo superior y un nivel mayor de 5 mg/L tienen el riesgo más alto.<sup>27</sup>

Lachine y col<sup>28</sup> evaluaron varios potenciales biomarcadores y señalan que la PCR-hs puede ser considerada un marcador de aterosclerosis subclínica en la población egipcia y, que la medida de sus concentraciones fue útil en la detección temprana de la enfermedad macrovascular en pacientes egipcios con Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2).

#### Interleucina-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )

La familia de ligandos y receptores de interleucina-1 (IL-1) participan en la generación y regulación de la respuesta inflamatoria. Esta familia está constituida por las citocinas IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$  las cuales son proinfla-

matorias, mientras que IL-1Ra e IL-1 RII son inhibidores naturales de la señalización de IL-1.<sup>29</sup>

La IL-1 $\beta$  participa en la progresión de la placa aterosclerótica al incrementar la síntesis de las moléculas de adhesión en las células del endotelio y la proliferación de las células de músculo liso vascular.<sup>30</sup> Además media la diferenciación de las células de músculo liso a través de la acción del TNF- $\alpha$ , desencadenando una respuesta inflamatoria en la lesión.

Algunos estudios han demostrado que los macrófagos absorben microcristales de colesterol y desencadenan una respuesta inflamatoria a través de la activación del receptor NOD-like,<sup>a</sup> con posterior liberación de la IL-1 $\beta$ , lo que conlleva a la amplificación de la respuesta inmune durante la progresión de la aterosclerosis.<sup>31, 33</sup>

Duivenvoorden y col,<sup>34</sup> hacen un repaso de estudios sobre esta temática donde refieren los resultados del ensayo CANTOS del año 2017, en el cual se demostró el control de la inflamación en la enfermedad cardiovascular mediante la inhibición de la IL-1 $\beta$ . Por otra parte, Mezzaroma y col,<sup>35</sup> demostraron la participación de la IL-1 $\beta$  en la inflamación que promueve la remodelación cardíaca adversa después del IAM en ratones, lo cual fue corroborado posteriormente en estudios en humanos.<sup>36</sup>

### Interleucina -6 (IL-6).

IL-6 es una citocina proinflamatoria con capacidad para estimular una variedad de células, entre las que se encuentran los linfocitos B, T, macrófagos, hepatocitos y las células NK.<sup>37</sup> Su papel ha sido demostrado en procesos inflamatorios crónicos como la aterosclerosis y en la ECV.<sup>38</sup>

En la isquemia del miocardio se demostró un incremento considerable en las concentraciones de la IL-6 mediante la vía de activación de la cascada JAK/STAT.<sup>b</sup> En este caso, la proteína transductora de señales gp130 activa la expresión de las proteínas IL-6, JAK1 y

STAT1 produciendo la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio y la activación de macrófagos para producir citocinas proinflamatorias.<sup>37, 38</sup>

Deokar y col<sup>39</sup> en su estudio demostraron que el aumento de los niveles séricos de la IL-6 en pacientes con insuficiencia cardíaca se relaciona con el desarrollo de la enfermedad.

Su y col<sup>40</sup> señalaron una asociación significativa entre los niveles altos de la IL-6 en suero con la mortalidad de pacientes con arteriopatía coronaria.

En pacientes clasificados con riesgo coronario intermedio según la escala de riesgo de enfermedad cardiovascular aterosclerótica (ASCVD) resulta útil la medida de los niveles séricos de la IL-6. Se ha observado que los altos niveles (por encima de 1 pg/ml) de la IL-6 en este grupo de pacientes resulta ser predictiva de arteriopatía coronaria de forma significativa.<sup>41</sup>

Kalsch y col<sup>42</sup> realizaron un seguimiento a pacientes con factores de riesgo cardiovascular alrededor de 10 años y midieron los niveles plasmáticos de IL-6 y otros reactivos de fase aguda del amiloide sérico A (AAS) y la PCR. Así observaron que niveles plasmáticos elevados de IL-6, PCR y AAS se asociaron con enfermedad cardíaca aterosclerótica inestable. Después de ajustar estos marcadores inflamatorios, se constató que el AAS es un factor de riesgo de mortalidad cardiovascular tras un seguimiento a corto plazo (6 meses a 1 año) y la IL-6 se identificó como un factor de riesgo para el seguimiento a largo plazo (3, 5 y 9,9 años). Así, los niveles plasmáticos altos de la IL-6 se asocian con enfermedad coronaria y mortalidad.

### Interleucina-10 (IL-10)

La IL-10 es producida por los linfocitos T reguladores, los linfocitos T ayudadores, macrófagos y células dendríticas, principalmente.<sup>26</sup> Contrarresta las citocinas proinflamatorias, la IL-1 y el FNT- $\alpha$ , sintetizadas por los linfocitos T y los macrófagos.<sup>43</sup>

**a** Los receptores tipo NOD (NLR) (también conocidos como receptores ricos en leucina que se unen a nucleótidos), son sensores intracelulares de patrones moleculares asociados a patógenos -PAMP- como así también los relacionados al daño o DAMP como sería el estrés celular. Desempeñan un papel clave en la regulación de la respuesta inmune innata e inflamatoria. Se hallan presentes en linfocitos, macrófagos, células dendríticas y también en células no inmunes.

**b** La vía del transductor de señal y activador de la transcripción (STAT) de la quinasa janus (JAK) desempeña un papel fundamental en la señalización de una amplia gama de citocinas y factores de crecimiento que conducen a diversas funciones celulares, incluida la proliferación, el crecimiento, la hematopoyesis y la respuesta inmune.

La IL-10 se expresa en la placa aterosclerótica, por lo que se considera valiosa su función para establecer el desarrollo y continuidad de la enfermedad coronaria.<sup>44</sup>

En un modelo animal se demostró que los bajos valores de IL-10 condicionan el desarrollo de lesiones ateroscleróticas más extensas y morfológicamente más inestables, los que sugiere un potencial papel protector de la IL-10 en el desarrollo de la aterosclerosis.<sup>45</sup>

Los pacientes con elevadas cantidades de IL-10 y PCR tienen menor posibilidad de presentar enfermedad coronaria, en comparación con aquellos que sólo poseen concentraciones altas de la PCR, lo que ratifica el papel protector de la IL-10.<sup>46</sup>

Sin embargo, el estudio realizado por Subirana y col, en 105 pacientes con enfermedad coronaria y 638 individuos seleccionados al azar con edades de 35 a 74 años, no logró establecer asociación alguna entre los niveles de la IL-10 con la ECVA.<sup>47</sup>

De forma similar, Goldwater y col<sup>48</sup> en un estudio multicéntrico con 930 individuos seguidos durante 10.2 años, en estado estacionario, no encontraron relación de las concentraciones de IL-10 con el riesgo de futuros eventos de ECV y tampoco se la vio asociada con la cantidad de calcificación coronaria como lo habían establecido investigaciones anteriores.

### Interleucina-12 (IL-12)

La familia de interleucocina-12 consta de IL-12, IL-23, IL-27 e IL-35 y son importantes reguladores en los trastornos inflamatorios crónicos.<sup>49, 50</sup> Su función es regular la respuesta inmunológica, específicamente en la diferenciación de células T-helper (Th) a Th1 y Th17.<sup>50</sup>

Por los efectos proinflamatorios de la IL-12 se la ha vinculado con el desarrollo y progresión de la aterosclerosis y patologías como el IAM y el ACV.<sup>50, 51</sup>

La IL-12 tiene un papel crítico durante las primeras fases de la aterosclerosis. En modelos animales, se demostró que la producción de IL-12 contribuye a la formación de la placa aterosclerótica.<sup>52</sup>

Yong y col<sup>53</sup> demostraron que la IL-12 se relaciona con la rigidez arterial en individuos sanos sin ECV clínica, confirmando el papel de la IL-12 en la aterosclerosis temprana como lo sugieren los estudios en animales.

Mishra y col<sup>54</sup> hallaron un incremento en los niveles séricos de la IL-12 en pacientes con DM2 recién diagnosticados con complicaciones cardiovasculares. Tales concentraciones se asociaron significativamente con un mayor riesgo enfermedad coronaria arterioscleróti-

ca.<sup>55</sup> Por su parte, Zykov y col<sup>56</sup> de acuerdo con los resultados de su estudio, consideran que el nivel sérico de IL-12 podría ser un buen candidato como biomarcador pronóstico en pacientes con IAM.

### Factor de Necrosis tumoral- $\alpha$ (FNT- $\alpha$ )

Los monocitos y los macrófagos son los encargados de la producción de FNT- $\alpha$ .<sup>26</sup>

Algunas investigaciones establecen que el FNT- $\alpha$  podría ser empleado como marcador predictivo del evento cardiovascular en hombres, y el aumento de receptores solubles (sTNFR1 y sTNFR2) y estaría relacionado con el IAM en mujeres.<sup>49</sup>

Li y col<sup>57</sup> describen en sus estudios que la sobreexpresión de FNT conlleva al aumento de los niveles de sTNFR1 y sTNFR2, lo cual conduce a la apoptosis de las células cardíacas. La remodelación cardíaca produce una insuficiencia cardíaca congestiva crónica. Por lo que los investigadores sugieren que el FNT- $\alpha$  puede considerarse como biomarcador pronóstico, diagnóstico y terapéutico en pacientes con oclusión coronaria total crónica y en pacientes de edad avanzada con enfermedad coronaria.

### La lectina 1 (LOX-1) y Lipoproteína de baja densidad (LDL)

La LOX-1 es el receptor de la oxLDL y se expresa en las células endoteliales, monocitos/macrófagos, plaquetas y células musculares lisas.<sup>13</sup> Se ha visto que durante el inicio del síndrome coronario agudo los niveles en sangre de la LOX-1 soluble aumentan antes que los de la troponina T cardíaca, siendo útil para un diagnóstico precoz de la enfermedad.<sup>13, 26</sup>

El estudio prospectivo llevado a cabo por Duran y col<sup>58</sup> analiza los niveles de partículas de LDL de pequeño tamaño circulantes (small, dense LDL, sdLDL-C) asociados a riesgo cardiovascular incluyendo las diferentes manifestaciones de esta patología como son el IAM, ACV y enfermedad coronaria. Los hallazgos evidenciaron una fuerte asociación entre los niveles de sdLDL con el IAM.

Sin embargo, la medición de la LDL ha mostrado tener limitaciones analíticas que estimuló la búsqueda de biomarcadores alternativos para determinar el riesgo de enfermedad cardiovascular.<sup>59</sup> Chu y col<sup>60</sup> midieron los niveles plasmáticos de la LDL electronegativa (L5) en adultos sanos, en pacientes con hiperlipidemia sin evidencia de enfermedad coronaria y en pacientes con

enfermedad coronaria, y concluyen que los valores del L5 aumentaron significativamente en pacientes con enfermedad coronaria, por lo que se debe considerar su estimación en este tipo de patología.

### Especies reactivas de oxígeno (ROS)

El estrés oxidativo parece ser uno de los grandes eventos involucrados en la patogénesis de enfermedad coronaria. Las ROS participan directamente en el proceso inflamatorio mediante la activación de las vías de señalización NF- $\kappa$ B y JNK.<sup>14-16</sup> Pueden desencadenar la cascada inflamatoria indirectamente mediante la oxidación de las LDL y su acción antagónica en la actividad del ON.

Se han reportado diferencias en la composición de las placas ateroscleróticas en pacientes con enfermedad coronaria prematura. En esta hay una gran cantidad de células espumosas y de lípidos, a diferencia de las placas vistas en pacientes mayores con alto contenido de tejido fibroso. Además, la enfermedad coronaria prematura tiene una rápida progresión en lugar de ser un proceso de evolución gradual. En este desarrollo prematuro se ha adjudicado un papel crucial al estrés oxidativo.<sup>61</sup> Musthafa y col<sup>62</sup> encontraron que los pacientes con enfermedad coronaria prematura tenían antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos significativamente más bajos con un aumento concomitante en los marcadores oxidativos. Varios de estos marcadores oxidativos podrían servir como biomarcadores potenciales para la detección de la aterosclerosis de inicio temprano.

### Ciclofilina A (CyPA)

En los vasos sanguíneos se encuentran las células vasculares del músculo liso (VSMC), que producen diferentes factores humorales capaces de alterar el funcionamiento vascular. Entre estos factores se encuentra la proteína CyPA producida en respuesta a la activación por las ROS, entre otros factores.<sup>14, 15</sup> Satoh y col, en su estudio demostraron que la presencia de CyPA extracelular aumenta la producción de ROS causando el daño en las funciones vasculares y promoviendo así la ECV.<sup>63</sup>

En el estudio realizado por Alfonso y col<sup>64</sup> se demostró la relación de Cyps A, B, C y D con la enfermedad coronaria. Los resultados reflejan que los niveles séricos de CypA, CypB y CypC fueron significativamente mayores en los pacientes con enfermedad coronaria. Resaltando que los niveles obtenidos de CypA y CypB fueron menores comparados con los niveles más altos

de CypC, sugeriendo que sería un buen marcador de factor de riesgo de enfermedad coronaria.

Ebrahim y col,<sup>65</sup> demostraron que los niveles de CypA y de MMP-9 fueron significativamente más altos en los pacientes con ECVA con y sin DM2 y concluyeron que los niveles altos de CypA y MMP-9 se asociaron a un mayor riesgo de desarrollar esta enfermedad.

### Ligando soluble CD40 (sCD40L)

El ligando CD40, CD40L (también conocido como CD154, TRAP o gp39), es una glucoproteína transmembrana de 261 aminoácidos de tipo II que pertenece a la familia TNF, se expresa predominantemente en linfocitos T CD4+ activados. Se une a su receptor, la CD40 que se expresa en linfocitos B, monocitos, células dendríticas y epitelio tímico. La interacción CD40-CD40L juega un papel importante en la activación y proliferación de las células B, los monocitos y en la maduración de las células dendríticas.<sup>15</sup>

En el proceso de aterosclerosis, la sCD40L se origina, principalmente, a partir de plaquetas y linfocitos T,<sup>15, 66</sup> y promueve el aumento del flujo de salida de colesterol.<sup>13, 15</sup>

En la formación de la placa aterosclerótica, se destaca por aumentar eventualmente la deposición de lípidos y promover la formación de células espumosas mediante la unión al CD40.<sup>67</sup>

Actualmente se sugieren posibles fluctuaciones en el tiempo de sCD40L como limitación a largo plazo, además se ha establecido que la presión arterial tiene la posibilidad de afectar sus niveles, por lo que el monitoreo prolongado de sCD40L puede ser un factor imprescindible de medición.<sup>68</sup>

Chen y col,<sup>69</sup> estudiaron pacientes con enfermedad coronaria en la India y encontraron que los valores de sCD40L son mucho más elevados en pacientes con síndrome coronario agudo, en comparación con el grupo control. Específicamente se logró establecer que sCD40L podría ser un biomarcador de actividad trombótica inflamatoria en el desarrollo de la patología.

Li y col,<sup>66</sup> lograron establecer la relación de los niveles de sCD40L en pacientes con enfermedad coronaria, específicamente en un grupo de pacientes con síndrome coronario agudo y otro con angina estable en quienes los valores de sCD40L fueron elevados en los dos grupos en comparación al grupo control. Lo que sugiere que sCD40L se puede presentar como un mecanismo de desarrollo de la ECV.

### Interferón- $\gamma$ (INF- $\gamma$ )

El INF- $\gamma$  se encuentra relacionado con el reclutamiento de monocitos y linfocitos T en las lesiones ateroscleróticas, mediante la expresión de moléculas de adhesión, tales como VCAM-1 y la expresión genética de la proteína MCP-1. También posee acción sobre la expresión del TNF- $\alpha$  y la IL-6.<sup>49</sup>

Wang y col<sup>70</sup> demostraron que la distribución sérica de INF- $\gamma$  se halla asociada a mayor riesgo de padecer enfermedad arterial coronaria. Los investigadores afirman que el INF- $\gamma$  podría convertirse en un biomarcador para el diagnóstico y pronóstico de enfermedad coronaria. Reforzando este hallazgo, Liang y col<sup>71</sup> encontraron altos niveles de INF- $\gamma$  en pacientes que padecen enfermedad coronaria. Además, observaron una asociación positiva entre INF- $\gamma$  y los niveles de triglicéridos en dichos pacientes.

### Homocisteína

Algunos estudios sugieren que el aumento en los niveles de homocisteinemia se relaciona con disfunción endotelial, porque disminuye la capacidad de las células endoteliales para regular el tono vascular mediante la reducción en la producción de ON y la inducción de síntesis de peróxido de hidrógeno, y de radicales de anión superóxido.<sup>72</sup>

Su acción desencadena el aumento en la interacción leucocito-endotelio mediante la expresión de moléculas de adhesión y la activación de la cascada inflamatoria a través de la activación de citocinas inflamatorias tales como IL-6, IL-8 y FNT- $\alpha$ .<sup>73, 74</sup>

Los niveles plasmáticos altos de homocisteína se encuentran vinculados al engrosamiento de la íntima. Uno de los mecanismos que modulan dicha característica se debe al aumento en la síntesis de ciclina A, afectando la entrada de las células quiescentes de músculo liso al ciclo celular e incrementado la rigidez arterial.<sup>74</sup>

La homocisteína también podría tener actividad procoagulante inhibiendo la expresión de la trombo-modulina y reduciendo la actividad de antitrombina III, que resultaría en una supresión de su efecto anticoagulante.<sup>73</sup> Además, interfiere con las propiedades de la enzima de superficie endotelial, que generalmente tiene acción fibrinolítica, esto debido a que estimula la expresión del gen factor inhibidor-1. También induce bajos niveles de factor tisular, lo que permite activar la cascada de coagulación y potenciar la agregación plaquetaria.<sup>75</sup>

### Biomarcadores de desestabilización de la placa Metaloproteínasa de matriz 9 (MMP9) y Proteína de unión al lipopolisacárido (LBP)

La LBP es una proteína de fase aguda de clase 1, que se encuentra en la placa de las arterias coronarias en humanos. Varios patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) se unen a LBP formando complejos que posteriormente se unen a receptores tipo toll (TLR). Dicha unión favorece la estimulación de interleucocinas, citocinas y factores de crecimiento que contribuyen a la acción pro aterogénica.<sup>76</sup>

Regente y col<sup>77</sup> encontraron un incremento plasmático de LBP de forma inmediata a las fisuras de la placa aterosclerótica. La liberación de LBP de la placa puede conducir al aumento de MMP9 a través de la señalización de TLR4 y NF $\kappa$ B.

Otros estudios también han detectado un rápido incremento en la MMP9 después de la disrupción de la placa.<sup>78, 79</sup> Como se sabe, las MMPs expresadas en las placas ateroscleróticas tiene gran impacto en la destrucción de la capa fibrosa predisponiendo a la formación de trombos.<sup>78</sup>

### Interleucina-18 (IL-18)

Los macrófagos son los encargados de expresar IL-18 y entre las principales funciones de esta citocina se encuentra la estimulación de las células NK y la expresión de INF- $\gamma$  por parte de las células T.<sup>14, 26</sup> La IL-18 es capaz de promover la cascada proinflamatoria a través de la producción de FNT- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ .<sup>80</sup>

En el síndrome coronario agudo se ve afectada la pared vascular de las arterias coronarias por la ruptura de la placa aterosclerótica. Los sucesos que llevan a la desestabilización de la placa tienen que ver con los cambios de las fibras de colágeno y elásticas que la conforman.<sup>26-28</sup> Pigarevskii y col,<sup>81</sup> lograron identificar a la IL-18 en los elementos que componen las placas ateroscleróticas, independientemente que fueran estables o inestables.<sup>17, 23, 24</sup> La consecuencia directa es que la IL-18 con su función proinflamatoria suscita la síntesis de INF- $\gamma$ , macrófagos, células NK e inhibe la proliferación de las células del músculo liso y la síntesis de fibras de colágeno y elastina.

### Adiponectina

Se ha visto que la adiponectina tiene efectos importantes en el tono vascular, produce un incremento en la síntesis de ON provocando la relajación del endotelio vascular, además suprime la producción de ROS.<sup>17, 18, 24</sup>

Liberale y col,<sup>74</sup> establecieron que la adiponectina surgió como un modulador negativo de la respuesta inmune innata y este efecto se debe en gran medida a una supresión de la vía de activación del NF- $\kappa$ B. Sería interesante llevar a cabo más estudios respecto de ella porque es un buen candidato como biomarcador de reducción de la enfermedad durante el tratamiento de la ECV o como un indicador en el control de los factores de riesgo cardiovascular.

### Otras adipocitocinas

El desequilibrio en la liberación de adipocitocinas proinflamatorias como son la omentina, la leptina y la quemerina se relacionan con efectos perjudiciales en el funcionamiento vascular y daño endotelial por medio de comunicación paracrina, endocrina o autocrina.<sup>27</sup>

Harada y col,<sup>82</sup> demostraron la relación en el aumento de omentina, una adipocitocina secretada por el tejido adiposo visceral, y el desarrollo de enfermedad de las arterias coronarias. El estudio se llevó a cabo mediante la recolección de muestras de tejido adiposo epicárdico, subcutáneo y plasma, en pacientes con enfermedad coronaria y sin ella. En los resultados es bien evidente que los niveles de omentina en tejido adiposo epicárdico de pacientes con enfermedad de las arterias coronarias, son elevados, a pesar de que estos pacientes no presentan obesidad, sin embargo, los valores de omentina en plasma son reducidos. Independientemente de que en plasma no se encuentren altos valores de omentina, la misma sí parece estar relacionada con la patogénesis de la enfermedad coronaria.

En el caso de la leptina, en ratones obesos se ha constatado que esta adipocitocina se asocia con la infiltración de los macrófagos en el tejido adiposo y la consiguiente liberación de las citocinas proinflamatorias FNT- $\alpha$  y la IL-6.<sup>83</sup> Nalini y col,<sup>84</sup> lograron establecer la participación de esta adipocitocina en la enfermedad coronaria.

Su acción en las ECVs estaría dada a través de la participación en la activación del inflammasoma/caspasa1 con la consiguiente liberación de IL-18 en ciertas poblaciones de macrófagos. Del mismo modo, participaría en el deterioro de la distensibilidad arterial, además de promover la angiogénesis e intervenir en la migración de las células del músculo liso vascular lo que conduciría a la progresión de la aterosclerosis como se demostró en modelos animales.<sup>85</sup>

En el metanálisis realizado por Chai y col<sup>86</sup> se estableció que los niveles altos de leptina se relacionan con hipertensión arterial, aterosclerosis e infarto de miocardio. Dentro de los mecanismos más relevantes se encuentra su rol en la agregación plaquetaria, el reclutamiento de monocitos íntimos, la transformación de las células espumosas y secreción de citocinas pro-aterogénicas. Sin embargo, aún existen inconsistencias en cuanto a su efecto biológico dependiendo por ejemplo del sexo, lo que hace difícil entender su clara participación en la enfermedad coronaria.<sup>87</sup>

En el caso de la quemerina, interviene en el reclutamiento de leucocitos a través de las interacciones de quimiocinas CCL2 / CCR5.<sup>74, 88</sup>

Eichelmann y col,<sup>89</sup> mediante un estudio de cohorte prospectivo establecieron una asociación significativa entre las altas concentraciones de quemerina y el desarrollo de ECVs, independientemente de factores de riesgo establecidos. Se menciona la quemerina como una proteína quimioatrayente cuya acción se ejerce al reclutar células inmunes al lugar del daño tisular.

Fontes y col,<sup>90</sup> a partir de una revisión sistemática concluyeron que un aumento del tejido adiposo influye en la desregulación de la quemerina con el consecuente desarrollo de ECVs. Se propone la medida de esta adipocina como un marcador de riesgo cardiovascular.

Más concretamente Lachine y col<sup>28</sup> en su estudio formulan la medida de la quemerina como un marcador de detección temprana de la enfermedad cardiovascular en la población egipcia.

### La lipoproteína asociada a la fosfolipasa A2 (Lp-PLA2)

Los macrófagos, linfocitos T, monocitos y mastocitos son las principales células que secretan Lp-PLA2.<sup>14</sup> Esta proteína se halla en las lesiones ateroscleróticas, principalmente en las placas vulnerables.<sup>17</sup> Cuando LDL se oxida, la Lp-PLA2 genera lisofosfatidilcolina y ácido graso oxidado a partir de la escisión de un componente de fosfatidilcolina oxidada de la lipoproteína.<sup>17</sup> El ácido graso y la lisofosfatidilcolina actúan como factores proinflamatorios y pro aterogénicos por lo que la Lp-PLA2 es considerada un biomarcador emergente que juega un papel clave en la inflamación vascular y, lo que es más importante, en la evolución de la aterosclerosis.<sup>17, 18</sup>

Tousoulis y col<sup>91</sup> encontraron que el incremento de Lp-PLA2 estaría implicado con el aumento de riesgo de enfermedad cardiovascular. Sin embargo, aún no se ha logrado relacionar la participación de Lp-PLA2 en la predicción del riesgo de ECV.

**Proteína plasmática asociada al embarazo A (PAPP-A)**

La PAPP-A es una metaloproteína que se ha detectado en células de la placa coronaria y en la matriz extracelular de placas inestables.<sup>25</sup> La PAPP-A estaría asociada a la inestabilidad y ruptura de la placa y a la reducción de ON como lo demostraron Li y col.<sup>92</sup> Se logró probar que PAPP-A aumenta la producción de MCP-1, TNF- $\alpha$  e IL-6 mediante la ruta de señalización IGF-I/PI3K/Akt en macrófagos de ratones. Aporte que respalda el hecho de que PAPP-A logra promover la inflamación y consecuentemente contribuir a la formación y ruptura de placa. Ello plantea la conveniencia de llevar a cabo posteriores estudios para establecer su asociación como biomarcador predictivo de la progresión de la enfermedad aterosclerótica.

**Osteopontina (OPN)**

La OPN incrementa el reclutamiento, migración y adhesión de los macrófagos y modula la expresión de citocinas proinflamatorias.<sup>23, 24</sup> Aunque no está definida su asociación con la inestabilidad de la placa de ateroma. Se eleva significativamente en pacientes con enfermedad coronaria cuya placa aterosclerótica está en progreso. Específicamente se ha visto que la OPN contribuye a la calcificación de la placa<sup>93</sup> y se plantea como un predictor

de riesgo cardiovascular por lo que podría ser empleada para identificar aterosclerosis precoz.

**Conclusión**

Son muchos los esfuerzos que se vienen adelantando en encontrar marcadores podrían usarse para la detección y la evaluación del riesgo cardiovascular. Las moléculas involucradas en la disfunción endotelial hasta la ruptura de la placa de ateroma y la trombosis resultan ser claves para un marcador de detección temprana de la aterosclerosis y de la enfermedad cardiovascular. Se destacan a las citocinas: IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, y el INF- $\gamma$  y las proteínas LBP, MMP9 y CypA como potenciales marcadores para seguir la progresión de la aterosclerosis y como predictores independientes de riesgo cardiovascular.

Es importante intensificar los estudios para entender el papel de las adipocitocinas, la Lp-PLA2, la PAPP-A y la OPN como potenciales marcadores para identificar la aterosclerosis precoz.

Es claro que para la ECV no existe un único biomarcador que pueda emplearse para el diagnóstico de la enfermedad, sino que el monitoreo de un conjunto de biomarcadores pueden ser posibles dianas para un diagnóstico precoz de la enfermedad e incluso como objetivo terapéutico para futuros tratamientos médicos.

**Referencias**

1. Laslett LJ, Alagona P, Clark BA y col. *The worldwide environment of cardiovascular disease: prevalence, diagnosis, therapy, and policy issues: a report from the American College of Cardiology*. J Am Coll Cardiol 60: S1–S49, 2012.
2. Fowkes FG, Rudan D, Rudan I y col. *Comparison of global estimates of prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2000 and 2010: a systematic review and analysis*. Lancet 382: 1329–1340, 2013.
3. Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A y col. *Heart Disease and Stroke Statistics—2019 Update: A Report From the American Heart Association*. Circulación. 2019; 139 (10): e56 – e528.
4. World Health Organization. *Global status report on noncommunicable diseases [Internet]. 2010*, Available from: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789240686458\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789240686458_eng.pdf). 2011.
5. World Health Organization. *Cardiovascular diseases (CVDs) [Internet]. [Consultado 19 Nov 2019]*. Available from: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)). 2017.
6. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go A.S y col. *Heart Disease and Stroke Statistics—2015 Update: A Report From the American Heart Association*. Circulation 131: 29-322, 2015.
7. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS), *Información y Análisis de Salud (HSD/HA): Situación de Salud en las Américas: Indicadores Básicos 2012*, Estados Unidos de América, Washington, D.C, 2012.
8. Tiffe T, Wagner M, Rücker V y col. *Control of cardiovascular risk factors and its determinants in the general population- findings from the STAAB cohort study*. BMC Cardiovasc Disord 17: 276, 2017.
9. Ludt S, Wensing M, Campbell SM y col. *The challenge of cardiovascular prevention in primary care: implications of a European observational study in 8928 patients at different risk levels*. Eur J Prev Cardiol 21: 203–213, 2014.
10. Hinton RB, Yutzey KE. *Heart Valve Structure and Function in Development and Disease*. Ann Rev Physiol 73: 29-46, 2011.

11. Joyner MJ, Paneth N. *Cardiovascular Disease Prevention at a Crossroads: Precision Medicine or Polypill?* JAMA 322: 2281–2282, 2019.
12. Diaz Campos A. *Fisiopatología de la aterosclerosis*. Acta Neurol Colomb 26: 1-9, 2010.
13. Steinberg D, Witztum JL. *Oxidized low-density lipoprotein and atherosclerosis*. Arterioscler Thromb Vasc Biol 30: 2311–2316, 2010.
14. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. *Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis*. Nature 473: 317–325, 2011.
15. Berghuanu, SC, Bodde, MC. & Jukema, JW. *Pathophysiology and treatment of atherosclerosis*. Neth Heart J 25: 231–242, 2017.
16. Seimon TA, Nadolski MJ, Liao X y col *Atherogenic lipids and lipoproteins trigger CD36-TLR2-dependent apoptosis in macrophages undergoing endoplasmic reticulum stress*. Cell Metab 12: 467–482, 2010.
17. Bentzon JF, Otsuka F, Virmani R y col. *Mechanisms of plaque formation and rupture*. Circ Res 114(12): 1852-1866, 2014.
18. Moore KJ, Tabas I. *Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis*. Cell 145: 341–355, 2011.
19. Stöger JL, Gijbels MJ, van der Velden S y col. *Distribution of macrophage polarization markers in human atherosclerosis*. Atherosclerosis 225: 461–468, 2012.
20. Tabas I. *Macrophage death and defective inflammation resolution in atherosclerosis*. Nat Rev Immunol 10: 36–46, 2010.
21. Cao J, Ye B, Lin L y col. *Curcumin Alleviates oxLDL Induced MMP-9 and EMMPRIN Expression through the Inhibition of NF- $\kappa$ B and MAPK Pathways in Macrophages*. Front. Pharmacol, 8: 62, 2017.
22. Aziz M, Yadav KS. *Pathogenesis of Atherosclerosis A Review*. Medical & Clinical Reviews 2: 1-6, 2016.
23. Santos-Gallego CG, Picatoste B, Badimon JJ. *Pathophysiology of acute coronary syndrome*. Curr Atheroscler Rep 16: 401, 2014.
24. Epelman S, Liu PP, Mann DL. *Role of innate and adaptive immune mechanisms in cardiac injury and repair*. Nat Rev Immunol 15: 117-129, 2015.
25. Azevedo A, Prado AF, Antonio RC, et al. *Matrix Metalloproteinases are Involved in Cardiovascular Diseases*. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 115: 301–314, 2014.
26. McLean SA, Huang JS. *Cardiac biomarkers in the intensive care unit*. Springer 2: 1-11 2012.
27. Soeki T, Sata M. *Inflammatory Biomarkers and Atherosclerosis*. Int Heart J 57: 134-139, 2016.
28. Lachine NA., Elnekiedy AA, Megallaa MH, et al. *Serum chemerin and high-sensitivity C reactive protein as markers of subclinical atherosclerosis in Egyptian patients with type 2 diabetes*. Ther Adv Endocrinol Metab 7: 47–56, 2016.
29. Kaneko N, Kurata M, Yamamoto T y col. *The role of interleukin-1 in general pathology*. Inflamm Regen 39: 1-16, 2019.
30. Khan R, Rheume E, Tardif J. *Examining the Role of and Treatment Directed at IL-1 $\beta$  in Atherosclerosis*. Curr Atheroscler Rep 20: 1-8, 2018.
31. Duewell P, Kono H, Rayner K y col. *NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals*. Nature 464: 1357–1361, 2010.
32. Rajamäki K, Lappalainen J, Oörni K y col. *Cholesterol crystals activate the NLRP3 inflammasome in human macrophages: A novel link between cholesterol metabolism and inflammation*. PLoS One 5: 1-9, 2010.
33. Awan Z, Genest J. *Inflammation modulation and cardiovascular disease prevention*. Eur J Prev Cardiol 22: 719-733, 2015.
34. Duivenvoorden R, Senders ML, Van Leent MMT y col. *Nanoimmunotherapy to treat ischaemic heart disease*. Nat Rev Cardiol 16: 21–32, 2019.
35. Mezzaroma E, Toldo S, Farkas D y col. *The inflammasome promotes adverse cardiac remodeling following acute myocardial infarction in the mouse*. PNAS 108: 19725-19730, 2011.
36. Ruparelina N, Chai JT, Fisher EA y Choudhury RP. *Inflammatory processes in cardiovascular disease: a route to targeted therapies*. Nat Rev Cardiol 14: 133–144, 2017.
37. Naseem S, Iqbal R, Munir T. *Role of interleukin-6 in immunity*. Int J Life Sci Res 4: 268-274, 2016.
38. Wann LS, Narula J, Blankstein R y col. *Atherosclerosis in 16th-Century Greenlandic Inuit Mummies*. [published correction appears in JAMA Netw Open. 2020 Jan 3;3(1):e200165]. JAMA Netw Open. 2(12):e1918270, 2019.
39. Deokar SA, Dandekar SP, Shinde GA y col. *Role of serum interleukin-6 in heart failure*. Int J Adv Med 5: 936-940, 2018.
40. Su D, Li Z, Li X y col. *Association between serum interleukin-6 concentration and mortality in patients with coronary artery disease*. Hindawi 2013: 1-7, 2013.
41. Wainstein1 MV, Mossmann M, Araujo GN y col. *Elevated serum interleukin-6 is predictive of coronary artery disease in intermediate risk overweight patients referred for coronary angiography*. Diabetol Metab Syndr 9: 67, 2017.
42. Kälsch AI, Scharnagl H, Kleber ME y col. *Long- and*

- short-term association of low-grade systemic inflammation with cardiovascular mortality in the LURIC study.* Clin Res Cardiol 109: 358–373, 2020.
43. Yilmaz MI, Solak Y, Saglam M y col. *The relationship between IL-10 levels and cardiovascular events in patients with CKD.* Clin J Am Soc Nephrol 9: 1207-1216, 2014.
  44. Mirhafez S, Zarifian A, Ebrahimi M y col. *Relationship between serum cytokine and growth factor concentrations and coronary artery disease.* Clin Biochem 48: 575-580, 2015.
  45. Lancellotti P, Oury C. *IL-10 targets myofibroblasts and dampens cardiac fibrosis.* J Public Health Emerg 1,11: 1-4, 2017.
  46. Libby P, Hansson GK. *Inflammation and immunity in diseases of the arterial tree: players and layers.* Circ Res 116: 307-311, 2015.
  47. Subirana I, Fitó M, Díaz O y col. *Prediction of coronary disease incidence by biomarkers of inflammation, oxidation, and metabolism.* Sci Rep 8: 1-7, 2018.
  48. Goldwater D, Karlamangla A, Merkin SS y col. *Interleukin-10 as a predictor of major adverse cardiovascular events in a racially and ethnically diverse population: Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis.* Annals of Epidemiology 30: 9-14, 2019.
  49. Haybar H, Shokuhian M, Bagheri M y col. *Involvement of circulating inflammatory factors in prognosis and risk of cardiovascular disease.* Journal of Molecular and Cellular Cardiology 132: 110-119, 2019.
  50. Van der Heijden T, Bot I, Kuiper J. *The IL-12 cytokine family in cardiovascular diseases.* Cytokine 122: 154188, 2019.
  51. Ye J, Wang Y, Wang Z y col. *Roles and Mechanisms of Interleukin-12 Family Members in Cardiovascular Diseases: Opportunities and Challenges.* Front Pharmacol 11: 129, 2020.
  52. Huang Y, Hu H, Liu L y col. *Interleukin-12p35 deficiency reverses the Th1/Th2 imbalance, aggravates the Th17/Treg imbalance, and ameliorates atherosclerosis in ApoE-/- mice.* Hindawi 2019: 1-12, 2019.
  53. Yong K, Dogra G, Boudville N y col. *Interleukin-12 Is Associated With Arterial Stiffness in Healthy Individuals.* Am J Hypertens 26: 159-162, 2013.
  54. Mishra M, Kumar H, Bajpai S y col. *Level of serum IL-12 and its correlation with endothelial dysfunction, insulin resistance, proinflammatory cytokines and lipid profile in newly diagnosed Type 2 diabetes.* Diabetes Res Clin Pract 94: 255-261, 2011.
  55. Opstad TB, Arnesen H, Pettersen AA, Seljeflot I. *Combined elevated levels of the proinflammatory cytokines IL-18 and IL-12 are associated with clinical events in patients with coronary artery disease: An observational study.* Metab Syndr Relat Disord 14: 242-8, 2016.
  56. Zykov MV, Barbarash OL, Kashtalov VV y col. *Interleukin-12 serum level has prognostic value in patients with ST-segment elevation myocardial infarction.* Heart Lung 45: 336-340, 2016.
  57. Li X, Zhang F, Zhou H y col. *Interplay of TNF- $\alpha$ , soluble TNF receptors and oxidative stress in coronary chronic total occlusion of the oldest patients with coronary heart disease.* Cytokine 125: 1548362, 2020.
  58. Duran EK, Aday AW, Cook NR y col. *Triglyceride-Rich Lipoprotein Cholesterol, Small Dense LDL Cholesterol, and Incident Cardiovascular Disease.* Journal of the American College of Cardiology 75: 2122-2135, 2020.
  59. Meeusen JW, Donato LJ. & Jaffe AS. *Should apolipoprotein B replace LDL cholesterol as therapeutic targets are lowered?* Curr Opin Lipidol 27: 359–366, 2016.
  60. Chu C, Chan H, Tsai M y col. *Range of L5 LDL levels in healthy adults and L5's predictive power in patients with hyperlipidemia or coronary artery disease.* Sci Rep 8: 1-9, 2018.
  61. Maschirow L, Khalaf K, Al-Aubaidy H, et al. *Inflammation, coagulation, endothelial dysfunction and oxidative stress in prediabetes – biomarkers as a possible tool for early disease detection for rural screening.* Clin Biochem 48: 581–585, 2015.
  62. Musthafa QA, Abdul Shukor MF, Shaarela Ismail NA y col. *Oxidative status and reduced glutathione levels in premature coronary artery disease and coronary artery disease.* Free Radical Research 51: 787-789, 2017.
  63. Satoh K, Shimokawa H. *Recent Advances in the Development of Cardiovascular Biomarkers.* Atherosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 38: e61–e70, 2018.
  64. Alfonso A, Bayón J, Gegunde S y col. *High Serum Cyclophilin C levels as a risk factor marker for Coronary Artery Disease.* Sci Rep 9: 1-12, 2019.
  65. Ebrahim HF, Abdel Hamid FF, Haykal MA, Soliman AF. *Cyclophilin A and matrix metalloproteinase-9: Their relationship, association with, and diagnostic relevance in stable coronary artery disease.* Vascular 28: 212-221, 2020.
  66. Li Q, Song W, Zhang L y col. *Changes And Correlation Of Serum Sfrp5, Hn And sCD40L Expression In Patients With Coronary Heart Disease.* Acta Medica Mediterranea 35: 2837, 2019
  67. Yuan M, Fu H, Ren L y col. *Soluble CD40 Ligand Promotes Macrophage Foam Cell Formation in the Etiology of Atherosclerosis.* Cardiology 131: 1-12, 2015.

68. Pesau G, Scherthaner G. *sCD40L: An overestimated marker for cardiovascular risk prediction?*. *Atherosclerosis* 291: 122-123, 2019.
69. Chen J, Li JH, Zhao SJ y col. *Clinical significance of costimulatory molecules CD40/CD40L and CD134/CD134L in coronary heart disease: A case-control study*. *Medicine* 96: 1-9, 2017.
70. Wang H, Zhang N, Li G, Xu B. *Proinflammatory cytokine IFN- $\gamma$ , lncRNA BANCR and the occurrence of coronary artery disease*. *Life Sciences* 231: 1-5, 2019.
71. Liang K, Dong SR, Peng H. *Serum levels and clinical significance of IFN- $\gamma$  and IL-10 in patients with coronary heart disease*. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 20: 1339-1343, 2016.
72. Wakabayashi I. *Homocysteine Levels and Arterial Stiffness in the General Population*. *J Atheroscler Thromb* 23: 668-670, 2016.
73. Balint B, Jepchumba V, Guéant J, Guéant-Rodriguez R. *Mechanisms of homocysteine-induced damage to the endothelial, medial and adventitial layers of the arterial wall*. *Biochimie* 173: 100-106, 2020.
74. Liberale L., Bonaventura A., Vecchiè A y col. *The Role of Adipocytokines in Coronary Atherosclerosis*. *Curr Atheroscler Rep* 19: 10, 2017.
75. Calderón-Larrañaga A, Saadeh M, Hooshmand B y col. *Association of Homocysteine, Methionine, and MTHFR 677C>T Polymorphism With Rate of Cardiovascular Multimorbidity Development in Older Adults in Sweden*. *JAMA Netw Open* 3(5):e205316, 2020.
76. Lepper B, Kleber M, Grammer T y col. *Lipopolysaccharidebinding protein (LBP) is associated with total and cardiovascular mortality in individuals with or without stable coronary artery disease – Results from the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study (LURIC)*. *Atherosclerosis* 219: 291-297, 2011.
77. Lee R, Fischer R, Charles PD y col. *A novel workflow combining plaque imaging, plaque and plasma proteomics identifies biomarkers of human coronary atherosclerotic plaque disruption*. *Clin Proteomics* 14: 22, 2017.
78. Kobayashi N, Hata N, Kume N y col. *Matrix Metalloproteinase-9 for the Earliest Stage Acute Coronary Syndrome*. *Circ J* 75: 2853-2861, 2011.
79. Hansson GK, Libby P, Tabas I. *Inflammation and plaque vulnerability*. *J Intern Med* 278: 483–493, 2015.
80. Formanowicz D, Gutowska K, Formanowicz P. *Theoretical Studies on the Engagement of Interleukin 18 in the Immuno-Inflammatory Processes Underlying Atherosclerosis*. *Int J Mol Sci* 19: 3476, 2018.
81. Pigarevskii PV, Maltseva SV, Snegova VA, Davydova G. *Role of Interleukin-18 in Destabilization of the Atherosclerotic Plaque in Humans*. *Bull Exp Biol Med* 157: 796-800, 2014.
82. Harada K, Shibata R, Ouchi N y col. *Increased expression of the adipocytokine omentin in the epicardial adipose tissue of coronary artery disease patients*. *Atherosclerosis* 251: 299-304, 2016.
83. Dib LH, Ortega MT, Fleming SD y col. *Bone marrow leptin signaling mediates obesity-associated adipose tissue inflammation in male mice*. *Endocrinology* 155: 40-46, 2014.
84. Nalini D, Karthick R, Shirin V y col. *Role of the adipocyte hormone leptin in cardiovascular diseases – a study from Chennai based Population*. *Thromb J* 13: 12, 2015.
85. Cho Y, Lee SE, Lee HC y col. *Adipokine resistin is a key player to modulate monocytes, endothelial cells, and smooth muscle cells, leading to progression of atherosclerosis in rabbit carotid artery*. *J Am Coll Cardiol* 57: 99–109, 2011.
86. Chai S, Sun F, Nie X, Wang J. *Leptin and coronary heart disease: A systematic review and meta-analysis*. *Atherosclerosis* 233: 3-10, 2014.
87. Olstad R, Florholmen J, Svartberg J y col. *Leptin in the General Population, Differences in Sex Hormones, Blood Lipids, Gender and Life Style Characteristics*. *Open Behav Sci J* 5:8-15, 2011.
88. Gonzalvo-Feo S, Del Prete A, Pruenster M y col. *Endothelial cell-derived chemerin promotes dendritic cell transmigration*. *J Immunol* 192: 2366-2373, 2014.
89. Eichelmann F, Schulze M, Wittenbecher C y col. *Chemerin as a Biomarker Linking Inflammation and Cardiovascular Diseases*. *J Am Coll Cardiol* 73: 378-379, 2019.
90. Fontes V, Neves F, Candido A. *Quemerina e fatores relacionados ao risco cardiovascular em crianças e adolescentes: uma revisão sistemática*. *Rev Paul Pediatr* 36: 221-229, 2018.
91. Tousoulis D, Papageorgiou N, Androulakis E, Stefanadis C. *Lp-PLA2—A novel marker of atherosclerosis: To treat or not to treat?*. *International Journal of Cardiology* 165: 213-216, 2013.
92. Li W, Li H, Zhou L y col. *Pregnancy-Associated Plasma Protein A Induces Inflammatory Cytokine Expression by Activating IGF-II/PI3K/Akt Pathways*. *Mediators Inflamm* 2019:8436985, 2019.
93. Benozzi S, Coniglio RI. *Atherosclerosis: biomarcadores plasmáticos emergentes*. *Acta Bioquim Clin Latinoam* 44: 317-328, 2010.