

# Efecto del resveratrol sobre marcadores séricos de inflamación durante la aterosclerosis

## Papel de la interleucina-17 e interleucina-33

Effect of resveratrol on seric inflammation markers during atherosclerosis. Role of interleukin-17 and interleukin-33

JULIO CÉSAR GONZÁLEZ<sup>A,B</sup>, ALEJANDRO EL BASSET<sup>A</sup>, RICARDO PASCUAS<sup>A</sup>,  
SAMUEL SEVERINO<sup>A</sup>, MARCELO PERDOMO<sup>A</sup>, JOHANDER BAYONE<sup>A</sup>,  
MARYUALI NAVARRO<sup>A</sup>, LETICIA FIGUEIRA<sup>A,\*</sup>

### Resumen

El resveratrol es una fitoalexina que ha demostrado tener efectos anti-inflamatorios y antiaterogénicos. La interleucina-17 (IL-17) y la interleucina-33 (IL-33) son citoquinas inflamatorias que están vinculadas en la fisiopatología de la aterosclerosis. En el presente estudio se evaluó el efecto del resveratrol sobre los niveles séricos de IL-17 y de la IL-33 y su evolución en el tiempo en conejos alimentados con una dieta enriquecida con colesterol. Para ello, 48 conejos machos Nueva Zelanda fueron divididos en cuatro grupos alimentados de la siguiente manera durante 12 semanas: Grupo 1 (control): Conejarina. Grupo 2: Conejarina suplementada con 0,5% p/p de colesterol. Grupo 3 (control resveratrol): Conejarina y resveratrol (2mg/Kg). Grupo 4: Conejarina suplementada con 0,5% colesterol y resveratrol (2mg/Kg). Se realizaron determinaciones séricas de triglicéridos, colesterol y sus fracciones, IL-17 e IL-33 al inicio, 6ta, y 12ma semana de experimentación. La mitad de los conejos fueron sacrificados a la 6ta y 12ma semana y se realizó estudio histológico de su aorta. Se encontró un aumento de los niveles séricos de IL-17 e IL-33 en los grupos 2 y 4 desde la 6ta semana de experimentación con respecto a los grupos 1 y 3, respectivamente ( $p < 0,0022$ ). En la duodécima semana se observó que el tratamiento con resveratrol revirtió el aumento de los niveles de IL-17 inducido por la dieta enriquecida con colesterol ( $p = 0,0022$ ). El tratamiento con resveratrol disminuyó la formación de ateromas. En conclusión, la IL-17 y la IL-33 séricas constituyen marcadores tempranos no invasivos de inflamación y aterosclerosis. La suplementación oral de resveratrol ejerce efectos antiinflamatorios y anti-ateroscleróticos, disminuyendo las concentraciones séricas de IL-17, la formación y evolución de las lesiones ateroscleróticas.

**Palabras Clave:** Interleucina-17, interleucina-33, resveratrol, inflamación, aterosclerosis.

### Abstract

Resveratrol is a phytoalexin and has anti-inflammatory and antiatherogenic actions. Interleukin-17 (IL-17) and interleukin-33 (IL-33) are inflammatory cytokines involved in atherosclerosis. We evaluated the effect of resveratrol on serum concentrations of IL-17 and IL-33 during the progression and evolution of atherosclerosis and its evolution over time in rabbits fed with a cholesterol diet. Forty eight New Zealand white male rabbits were randomly divided into four groups that received for 12 weeks: Group 1 (control): Standard diet (commercial rabbit food). Group 2: Standard diet + cholesterol (0.5% cholesterol). Group 3 (control resveratrol): Standard diet (commercial rabbit food) and resveratrol (2mg/Kg). Group 4: Standard diet + cholesterol (0.5% cholesterol) and resveratrol (2mg/Kg). Blood samples of overnight-fasted rabbits were collected on basal, sixth and twelfth weeks, and concentration of lipid profile, IL-17 and IL-33 were determined. Half of the animals were sacrificed on sixth or on twelfth week, and the aorta was dissected for histological studies. Our findings demonstrated that the IL-17 and IL-33 levels were significantly higher in Groups 2 and 4 than groups 1 and 3, respectively since on 6th week ( $p < 0.0022$ ). The resveratrol treatment reversed the increased levels of IL-17 induced by cholesterol diet on 12th week ( $p = 0.0022$ ). Supplementation of resveratrol diminished the formation of atherosclerotic lesions. These results support that serum IL-17 and IL-33 levels are early markers of atherosclerosis. Oral supplementation of resveratrol exerts anti-inflammatory and anti-atherosclerotic effects, decreasing serum concentrations of IL-17 and formation and evolution of atherosclerotic lesions.

**Key words:** Interleukin-17, interleukin-33, resveratrol, inflammation, atherosclerosis.

<sup>A</sup> Escuela de Bioanálisis, Laboratorio de Investigación y Postgrado de la Escuela de Bioanálisis (LIPEB), Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Carabobo, Venezuela.

<sup>B</sup> Laboratorio Clínico Julio César González.

\* Correspondencia: [figueiraleticia@gmail.com](mailto:figueiraleticia@gmail.com).

## Introducción

La aterosclerosis es una enfermedad crónica multifactorial de la pared arterial que resulta en el engrosamiento secuencial y focal de la íntima arterial, con el desarrollo de placas ateroscleróticas y la subsecuente estenosis de las arterias afectadas (Hansson y Libby, 2006). Este proceso se caracteriza por una intensa actividad inflamatoria y fibroproliferativa (González y col., 2007; Figueira y col., 2014; Wu y col., 2017).

La respuesta inmune innata y adaptativa regula la inflamación sistémica y local durante la aterogénesis (Hansson y Hermansson, 2011); pues el desarrollo y la progresión de la placa aterosclerótica está asociada con cambios inflamatorios desde su etapa temprana, tanto locales en la pared arterial, como sistémicos. En este sentido, diferentes citoquinas están involucradas en la inflamación relacionada con la aterosclerosis, pues pueden inducir la migración de células inflamatorias hacia el espacio subendotelial e incrementar la expresión de moléculas proinflamatorias, eventos claves en la aterogénesis (Tousoulis y col., 2007; Wu y col., 2017). Asimismo, se ha reconocido que los macrófagos y los linfocitos T juegan un papel relevante en el inicio y progresión de esta enfermedad (Un y col., 2015; Rahman y Fisher 2018). Recientemente, se ha descrito a los linfocitos T helper 17 (Th17), como un subgrupo distinto de células T CD4+ que secreta como citoquina principal a la interleucina-17 (IL-17) (Korn y col., 2009).

La IL-17 es una citoquina proinflamatoria producida durante la respuesta innata y adaptativa, que ha demostrado participar en la aterogénesis, regulando la inflamación tisular local mediante la

expresión coordinada de citoquinas y quimioquinas proinflamatorias (Jeon y col., 2015). Su expresión se ha visto incrementada desde las primeras fases de la aterosclerosis (Salvatore y col., 2015), y sus concentraciones séricas se han encontrado elevadas en pacientes con infarto agudo al miocardio, angina inestable (Cheng y col., 2008) y con aterosclerosis coronaria (Eid y col., 2009). Sin embargo, su papel en la aterosclerosis no está del todo esclarecido, pues se ha descrito que la IL-17 puede ser anti-inflamatoria, y su expresión se puede asociar con la estabilidad de la placa (Taleb y col., 2009).

Por su parte, la interleucina-33 (IL-33) es un miembro de la familia de la interleucina-1 (IL-1) que regula la inmunidad innata y adaptativa para promover la respuesta inflamatoria (Miller, 2011); su papel en la aterosclerosis es dual, comportándose como una molécula pro y anti-inflamatoria (Theoharides y col., 2015); en este sentido, la evidencia ha descrito que la expresión de la IL-33 y la de sus receptores están incrementados en las placas ateroscleróticas humanas (Demyanets y col., 2011); y datos clínicos revelan que sus niveles séricos están asociados con mortalidad en pacientes con infarto de miocardio con elevación del segmento ST (Demyanets y col., 2014). Sin embargo, la IL-33 ha demostrado tener propiedades cardioprotectoras *in vivo* (Miller y col., 2008). Asimismo, se ha reportado que la señalización de la IL-33 puede regular la producción de la IL-17, sugiriendo una interacción entre dichas citoquinas (Liang y col., 2018).

Por otra parte, estudios epidemiológicos han sugerido que la ingesta de antioxidantes está asociada con un reducido riesgo de enfermedades cardio-

vasculares (Retsky y col., 1999; Pashkow, 2011). Asimismo estudios experimentales indican que la suplementación de antioxidantes puede evitar y/o revertir la progresión de la aterosclerosis (Figueira y González 2008A; Figueira y González 2008B; Figueira y col., 2010). En este sentido, el resveratrol (trans-3,5,4 trihidroxiestilbeno), es un polifenol que ha demostrado ser beneficioso para prevenir el inicio y progresión de la aterosclerosis (Zghonda y col., 2011), pues inhibe la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), suprime la agregación plaquetaria, inhibe la proliferación de células de músculo liso vascular *in vitro*, modula la producción de óxido nítrico, controla los niveles de colesterol plasmáticos y posee efectos anti-inflamatorios mediante la regulación de la expresión de genes pro-inflamatorios y pro-aterogénicos (Labinsky y col., 2006; Hou y col., 2008; Park y col., 2009; Figueira, 2010; Wu y col., 2011). Sin embargo, hasta los momentos no está claro el efecto del resveratrol sobre las concentraciones séricas de la IL-17 e IL-33 durante la progresión y evolución de la aterosclerosis; aún más, se conoce todavía menos la relación de estas citoquinas con la inflamación y su evolución a lo largo del proceso aterogénico. Es por ello que en el presente estudio, se evaluó el efecto del resveratrol sobre los niveles séricos de IL-17 e IL-33 y su evolución en el tiempo en conejos alimentados con una dieta enriquecida con colesterol.

## Materiales y métodos

### ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Se emplearon 48 conejos macho de la raza Nueva Zelanda de 12 semanas de edad con un peso entre

1.200 a 1.300 gramos, provenientes del Bioterio del Instituto de Higiene Rafael Rangel (Caracas, Venezuela). Los animales fueron mantenidos en jaulas a temperatura ambiente ( $25 \pm 1$  °C) con ciclos de 12 horas luz / oscuridad. Después de una semana de ambientación en el Bioterio Experimental de la Universidad de Carabobo (Valencia, Venezuela), los conejos fueron divididos aleatoriamente en 4 grupos de 12 conejos cada uno: **Grupo 1 (control)**: Alimentados diariamente con dieta estándar (Protinal, Venezuela). **Grupo 2**: Alimentados diariamente con dieta estándar enriquecida con 0,5% p/p de colesterol. **Grupo 3 (control resveratrol)**: Alimentados diariamente con dieta estándar y suplementados con resveratrol en el alimento (2mg/Kg de peso corporal). **Grupo 4**: Alimentados diariamente con dieta estándar, enriquecida con 0,5% p/p de colesterol y resveratrol mezclado en el alimento (2mg/Kg de peso corporal).

La dosis de resveratrol se seleccionó con base en estudios *in vivo* en conejos (Matos y col., 2012; Figueira y González, 2018), en las cuales el resveratrol posee efectos biológicos a dosis de 2mg/Kg por vía oral. El resveratrol (3,5,4'-trihidroxi-trans-estilbeno) administrado a los conejos fue de origen natural.

Todos los conejos consumieron agua a libre demanda. El periodo experimental tuvo una duración de doce semanas. Los conejos fueron pesados antes, durante y después de la experimentación. Los experimentos fueron aprobados por el comité de Bioética, y los experimentos fueron realizados siguiendo las buenas prácticas para el manejo de animales de laboratorio (NIH Guide, 1996) y el Código de ética para la vida (2011).

## ANÁLISIS QUÍMICO DE LOS ALIMENTOS

*CONEJARINA COMERCIAL (PROTINAL, VENEZUELA)*

Maíz, sorgo, afrechillo de trigo, harinas de maíz, ajonjolí, algodón, girasol y soya, concha de arroz, bagacillo de caña, pasto deshidratado, melaza, grasa estabilizada, carbonato y fosfato de calcio, sal, minerales "trazas" (cobalto, cobre, hierro, manganeso, yodo y zinc) suplementos de las vitaminas A, B2, B12, C, D3, E, ácido pantoténico y niacina, antioxidante, suplemento antibiótico y anticoccidial. Proteína cruda 12%, grasa cruda 1%, fibra cruda 20%, extracto libre de nitrógeno 42%.

## DIETA HIPERCOLESTEROLÉMICA

La administración de colesterol mediante el enriquecimiento de una dieta estándar se realizó de acuerdo con el método descrito en los modelos animales de aterosclerosis inducida por la dieta (Rasmusen y col., 2007); la cual se preparó disolviendo el colesterol en etil éter y etanol absoluto, y cubriendo con esta mezcla los granos de la conejarina en una relación de 0,5 g de colesterol por cada 100 g de alimento y se dejó secar hasta la evaporación completa de los solventes por 24 horas.

## PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL. DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS

Las muestras de sangre fueron extraídas por punción intracardiaca a todos los conejos previo ayuno de 14 horas al inicio, 6ta y 12ma semana, utilizando tubos sin anticoagulante. Posteriormente, las muestras previamente mantenidas en frío, se centrifugaron a 3.000 rpm durante 15 minutos y el suero obtenido fue conservado en congelación a -70°C

hasta el momento del procesamiento. Se realizaron determinaciones séricas de colesterol total (CT) y triglicéridos (TG) por métodos enzimáticos (Linear Chemicals, España). La determinación del colesterol asociado a las lipoproteínas de alta densidad (c-HDL) y asociado a las lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) se realizaron por precipitación y posterior determinación enzimática (Linear Chemicals, España). Las concentraciones séricas de IL-17 e IL-33 fueron determinadas por ensayo inmunoenzimático (NeoBiolab, Cambridge, Massachusetts, USA).

## SACRIFICIO DE LOS ANIMALES. PREPARACIÓN DE TEJIDOS Y TIPIFICACIÓN HISTOLÓGICA DE LAS LESIONES ATROSCLERÓTICAS

A la 6ta semana fueron sacrificados por dislocación cervical la mitad de los animales de cada grupo y la otra mitad lo fueron al final del estudio; posteriormente se procedió a realizar la autopsia de dichos animales, extrayendo la arteria aorta para ser examinada. Las muestras de tejido extraídas, fueron fijadas en formaldehído al 10 % en PBS durante 24 horas y procesadas según la técnica de rutina y posteriormente teñidas con hematoxilina – eosina (Luna, 1968), para luego ser observados por microscopía de luz. Las lesiones fueron tipificadas de acuerdo a la clasificación de la American Heart Association (Stary y col., 1995).

## ANÁLISIS DE LOS DATOS

Se calculó el promedio y la desviación estándar para las variables estudiadas. Se realizó las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Jarque-Bera. Se empleó el análisis de Kruskal-Wallis con análisis post hoc mediante la prueba de U- de Mann-Whitney sobre cada par de grupos. Se empleó la correlación de Spearman para relacionar

la IL-17 y la IL-33 con las variables del estudio. Se consideró significativo  $p < 0,05$ . Se utilizó el programa GraphPad Prism versión 5.

## Resultados

### PERFIL LIPÍDICO DE LOS CONEJOS

Las concentraciones séricas del perfil lipídico de los conejos sujetos a estudio se resumen en la **tabla I**. No se observaron diferencias significativas en las concentraciones séricas basales de CT, c-HDL, c-LDL y TG entre los grupos de conejos. El CT, c-HDL, c-LDL y TG en los grupos 1 y 3 permanecieron sin cambios significativos a lo largo del estudio. Por su parte, en la 6ta y 12ma semana de experimentación se apreció un aumento significativo en la concentración de CT, c-HDL, c-LDL y TG en el grupo 2 y en el grupo 4 con respecto al grupo 1 y grupo 3, respectivamente ( $p < 0,0001$ ). Para los grupos 2 y 4 las concentraciones del perfil lipídico variaron desde el inicio hasta el final del experimento ( $p < 0,0001$ ) (**Tabla I**).

### CONCENTRACIONES SÉRICAS DE LOS MARCADORES DE INFLAMACIÓN

Como se puede apreciar en las **figuras 1 y 2**, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones séricas basales de la IL-17 e IL-33 entre los grupos de conejos sujetos a estudio. Asimismo, la IL-17 e IL-33 en los grupos 1 y 3 permanecieron sin cambios a lo largo del experimento; por su parte, los niveles de dichas citoquinas en los grupos 2 y 4 variaron a lo largo del estudio ( $p < 0,0001$ ). En la sexta semana y al final del experimento las concentraciones séricas de la IL-17 e IL-33 aumentaron en el grupo 2 con respecto al grupo 1 ( $p < 0,0022$ ), y en el grupo 4 con respecto al grupo 3 ( $p < 0,0022$ ). Sin embargo, en

Tabla I  
Perfil lipídico de los conejos sujetos a estudio

Grupos	CT (mg/dL)	c-LDL (mg/dL)	c-HDL (mg/dL)	TG (mg/dL)
Basal				
Grupo 1	70 ± 9	36 ± 8	28 ± 5	73 ± 9
Grupo 2	70 ± 9	36 ± 6	29 ± 6	70 ± 9
Grupo 3	70 ± 8	35 ± 7	27 ± 5	73 ± 6
Grupo 4	67 ± 10	35 ± 7	26 ± 5	70 ± 7
6ta semana				
Grupo 1	66 ± 10	36 ± 8	31 ± 6	71 ± 11
Grupo 2	749 ± 112*	583 ± 84*	74 ± 10*	730 ± 113*
Grupo 3	69 ± 14	38 ± 10	28 ± 5	73 ± 13
Grupo 4	711 ± 112#	582 ± 78#	74 ± 9#	736 ± 83#
12ma semana				
Grupo 1	69 ± 9	38 ± 6	30 ± 5	71 ± 9
Grupo 2	1171 ± 216*	870 ± 65*	75 ± 10*	1147 ± 162*
Grupo 3	62 ± 13	36 ± 11	25 ± 6	66 ± 11
Grupo 4	1331 ± 192#	863 ± 66#	74 ± 9#	1155 ± 213#
Valores p				
Grupo 1	0,5782	0,8924	0,5301	0,8954
Grupo 2	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Grupo 3	0,3527	0,4744	0,4055	0,4732
Grupo 4	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Los resultados fueron expresados como la media ± desviación estándar de la media. Significativo  $p < 0,05$ . \* = Comparación con respecto al grupo 1. # = Comparación con respecto al grupo 3. p = Comparación con respecto al basal. c-HDL: Colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad, c-LDL: Colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad, CT: Colesterol total, TG: Triglicéridos.

la duodécima semana se observó una disminución significativa de los niveles de IL-17 en el grupo 4 con respecto al grupo 2 ( $p = 0,0022$ ). No hubo diferencias significativas en la concentración de IL-33 en el grupo 4 con respecto al grupo 2 a lo largo del estudio.

En la **tabla II** se muestra el análisis de Spearman de las correlaciones entre la concentración de IL-17, la IL-33 y el

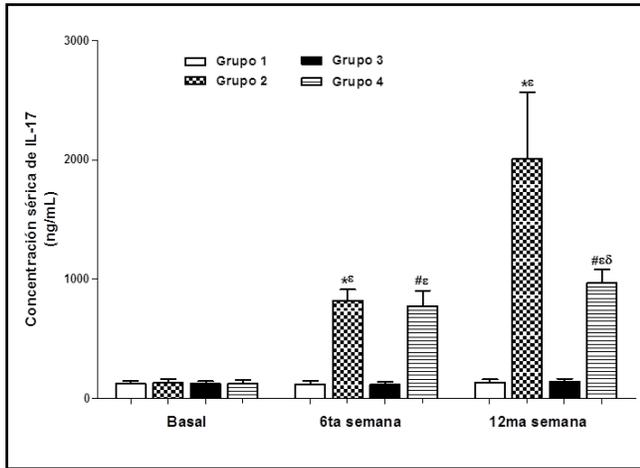


Figura 1. Efecto del resveratrol sobre las concentraciones séricas de IL-17 en los conejos sujetos a experimentación al inicio, 6ta y 12ma semana. Los resultados fueron expresados como la media  $\pm$  desviación estándar de la media (N=12 basal y 6ta semana; N=6 en la 12ma semana). \* $p < 0,0022$  vs. grupo control (Grupo 1). # $p < 0,0022$  vs. control resveratrol (Grupo 3).  $\delta p = 0,0022$  vs. Grupo 2.  $\epsilon p < 0,0001$  vs. su respectivo valor basal.

perfil lipídico, evidenciando correlación positiva significativa entre la IL-17 con la IL-33 y de estas citoquinas con el perfil lipídico ( $p < 0,0001$ ).

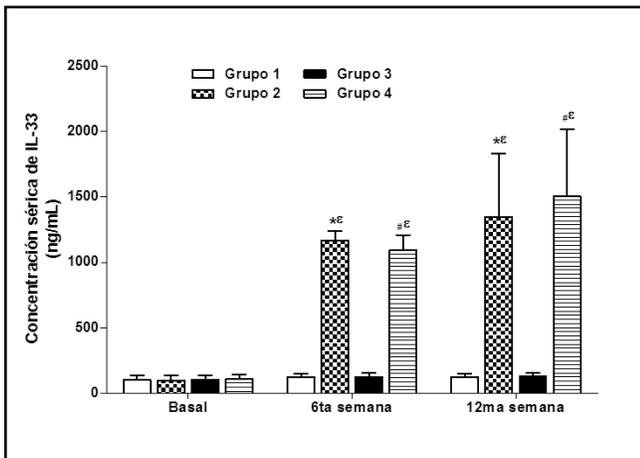


Figura 2. Efecto del resveratrol sobre las concentraciones séricas de IL-33 en los conejos sujetos a experimentación al inicio, 6ta y 12ma semana. Los resultados fueron expresados como la media  $\pm$  desviación estándar de la media (N=12 basal y 6ta semana; N=6 en la 12ma semana). \* $p < 0,0022$  vs. grupo control (Grupo 1). # $p < 0,0022$  vs. control resveratrol (Grupo 3).  $\epsilon p < 0,0001$  vs. su respectivo valor basal.

Tabla II  
Análisis de la correlación de Spearman entre las concentraciones de la Interleucina -17 (IL-17), interleucina -33 (IL-33) y el perfil lipídico

	r	p
IL-17 & CT	0,6375	0,0001
IL-17 & c-LDL	0,6742	0,0001
IL-17 & c-HDL	0,5811	0,0001
IL-17 & TG	0,6270	0,0001
IL-17 & IL-33	0,6985	0,0001
IL-33 & CT	0,6293	0,0001
IL-33 & c-LDL	0,6764	0,0001
IL-33 & c-HDL	0,6114	0,0001
IL-33 & TG	0,6674	0,0001

c-HDL: Colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad, c-LDL: Colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad, CT: Colesterol total, IL-17: Interleucina-17, IL-33: Interleucina-33, TG: Triglicéridos.

#### ANÁLISIS HISTOLÓGICO DE LA AORTA

En la **tabla III** se presenta la distribución de los conejos según el máximo grado de ateroma encontrado en los cortes de aorta, evidenciando que ningún conejo de los grupos 1 y 3 presentaron lesiones ateroscleróticas a lo largo del estudio. Por su parte, los conejos del grupo 2 presentaron lesiones de grado variable a lo largo del estudio. En el grupo 4 algunos conejos no presentaron lesiones y otros evidenciaron lesiones de grado variable (**Figura 3**).

#### Discusión

Durante los últimos años, se ha reconocido que la inflamación juega un relevante papel en el inicio y desarrollo de la aterosclerosis (Hansson, 2005; González y col., 2008; Figueira y col., 2017); de hecho, citoquinas pro-inflamatorias pueden actuar en las diferentes etapas del proceso regulando la expresión de moléculas involucradas

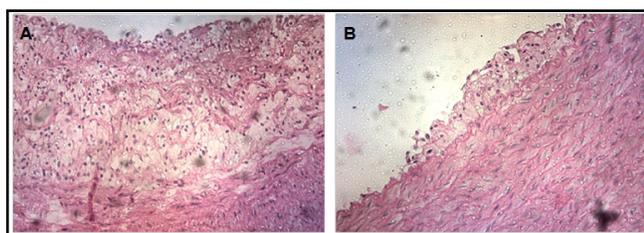


Figura 3. Cortes histológicos de las aortas de los conejos al final del estudio. Lesión tipo IV (Panel A). Se observa en la íntima arterial cúmulos de lípidos intracelulares y extracelulares en mayor extensión de un conejo perteneciente al grupo 2. Lesión tipo II (Panel B). Se observa en la íntima arterial cúmulo de lípidos intracelulares de un conejo perteneciente al grupo 4. Tinción hematoxilina - eosina. 50X.

en el reclutamiento de leucocitos, induciendo la producción local de factores de crecimiento y de citoquinas perpetuando el proceso inflamatorio (Fava y Montagnana, 2018; Rahman y Fischer, 2018). Asimismo, se ha descrito que los macrófagos y los linfocitos T helper 1

Tabla III

**Distribución de los conejos según el máximo grado de ateroma encontrado en los cortes de aorta. Datos presentados como n (%)**

Grupo	Sin ateroma	Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV	Tipo V
Sexta semana						
1	6	0	0	0	0	0
	100%	0%	0%	0%	0%	0%
2	0	2	4	0	0	0
	0%	33%	67%	0%	0%	0%
3	6	0	0	0	0	0
	100%	0%	0%	0%	0%	0%
4	3	3	0	0	0	0
	50%	50%	0%	0%	0%	0%
Duodécima semana						
1	6	0	0	0	0	0
	100%	0%	0%	0%	0%	0%
2	0	0	0	1	5	0
	0%	0%	0%	17%	83%	0%
3	6	0	0	0	0	0
	100%	0%	0%	0%	0%	0%
4	2	1	1	2	0	0
	33%	17%	17%	33%	0%	0%

(Th1) cumplen un papel clave en el inicio y progresión de la aterosclerosis; sin embargo el papel de las células Th17 y de la IL-17 en la aterosclerosis sigue siendo controvertido (Taleb y col., 2015).

La IL-17 es una citoquina de la que se han descrito 6 isoformas designadas de la A a la F, de las cuales las IL-17A y IL-17F son producidas por los Th17; otras de las fuentes de la IL-17 incluyen las células T CD8+, células T  $\gamma\delta$ , células natural killer y neutrófilos (Madhur y col., 2011). Se ha descrito que en condiciones normales/controladas, la expresión de la IL-17 es baja; incrementándose en enfermedades inflamatorias (Smith y col., 2010). El papel de la IL-17 en la aterosclerosis no está del todo descrito; sin embargo, algunos estudios han mostrado que esta citoquina acelera la progresión de la aterosclerosis (Erbel y col., 2009; Gao y col., 2010; Smith y col., 2010); de hecho, se ha reportado la presencia de IL-17 en lesiones ateroscleróticas humanas y animales (Eid y col., 2009; Erbel y col., 2009; de Boer y col., 2010; Bruggen y Ouyang, 2014), demostrando además que las células T que infiltran las arterias coronarias humanas producen IL-17, interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), induciendo una respuesta pro-inflamatoria en células de músculo liso vascular (Eid y col., 2009).

Por su parte, la IL-33 es una citoquina que ejerce acciones pleiotrópicas, pues ha demostrado tener propiedades aterogénicas y cardioprotectoras *in vivo*; de hecho, su expresión se ha visto incrementada durante la inflamación y en la placa aterosclerótica (Miller y col., 2008), contribuyendo en la amplificación de la respuesta inflamatoria (McLaren y col., 2010). La IL-33 regula la inmunidad innata y adquirida al unirse a su receptor el ST2, el cual tiene dos isoformas, la transmembrana, el ligando ST2 (ST2L) y

una forma soluble (sST2); sin embargo, se ha reportado una tercera variante, la constitutivamente activa (Fulgheri y Malinowski, 2011). Dichos receptores están relacionados con la enfermedad cardiovascular y la aterosclerosis (Rehman y col., 2008; Shah y Januzzi, 2010); pues se ha descrito un efecto protector de la IL-33 durante la aterosclerosis cuando se une a su receptor ST2L (Fulgheri y Malinowski, 2011); por su parte, el receptor sST2 sirve como un receptor señuelo para la IL-33; por lo que su presencia previene la unión de la IL-33 al ST2L, y suprime la actividad de la IL-33 inhibiendo sus acciones *in vivo* e *in vitro* (Palmer y col., 2008); de hecho, la administración de sST2 ha demostrado bloquear el efecto beneficioso de la IL-33 en modelos animales de aterosclerosis (Miller y col., 2008; Sanada y col., 2007). Por lo tanto, la IL-33 es una citoquina inmuno-moduladora que actúa como pro y anti-inflamatoria dependiendo del estado de la enfermedad y/o de las condiciones experimentales (Demyanets y col., 2014).

En el presente estudio se evidenció que la IL-17 y la IL-33 podrían constituir marcadores tempranos no invasivos de la aterosclerosis, pues la administración de una dieta enriquecida con colesterol ocasionó un incremento en las concentraciones séricas de estas citoquinas a partir de la sexta semana de estudio, lo cual estuvo acompañado de lesiones ateroscleróticas de grado intermedio y avanzado, sugiriendo el papel de estas moléculas desde las primeras fases de la aterosclerosis. En este sentido, estudios clínicos han encontrado un incremento en los niveles séricos de IL-17 en pacientes con aterosclerosis coronaria (Eid y col., 2009) y angina inestable con respecto a sujetos aparentemente sanos (Cheng y col., 2008). Asimismo, en modelos animales de aterosclerosis, se ha reportado un aumento en la expresión de

IL-17, su ARNm y de células T que secretan esta citoquina en las aortas de ratones deficientes en ApoE desde las primeras fases de la aterosclerosis (Gao y col., 2010; Jeon y col., 2015), demostrando además que la deficiencia o el bloqueo de la IL-17 ocasionó una reducción en las lesiones ateroscleróticas, en el contenido de colágeno, de leucocitos, macrófagos, células Th17, Th1 y neutrófilos en la placa (Smith y col., 2010; Butcher y col., 2016; Nordlohne y col., 2018); sugiriendo que la IL-17 interviene en la aterosclerosis desde sus fases tempranas, pues incrementa la producción de especies reactivas de oxígeno (Madhur y col., 2011) y modula la inflamación sistémica y vascular mediante la estimulación en la producción del IFN- $\gamma$ , interleucina -6 (IL-6), factor de necrosis tumoral -  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), factor estimulante de colonia de granulocitos y de quimioquinas como CXCL8, CCL2, CXCL1 y CXCL2 (Kolls y Linden, 2004; Smith y col., 2010).

En cuanto a la IL-33, la evidencia clínica ha demostrado un aumento de las concentraciones plasmáticas de esta citoquina en pacientes con enfermedades cardiovasculares (Demyanets y col., 2014; Shen y col., 2015; Wang y col., 2015), y su elevación predice la progresión de la placa ateromatosa (Shen y col., 2015), sugiriendo su participación en la fisiopatología de la aterosclerosis; pues es capaz de inducir la activación de las células endoteliales hacia un fenotipo inflamatorio mediante la regulación positiva de la IL-6, interleucina -8 (IL-8), proteína quimiotrayente de monocitos tipo 1 (MCP-1), molécula de adhesión celular vascular tipo 1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y selectina E (Demyanets y col., 2011; Aoki y col., 2010); además promueve la angiogénesis y modula la capacidad proteolítica de las células endoteliales induciendo el activador de plasminógeno

tipo uroquinasa y el inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1 (Choi y col., 2009; Stojkovic y col., 2014).

Sin embargo, se ha reportado que la IL-33 posee efectos anti-aterogénicos (Miller y col., 2008); de hecho su administración en ratones deficientes en ApoE fue capaz de ocasionar disminución del tamaño de lesiones ateroscleróticas, inducción de la inmunidad mediada por los linfocitos Th2 (IL-4/-5/-13) y reducción de la respuesta Th1 (IFN- $\gamma$ ); siendo dichos efectos bloqueados con el tratamiento con sST2 (Miller y col., 2008). A pesar de ello, en el presente estudio se encontró un aumento en las concentraciones de la IL-33 que se acompañó de lesiones ateroscleróticas, lo cual podría sugerir que el efecto pro-inflamatorio y aterogénico de la IL-33 pudo estar acompañado de un aumento de los niveles de sST2; pues este receptor está asociado con una regulación negativa de la señalización de la IL-33 (López-Casado y col., 2017); y sus concentraciones constituyen un factor pronóstico adverso en pacientes cardiovasculares (Weinberg y col., 2003; Shimpo y col., 2004).

Asimismo, es relevante apreciar que el incremento en las concentraciones de IL-17 e IL-33 observado, sugiere la existencia de un estado inflamatorio inducido por la dieta enriquecida con colesterol, la cual ocasionó lesiones ateroscleróticas de grado intermedio y avanzado. De hecho, se ha descrito que la respuesta inflamatoria precede cualquier cambio morfológico visible en las lesiones (Jeon y col., 2015). En este sentido, Un y col., en el 2015 encontraron que la expresión de la IL-17 se encuentra incrementada desde los estadios tempranos de la aterosclerosis, evidenciando además un aumento en la producción de mediadores pro-inflamatorios inclusive antes de la aparición de los cambios

morfológicos; por lo tanto, el incremento de las concentraciones séricas de IL-17 e IL-33 obtenido, puede estar regulando importantes acontecimientos tempranos de la aterosclerosis; pues podrían mediar cambios pro-inflamatorios, quimioatracción, rodamiento, adhesión y activación de leucocitos, tal y como ha sido reportado previamente (Erbel y col., 2014; Umebashi y col., 2018).

De igual manera, nuestros hallazgos muestran una asociación positiva entre la IL-17 y la IL-33 y de las citoquinas con el perfil lipídico, tal y como ha sido reportado previamente (Reddy y col., 2013; Hasan y col., 2014; Tarantino y col., 2014; Liang y col., 2018), lo cual sugiere que el incremento de la concentración de los lípidos séricos puede contribuir a la instauración del proceso inflamatorio sistémico, que se ve acompañado del aumento de la IL-17 e IL-33, favoreciendo el proceso aterosclerótico. Asimismo, estos datos podrían sugerir que las concentraciones séricas de estas citoquinas podrían constituir un marcador de riesgo y de aterosclerosis, pues el aumento de los lípidos séricos viene acompañado de un aumento del estado inflamatorio. De igual manera, nuestros hallazgos podrían indicar la existencia de un disparador común parcialmente compartido para la producción de estas citoquinas, y/o que estas moléculas podrían actuar sinérgicamente induciendo y potenciando la respuesta pro-inflamatoria, pues se ha descrito que la IL-33 es un factor crítico del desarrollo funcional de las respuestas de las células Th2 y Th17 (Liang y col., 2018).

Por otra parte, los polifenoles son compuestos naturales que han demostrado tener efectos beneficiosos sobre el sistema cardiovascular (Cheng y col., 2017); en este sentido, el resveratrol es un polifenol con propiedades beneficiosas para prevenir el inicio y progresión de la

aterosclerosis (Zghonday col., 2011). Entre sus efectos cardioprotectores se incluyen sus propiedades antiaterogénicas, el mejoramiento en el perfil lipídico y la reducción de secuelas del infarto al miocardio (Rahman, 2008; Matos y col., 2012; Chekalina, 2017; Fodor y col., 2018). Los mecanismos por los cuales el resveratrol protege el sistema cardiovascular se basan principalmente en sus efectos antioxidantes, anti-inflamatorios y la inhibición de la agregación plaquetaria (Labinsky y col., 2006; Hou y col., 2008; Park y col., 2009; Wu y col., 2011); de hecho, el resveratrol puede conferir vasculoprotección mediante la regulación de la expresión de genes pro-inflamatorios y pro-aterogénicos en las células endoteliales (Labinsky y col., 2006).

En el presente estudio, se observó que la suplementación con resveratrol fue capaz de disminuir el aumento de las concentraciones séricas de IL-17 inducido por la dieta enriquecida con colesterol en la duodécima semana de experimentación y disminuyó la formación y progresión de las lesiones ateroscleróticas; lo cual sugiere que el resveratrol tiene efectos anti-inflamatorios; tal y como ha sido reportado en estudios *in vitro* (Venkatachalam y col., 2008; Lanzilli y col., 2012) e *in vivo* en otras patologías (Bakheet y col., 2017); de hecho Lanzilli y col. (2012) encontraron que el resveratrol disminuyó la producción de IL-17 en células mononucleares sanguíneas; así mismo, Venkatachalam y col. (2008), demostraron que el resveratrol inhibió la expresión de la IL-17 mediado por la fosfoinositol 3 quinasa, Akt y ERK1/2 en fibroblastos cardiacos, sugiriendo el potencial terapéutico de esta molécula en las enfermedades cardiovasculares e inflamatorias. Es relevante señalar que el efecto del resveratrol sobre los niveles

de IL-17 se observó en los conejos a los que se le indujo la aterosclerosis con una dieta hipercolesterolémica, lo cual indica la necesidad de un ambiente "estimulado" o inflamado, tal y como se ha apreciado *in vitro* (Buttari y col., 2014).

Por otra parte, la acción anti-inflamatoria tardía que ejerció el resveratrol en la presente investigación podría sugerir que a la dosis administrada y bajo nuestras condiciones experimentales, dicho efecto pudo ser ejercido posiblemente a través de la transcripción génica, inhibiendo y/o induciendo la expresión de factores de transcripción pro-inflamatorios y/o anti-inflamatorios respectivamente, el cual es un proceso que amerita más tiempo. En este sentido, el resveratrol ha demostrado disminuir la expresión de moléculas de adhesión celular *in vitro* como la VCAM-1 e ICAM-1 y atenuar la adhesividad de los monocitos al endotelio (Ferrero y col., 1998; Carluccio y col., 2003); mucho de estos efectos anti-inflamatorios son el resultado de la inhibición del factor nuclear - $\kappa$ B y la proteína activadora -1 (Labinsky y col., 2006).

Además, en el presente estudio se demostró, por primera vez, que la suplementación con resveratrol a las dosis empleadas, no modificó los niveles séricos de IL-33. Contrariamente, Sozmen y col. (2016) demostraron que el tratamiento con resveratrol (30 mg/Kg/día, durante 7 días) en ratones con dermatitis atópica inducida por 2,4-dinitrofluorobenceno, fue capaz de disminuir la expresión de la IL-33 en las lesiones cutáneas, sugiriendo que la IL-33 es un blanco farmacológico de resveratrol. Por lo tanto, la dosis empleada y al tiempo del tratamiento podrían ser los responsables de la ausencia de respuesta del resveratrol sobre la IL-33.

La evidencia indica que el resveratrol mejora el perfil lipídico (Tanko y col., 2016); sin embargo, bajo nuestras condiciones experimentales no se evidenció dichas propiedades, tal y como lo han reportado otros estudios (Matos y col., 2012; Imamura y col., 2017; Figueira y González, 2018). La ausencia del efecto hipolipemiante podría obedecer a la acumulación de lípidos exógenos provenientes de su dieta, ya que los mismos no pueden incrementar la excreción de esteroides (González y col., 2008). Nuestros hallazgos muestran que la suplementación del resveratrol fue capaz de reducir la formación y progresión de la aterosclerosis, inducida por la dieta enriquecida con colesterol desde la sexta semana de estudio. Al respecto, Matos y col. (2012) demostraron que la suplementación de resveratrol (2 mg/Kg, durante 56 días) a conejos alimentados con una dieta hiperlipidémica, disminuyó la formación de ateromas, asociado a una reducción en la expresión de moléculas de adhesión celular y citoquinas pro-inflamatorias. Asimismo, Vasamsetti y col. (2016) encontraron que la administración crónica de resveratrol previno la infiltración de monocitos y disminuyó la formación de placas ateromatosas en ratones deficientes en ApoE, posiblemente mediante la inhibición de la diferenciación de monocitos y de la producción de citoquinas proinflamatorias. De igual manera, Figueira y González (2018) demostraron que el resveratrol fue capaz de ejercer efectos anti-inflamatorios y antiaterogénicos, al disminuir las concentraciones séricas del factor de crecimiento endotelial vascular, de la proteína C reactiva y el tamaño y grado de la placa ateromatosa. Por lo tanto, el efecto antiaterogénico del resveratrol observado en el presente estudio se podría asociar a sus propiedades anti-inflamatorias y sugiere su potencial terapéutico y preventivo en enfermedades cardiovasculares.

En conclusión, la IL-17 y la IL-33 séricas podrían constituir marcadores tempranos no invasivos de la aterosclerosis, pues la administración de una dieta enriquecida con colesterol ocasionó un incremento en las concentraciones séricas de estas citoquinas a partir de la sexta semana de estudio, reafirmando su papel en la fisiopatología de la aterosclerosis; por lo que los mismos podrían proporcionar información diagnóstica de la aterosclerosis. La suplementación oral de resveratrol ejerció efectos anti-inflamatorios y anti-aterogénicos, pues disminuyó las concentraciones séricas de IL-17, la formación y evolución de las lesiones ateroescleróticas; por lo tanto la administración de este polifenol podría ser beneficioso para prevenir la aterosclerosis.

### Referencias bibliográficas

- Aoki S, Hayakawa M, Ozaki H, Takezako N, Obata H, Ibaraki N, Tsuru T, Tominaga S, Yanagisawa K. 2010. ST2 gene expression is proliferation-dependent and its ligand, IL-33, induces inflammatory reaction in endothelial cells. *Mol Cell Biochem* 335: 75–81.
- Bakheet SA, Alzahrani MZ, Ansari MA, Nadeem A, Zoheir KMA, Attia SM, Al-Ayadhi LY, Ahmad SF. 2017. Resveratrol ameliorates dysregulation of Th1, Th2, Th17, and T regulatory cell-related transcription factor signaling in a BTBR T + tf/J mouse model of autism. *Mol Neurobiol* 54(7): 5201–5212.
- Bruggen N, Ouyang W. 2014. Th17 cells at the crossroads of autoimmunity, inflammation, and atherosclerosis. *Immunity* 40: 10–12.
- Buttari B, Profumo E, Segoni L, D'Arcangelo D, Rossi S, Facchiano F, Saso L, Businaro R, Iuliano L, Riganò R. 2014. Resveratrol counteracts inflammation in human M1 and M2 macrophages upon challenge with 7-oxo-cholesterol: potential therapeutic implications in atherosclerosis. *Oxid Med Cell Longev* 257543. Doi: 10.1155/2014/257543.

- Butcher M, Waseem T, Galkina E. 2016. Smooth muscle cell-derived IL-17C plays an atherogenic role via the recruitment of pro-inflammatory IL-17A+ T cells to the aorta. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 36(8): 1496–1506.
- Carluccio MA, Siculella L, Ancora MA, Massaro M, Scoditti E, Storelli C, Visioli F, Distante A, De Caterina R. 2003. Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: antiatherogenic properties of Mediterranean diet phytochemicals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23: 622–629.
- Chekalina NI. 2017. Resveratrol has a positive effect on parameters of central hemodynamics and myocardial ischemia in patients with stable coronary heart disease. *Wiad Lek* 70(2): 286–291.
- Cheng X, Yu X, Ding YJ, Fu QQ, Xie JJ, Tang TT, Yao R, Chen Y, Liao YH. 2008. The Th17/Treg imbalance in patients with acute coronary syndrome. *Clin Immunol* 127: 89–97.
- Cheng YC, Sheen JM, Hu WL, Hung YC. 2017. Polyphenols and Oxidative Stress in Atherosclerosis-Related Ischemic Heart Disease and Stroke. *Oxid Med Cell Longev*. 2017:8526438. Doi: 10.1155/2017/8526438.
- Choi YS, Choi HJ, Min JK, Pyun BJ, Maeng YS, Park H, Kim J, Kim YM, Kwon YG. 2009. Interleukin-33 induces angiogenesis and vascular permeability through ST2/TRAF6-mediated endothelial nitric oxide production. *Blood* 114: 3117–3126.
- Código de ética para la vida. 2011. Ministerio del Poder Popular para la Ciencia, Tecnología e Industrias Intermedias. República Bolivariana de Venezuela.
- de Boer OJ, van der Meer JJ, Teeling P, van der Loos CM, Idu MM, van Maldegem F, Aten J, van der Wal AC. 2010. Differential expression of interleukin-17 family cytokines in intact and complicated human atherosclerotic plaques. *J Pathol* 220: 499–508.
- Demyanets S, Konya V, Kastl SP, Kaun C, Rauscher S, Niessner A, Pentz R, Pfaffenberger S, Rychli K, Lemberger CE, de Martin R, Heinemann A, Huk I, Gröger M, Maurer G, Huber K, Wojta J. 2011. Interleukin-33 induces expression of adhesion molecules and inflammatory activation in human endothelial cells and in human atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 31: 2080–2089.
- Demyanets S, Speidl WS, Tentzeris I, Jarai R, Katsaros KM, Farhan S, Krychtiuk KA, Wannerth A, Weiss TW, Huber K, Wojta J. 2014. Soluble ST2 and interleukin-33 levels in coronary artery disease: relation to disease activity and adverse outcome. *PLoS One* 9(4): e95055. Doi: 10.1371/journal.pone.0095055.
- Eid RE, Rao DA, Zhou J, Lo SF, Ranjbaran H, Gallo A, Sokol SI, Pfau S, Pober JS, Tellides G. 2009. Interleukin-17 and interferon-gamma are produced concomitantly by human coronary artery infiltrating T cells and act synergistically on vascular smooth muscle cells. *Circulation* 119: 1424–1432.
- Erbel C, Akhavanpoor M, Okuyucu D, Wangler S, Dietz A, Zhao L, Stellos K, Little KM, Lasitschka F, Doesch A, Hakimi M, Dengler TJ, Giese T, Blessing E, Katus HA, Gleissner CA. 2014. IL-17A influences essential functions of the monocyte/macrophage lineage and is involved in advanced murine and human atherosclerosis. *J Immunol* 193(9): 4344–4355.
- Erbel C, Chen L, Bea F, Wangler S, Celik S, Lasitschka F, Wang Y, Bökler D, Katus HA, Dengler TJ. 2009. Inhibition of IL-17A attenuates atherosclerotic lesion development in apoE deficient mice. *J Immunol* 183: 8167–8175.
- Fava C, Montagnana M. 2018. Atherosclerosis is an inflammatory disease which lacks a common anti-inflammatory therapy: how human genetics can help to this issue. A narrative review. *Front Pharmacol* 9: 55. Doi: 10.3389/fphar.2018.00055.
- Ferrero ME, Bertelli AE, Fulgenzi A, Pellegatta F, Corsi MM, Bonfrate M, Ferrara F, De Caterina R, Giovannini L, Bertelli A. 1998. Activity *in vitro* of resveratrol on granulocyte and monocyte adhesion to endothelium. *Am J Clin Nutr* 68: 1208–1214.
- Figueira L. 2010. El resveratrol. Papel en enfermedades cardiovasculares y cáncer. *INFORMED* 12 (2): 73–84.

- Figueira L, González J. 2008A. Efecto del extracto de *Pinus maritima*, Vitamina C y E, sobre la concentración sérica de LDLox, PCR, Selectina-E, IL-6 y formación de ateromas en conejos con dieta hiperlipidémica. *INFORMED* 10 (10): 593–607.
- Figueira L, González J. 2008B. Efecto de la Vitamina C, sobre la actividad de la GPx y la formación de ateromas, en conejos expuestos a dieta hiperlipidémica. *Act Cient Soc Venez Bioanal Espec* 11 (1): 30–36.
- Figueira L, González J. 2018. Efecto del resveratrol sobre las concentraciones séricas del factor de crecimiento endotelial vascular durante la aterosclerosis. *Clin Investig Arterioscler* 30 (5): 209–216.
- Figueira L, González J, Arias M, Reigosa A. 2010. Efectos del Pycnogenol y Vitamina E, sobre la actividad de la Glutatión Peroxidasa y la formación de ateromas, en conejos expuestos a dieta hiperlipidémica. *Salus* 14 (3): 33–42.
- Figueira L, González J, Di Basilico L. 2017. La fosfolipasa A2 asociada a lipoproteína como marcador sérico de aterosclerosis. *Rev Fac Farm UCV* 80 (1 y 2): 45–59.
- Figueira L, González J, Mercado M, Hernández J, Reigosa A. 2014. La Dimetilarginina Asimétrica (ADMA) sérica como marcador de aterosclerosis en conejos expuestos a dieta hiperlipidémica. *INFORMED* 16(2): 39–44.
- Fodor K, Tit DM, Pasca B, Bustea C, Uivarosan D, Endres L, Iovan C, Abdel-Daim MM, Bungau S. 2018. Long-term resveratrol supplementation as a secondary prophylaxis for stroke. *Oxid Med Cell Longev* 2018:4147320. Doi: 10.1155/2018/4147320.
- Fulgheri G, Malinowski B. 2011. The role of IL-33 in the inflammation process of asthma and atherosclerosis. *EJIFCC* 22(3): 79–91.
- Gao Q, Jiang Y, Ma T, Zhu F, Gao F, Zhang P, Guo C, Wang Q, Wang X, Ma C, Zhang Y, Chen W, Zhang L. 2010. A Critical Function of Th17 Proinflammatory Cells in the Development of Atherosclerotic Plaque in Mice. *J Immunol* 185: 5820–5827.
- González J, Figueira L, González D, Álvarez Á, Aguilera C, Reigosa A. 2007. Niveles plasmáticos de Mieloperoxidasa y Proteína C Reactiva en conejos machos Nueva Zelanda expuestos a una dieta hiperlipidémica. *Act Cient Soc Venez Bioanal Espec* 10(2):86–90.
- González J, Figueira L, Reigosa A. 2008. Selectina-E, VCAM-1, FNT- $\alpha$ , IL-6, PCR y fibrinógeno plasmático como marcadores de inflamación en la aterosclerosis, en conejos machos Nueva Zelanda, expuestos a una dieta hiperlipidémica. *Salus* 12 (2): 50–57.
- Hansson G. 2005. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. N Engl J Med* 352 (16): 1685–1695.
- Hansson G, Hermansson A. 2011. The immune system in atherosclerosis. *Nat Immunol* 12: 204–212.
- Hansson G, Libby P. 2006. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nature* 6: 508–519.
- Hasan A, Al-Ghimlas F, Warsame S, Al-Hubail A, Ahmad R, Bennakhi A, Al-Arouj M, Behbehani K, Dehbi M, Dermime S. 2014. IL-33 is negatively associated with the BMI and confers a protective lipid/metabolic profile in non-diabetic but not diabetic subjects. *BMC Immunol* 15: 19.
- Hou X, Xu S, Maitland-Toolan KA, Sato K, Jiang B, Ido Y, Lan F, Walsh K, Wierzbicki M, Verbeuren TJ, Cohen RA, Zang M. 2008. SIRT1 regulates hepatocyte lipid metabolism through activating AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem* 283: 20015–20026.
- Imamura H, Yamaguchi T, Nagayama D, Saiki A, Shirai K, Tatsuno I. 2017. Resveratrol ameliorates arterial stiffness assessed by cardio-ankle vascular index in patients with type 2 diabetes mellitus. *Int Heart J* 13: Doi: 10.1536/ihj.16–373.
- Jeon U, Choi Y, Kim Y, Ryu S, Kim Y. 2015. The enhanced expression of IL-17-secreting T cells during the early progression of atherosclerosis in ApoE-deficient mice fed on a western-type diet. *Exp Mol Med* 47: e163. Doi: 10.1038/emm.2015.19.

- Kolls JK, Linden A. 2004. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity* 21:467–476.
- Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. 2009. IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol* 27: 485–517.
- Labinskyy N, Csiszar A, Veress G, Stef G, Pacher P, Oroszi G, Wu J, Ungvari Z. 2006. Vascular dysfunction in aging: Potential effects of resveratrol, an anti-inflammatory phytoestrogen. *Curr Med Chem* 13 (9): 989–996.
- Lanzilli G, Cottarelli A, Nicotera G, Guida S, Ravagnan G, Fuggetta M. 2012. Anti-inflammatory effect of resveratrol and polydatin by *in vitro* IL-17 modulation. *Inflammation* 35(1): 240–248.
- Liang M, Liwen Z, Yun Z, Yanbo D, Jianping C. 2018. Serum levels of IL-33 and correlation with IL-4, IL-17A, and hypergammaglobulinemia in patients with autoimmune hepatitis. *Mediators of inflammation* 1. doi.org/10.1155/2018/7964654.
- López-Casado M, Lorite P, Palomeque T, Torres MI. 2017. Potential role of the IL-33/ST2 axis in celiac disease. *Cell Mol Immunol* 14: 285–292.
- Luna L. 1968. The histological staining manual. Methods of the armed forces institute of pathology. Editions McGraw-Hill. New York. USA 1-4: 11–37.
- Madhur M, Funt S, Li L, Vinh A, Chen W, Lob H, Iwakura Y, Blinder Y, Rahman A, Quyyumi A, Harrison D. 2011. Role of interleukin 17 in inflammation, atherosclerosis and vascular function in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 31(7): 1565–1572.
- Matos RS, Baroncini LA, Précoma LB, Winter G, Lambach PH, Caron EY, Kaiber F, Précoma DB. 2012. Resveratrol causes antiatherogenic effects in an animal model of atherosclerosis. *Arq Bras Cardiol* 98(2): 136–142.
- McLaren JE, Michael DR, Salter RC, Ashlin TG, Calder CJ, Miller AM, Liew FY, Ramji DP. 2010. IL-33 reduces macrophage foam cell formation. *J Immunol* 185 (2): 1222–1229.
- Miller A. 2011. Role of IL-33 in inflammation and disease. *J Inflamm (Lond)* 8: 22.
- Miller A, Xu D, Asquith D, Denby L, Li Y, Sattar N, Baker A, McInnes I, Liew F. 2008. IL-33 reduces the development of atherosclerosis. *J Exp Med* 205(2): 339–346.
- NIH Guide for the care and use of animals. 1996. Institute of Laboratory Animal Resources. National Research Council. National Academy Press, Washington DC, USA.
- Nordlohne J, Helmke A, Ge S, Rong S, Chen R, Waisman A, Haller H, von Vietinghoff S. 2018. Aggravated atherosclerosis and vascular inflammation with reduced kidney function depend on interleukin-17 receptor A and are normalized by inhibition of interleukin-17a. *J Am Coll Cardiol Basic Trans Science* 3: 54–66.
- Palmer G, Lipsky BP, Smithgall MD, Meininger D, Siu S, Talabot-Ayer D, Gabay C, Smith DE. 2008. The IL-1 receptor accessory protein (AcP) is required for IL-33 signaling and soluble AcP enhances the ability of soluble ST2 to inhibit IL-33. *Cytokine* 2008; 42(3): 358–364.
- Park D, Baek K, Kim J, Lee J, Ryu S, Chin B, Baek S. 2009. Resveratrol inhibits foam cell formation via NADPH oxidase 1 – mediated reactive oxygen species and monocyte chemoattractant protein-1. *Exp Mol Med* 41(3): 171–179.
- Pashkow F. 2011. Oxidative stress and inflammation in heart disease: do antioxidants have a role in treatment and/or prevention? *Int J Inflamm* 5: 1–10.
- Rahman I. 2008. Dietary polyphenols mediated regulation of oxidative stress and chromatin remodeling in inflammation. *Nutr Rev* 66(1): S42–S45.
- Rahman K, Fisher EA. 2018. Insights from pre-clinical and clinical studies on the role of innate inflammation in atherosclerosis regression. *Front Cardiovasc Med* 5: 32. Doi: 10.3389/fcvm.2018.00032.
- Rasmusen C, Moinard C, Martin C, Tricottet V, Cynober L, Couderc R. 2007. Larginine plus atorvastatin for prevention of atheroma formation in genetically hypercholesterolaemic rabbits. *Br J Nutr* 97: 1083–1089.

- Reddy N R, Madhu Babu D S, Chavan V, Sarath N, Reddy C V, Kumar A. 2013. Interleukin-17 in sera from patients with acute myocardial infarction and chronic periodontitis. *J Orofac Sci* 5: 21–26.
- Rehman SU, Mueller T, Januzzi JL. 2008. Characteristics of the novel interleukin family biomarker ST2 in patients with acute heart failure. *J Am Coll Cardiol* 52(18): 1458–1465.
- Retsky KL, Chen K, Zeind J, Frei B. 1999. Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxo-histidine formation. *Free Radic Biol Med* 26: 90–98.
- Salvatore G, Bernoud-Hubac N, Bissay N, Debard C, Daira P, Meugnier E, Proamer F, Hanau D, Vidal H, Aricò M, Delprat C, Mahtouk K. 2015. Human monocyte-derived dendritic cells turn into foamy dendritic cells with IL-17A. *J Lipid Res* 56: 1110–1122.
- Sanada S, Hakuno D, Higgins LJ, Schreiter ER, McKenzie AN, Lee RT. 2007. IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system. *J Clin Invest* 117(6): 1538–1549.
- Shah RV, Januzzi JL. 2010. ST2: a novel remodeling biomarker in acute and chronic heart failure. *Curr Heart Fail Rep* 7 (1): 9–14.
- Shen J, Shang Q, Wong CK, Li EK, Wang S, Li RJ, Lee KL, Leung YY, Ying KY, Yim CW, Kun EW, Leung MH, Li M, Li TK, Zhu TY, Yu SL, Kuan WP, Yu CM, Tam LS. 2015. IL-33 and soluble ST2 levels as novel predictors for remission and progression of carotid plaque in early rheumatoid arthritis: A prospective study. *Semin Arthritis Rheum* 45(1): 18–27.
- Shimpo M, Morrow DA, Weinberg EO, Sabatine MS, Murphy SA, Antman EM, Lee RT. 2004. Serum levels of the interleukin-1 receptor family member ST2 predict mortality and clinical outcome in acute myocardial infarction. *Circulation* 109: 2186–2190.
- Smith E, Prasad K, Butcher M, Dobrian A, Kolls J, Ley K, Galkina E. 2010. Blockade of interleukin-17a results in reduced atherosclerosis in apolipoprotein e-deficient mice. *Circulation* 121: 1746–1755.
- Sozmen S, Karaman M, Micili S, Sik S, Ayyildiz Z, Bagriyanik A. 2016. Resveratrol ameliorates 2,4-dinitrofluorobenzene-induced atopic dermatitis-like lesions through effects on the epithelium. *Peer J* 4: e1889.
- Stary H, Chandler A, Dinsmore R, Fuster V, Glagov S, Insull W, Rosenfield M, Schwartz C, Wagner W, Wesler R. 1995. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the committee on vascular lesions of the council on atherosclerosis. *Circulation* 15: 1512–1531.
- Stojkovic S, Kaun C, Heinz M, Krychtiuk KA, Rauscher S, Lemberger CE, de Martin R, Gröger M, Petzelbauer P, Huk I, Huber K, Wojta J, Demyanets S. 2014. Interleukin-33 induces urokinase in human endothelial cells-possible impact on angiogenesis. *J Thromb Haemost* 12: 948–957.
- Taleb S, Romain M, Ramkhalawon B, Uyttenhove C, Pasterkamp G, Herbin O, Esposito B, Perez N, Yasukawa H, Van Snick J, Yoshimura A, Tedgui A, Mallat Z. 2009. Loss of SOCS3 expression in T cells reveals a regulatory role for interleukin-17 in atherosclerosis. *J Exp Med* 206(10): 2067–2077.
- Taleb S, Tedgui A, Mallat Z. 2015. IL-17 and Th17 cells in atherosclerosis: subtle and contextual roles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 35: 258–264.
- Tanko Y, Jimoh A, Ahmed A, Mohammed A, Ayo JO. 2016. Resveratrol protects rabbits against cholesterol diet-induced hyperlipidaemia. *Niger J Physiol Sci* 31(1): 71–75.
- Tarantino G, Costantini S, Finelli C, Capone F, Guerriero E, La Sala N, Gioia S, Castello G. 2014. Is serum Interleukin-17 associated with early atherosclerosis in obese patients? *J Transl Med* 12:214. Doi: 10.1186/s12967-014-0214-1.
- Theoharides T, Petra A, Taracanova A, Panagiotidou S, Conti P. 2015. Targeting IL-33 in autoimmunity and inflammation. *J Pharmacol Exp Ther* 354: 24–31.
- Tousoulis D, Antoniades C, Stefanadis C. 2007. Assessing inflammatory status in cardiovascular disease. *Heart* 93: 1001–1007.

- Umebashi K, Tokito A, Yamamoto M, Jougasaki M. 2018. Interleukin-33 induces interleukin-8 expression via JNK/c-Jun/AP-1 pathway in human umbilical vein endothelial cells. *PLoS One*. 13(1): e0191659. Doi: 10.1371/journal.pone.0191659.
- Un J, Jun-Pyo C, You-Sun K, Sung-Ho R, Yoon-Keun K. 2015. The enhanced expression of IL-17-secreting T cells during the early progression of atherosclerosis in ApoE-deficient mice fed on a western-type diet. *Exp Mol Med* 47: e163. Doi:10.1038/emm.2015.19 & 2015 KSBMB.
- Vasamsetti SB, Karnewar S, Gopaju R, Gollavilli PN, Narra SR, Kumar JM, Kotamraju S. 2016. Resveratrol attenuates monocyte-to-macrophage differentiation and associated inflammation via modulation of intracellular GSH homeostasis: Relevance in atherosclerosis. *Free Radic Biol Med* 96: 392–405.
- Venkatachalam K, Mummidi S, Cortez DM, Prabhu SD, Valente AJ, Chandrasekar B. 2008. Resveratrol inhibits high glucose-induced PI3K/Akt/ERK-dependent interleukin-17 expression in primary mouse cardiac fibroblasts. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294(5): 2078–2087.
- Wang YG, Xiong X, Chen ZY, Liu KL, Yang JH, Wen Q, Wu FQ, Hu XF, Peng YD, Wu JJ, Lian YT, Zhang WC, Cheng LX. 2015. Expansion of myeloid-derived suppressor cells in patients with acute coronary syndrome. *Cell Physiol Biochem* 35(1): 292–304.
- Weinberg EO, Shimpo M, Hurwitz S, Tominaga S, Rouleau JL, Lee RT. 2003. Identification of serum soluble ST2 receptor as a novel heart failure biomarker. *Circulation* 107: 721–726.
- Wu J, Hsieh I, Wang Z. 2011. Cardioprotection by Resveratrol: a review of effects/targets in cultured cells and animal tissues. *Am J Cardiovasc Dis* 1 (1): 38–47.
- Wu MY, Li CJ, Hou MF, Chu PY. 2017. New Insights into the Role of Inflammation in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Int J Mol Sci* 22: 18(10). Doi:10.3390/ijms18102034.
- Zghonda N, Yoshida S, Araki M, Kusunoki M, Mliki A, Ghorbel A, Miyazaki H. 2011. Greater effectiveness of e-viniferin in red wine than its monomer Resveratrol for inhibiting vascular smooth muscle cell proliferation and migration. *Biosci Biotechnol Biochem* 75 (7): 1259–1267.