

# Grelina en una población hipercolesterolémica venezolana

## Ghrelin in a venezuelan hypercholesterolemic population

LETICIA FIGUEIRA<sup>A,D</sup>, YAIRA MATHISON<sup>B</sup>, MARIELLA PASTORELLO<sup>A</sup>,  
MARÍA GABRIELA MATOS<sup>A</sup>, ELSA CAMACHO<sup>A</sup>, EDUARDO ROMERO<sup>B</sup>, JESÚS  
HERNÁNDEZ<sup>C</sup>, MARÍA DEL ROSARIO GARRIDO<sup>A</sup>, ELODIE BILLET<sup>A</sup>,  
YUBIZALIZ LÓPEZ<sup>B</sup>, ANITA ISRAEL<sup>A,\*</sup>

### Resumen

La inflamación y la hipercolesterolemia son considerados como factores de riesgo involucrados en la patogénesis de las enfermedades cardiovasculares. La grelina y sus receptores se encuentran presentes en el miocardio y la vasculatura, donde ejercen funciones cardioprotectoras y anti-inflamatorias. Sin embargo, el mecanismo que involucra a la grelina en condiciones de inflamación de bajo grado es complejo y aún no bien comprendido. Por ello, en el presente trabajo se cuantificaron los niveles plasmáticos de la grelina, de mediadores inflamatorios y de la proteína C reactiva (PCR) en un grupo de adultos venezolanos hipercolesterolémicos con sobrepeso. Se examinaron 207 individuos voluntarios. Los mismos fueron subdivididos en dos grupos de acuerdo a sus cifras de colesterol total: Grupo 1, control (colesterol < 200 mg/dL, N=164) y Grupo 2, hipercolesterolémicos (colesterol > 200 mg/dL, N=43). Se realizó la evaluación clínica de los pacientes, y se determinó los niveles plasmáticos de glucosa y perfil lipídico por métodos enzimáticos, previo ayuno nocturno. Igualmente, se evaluaron los niveles de PCR por método inmunturbidimétrico, las citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento mediante el análisis multiplex de microesferas (Bio-Plex). Nuestros hallazgos muestran que los pacientes hipercolesterolémicos presentaron niveles significativamente mayores de grelina y PCR. El colesterol se correlacionó positivamente y significativamente con IL-2, IL-8, IFN- $\gamma$ , eotaxina, grelina, VEGF, MCP-1, TNF- $\alpha$ , FGFb, G-CSF y PCR; mientras que la grelina se correlacionó significativamente de manera inversa con IL-8, IL-4, IL-6, IL-17 y RANTES. Estos datos indican que de la población venezolana evaluada, en los pacientes hipercolesterolémicos subyacen alteraciones en la grelina, citocinas inflamatorias, moléculas de adhesión y quimiocinas.

**Palabras clave:** Grelina, colesterol, inflamación, proteína C reactiva, biomarcadores, enfermedades cardiovasculares.

### Abstract

Inflammation and hypercholesterolemia have been reported as risk factors involved in the pathogenesis of cardiovascular diseases. Ghrelin and its receptors are present in the myocardium and vasculature, where they exert cardioprotector and anti-inflammatory functions. However, the mechanism involving ghrelin in conditions of low-grade inflammation is complex and not yet well understood. Thus, in the present study we assessed plasma levels of ghrelin, inflammatory mediators and C-reactive protein (CRP) in a group of hypercholesterolemic overweight venezuelan adults. 207 subjects were examined. They were divided into two groups according to their total cholesterol: Group 1, control: (cholesterol < 200 mg/dL, N=164) and Group 2, hypercholesterolemic (cholesterol > 200 mg/dL, N=43). Clinical parameters were determined. Fasting plasma glucose, total cholesterol, HDL-c, triglycerides and CRP were determined in venous blood samples after nocturnal fasting. The levels of cytokines, chemokines and growth factors were also assessed by microsphere multiplex analysis (Bio-Plex). Our findings show that hypercholesterolemic patients present significantly higher levels of ghrelin and CRP. Cholesterol correlated positively and significantly with IL-2, IL-8, IFN- $\gamma$ , eotaxin, ghrelin, VEGF, MCP-1, TNF- $\alpha$ , FGFb, G-CSF and CRP. Ghrelin correlated negatively and significantly with IL-8, IL-4, IL-6, IL-17 and RANTES. These data indicate that in the venezuelan population studied; in the hypercholesterolemic patients underlie alterations in ghrelin, inflammatory cytokines, adhesion molecules and chemokines.

**Key words:** Ghrelin, cholesterol, inflammation, C reactive protein, biomarkers, cardiovascular disease.

- A Laboratorio de Neuropeptidos, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.  
B Unidad de Farmacología, Escuela José María Vargas, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.  
C Cátedra de Bioquímica, Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.  
D 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.  
\* Correspondencia: astern88@gmail.com.

## Introducción

La grelina es un péptido de 28 residuos de aminoácidos producido y secretado principalmente por el estómago, el cual fue identificado como un ligando endógeno para el receptor huérfano del secretagogo de la hormona de crecimiento (GHSR); por lo que ejerce una fuerte actividad liberadora de la hormona de crecimiento (GH) (Kojima y col., 2008). Asimismo, se ha descrito que la grelina tiene múltiples funciones, pues participa en la regulación del balance energético; induciendo ganancia de peso corporal mediante la estimulación de la ingesta de alimento y la reducción de la utilización de las grasas (Tschöp y col., 2000; Cummings y Shannon, 2003). A pesar de ello, las concentraciones plasmáticas de grelina se encuentran disminuidas en la obesidad (Tolle y col., 2003; Slama y col., 2015). Por su parte, la pérdida de peso incrementa sus niveles plasmáticos, lo cual sugiere que la grelina representa una señal adecuada para el sistema nervioso central cuando el nivel de energía agudo o crónico no es suficiente (Viridis y col., 2016).

Se ha encontrado que la grelina y sus receptores se encuentran presentes en el sistema cardiovascular (Tesauro, 2010), donde ejerce diversas acciones independientes a las de la GH, exhibiendo propiedades cardioprotectoras, pues interviene en la regulación de la presión arterial (Viridis y col., 2016), inhibe la apoptosis endotelial, la inflamación, incrementa la función del ventrículo izquierdo y es vasodilatadora (Granata y col., 2007; Granata y col., 2011). Por lo tanto, la grelina cumple un papel protector importante contra la aterosclerosis y en las enfermedades cardiovasculares (Kishimoto y col., 2012), posiblemente gracias a sus efectos antiinflamatorios, inhibiendo la activación del factor de transcripción

nuclear  $\kappa$ -B (NF $\kappa$ -B) y la producción de citocinas inflamatorias en células endoteliales humanas (Li y col., 2004).

La inflamación y la hipercolesterolemia han sido reportados como dos de los factores de riesgo más importantes en la patogénesis de las enfermedades cardiovasculares (Ferroni y col., 2003; Wang y col., 2017). De hecho, la evidencia experimental ha descrito la presencia de un fenotipo inflamatorio en modelos animales con hipercolesterolemia, aún antes de la aparición de estrías grasas en grandes arterias (Scalia y col., 1998; Stokes y col., 2001; Figueira y col., 2017; Figueira y González, 2018). Estos cambios están caracterizados por un incremento en la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio vascular (Steinberg, 2005), con el consecuente rodamiento, adhesión y migración de leucocitos en la pared endotelial (Scalia y col., 1998; Stokes y col., 2001).

Uno de los marcadores de inflamación más empleados para la estratificación del riesgo cardiovascular es la proteína C reactiva (PCR), la cual es un reactante de fase aguda (Sproston y Ashworth, 2018), sintetizado principalmente por el hígado bajo la influencia de estímulos inflamatorios como la interleucina-6 (IL-6), interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) y el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Se ha descrito que la PCR es un regulador de las vías de señalización asociadas con la trombosis, angiogénesis e inflamación. En este sentido, esta proteína está involucrada en la patogenia de las enfermedades cardiovasculares y en la progresión de la aterosclerosis ejerciendo sus efectos proinflamatorios, modulando la respuesta innata inmune, activando el sistema del complemento, promoviendo la activación plaquetaria, la formación de trombos, el remodelado vascular y la angiogénesis (Badimon y col.,

2018). De hecho, estudios experimentales y clínicos han demostrado que los niveles plasmáticos elevados de PCR constituye un factor de riesgo así como un marcador de enfermedad cardiovascular; pues la PCR es un predictor de riesgo de infarto de miocardio, enfermedad arterial periférica, aún en individuos aparentemente sanos (Ridker y col., 1997 y 2000). En este sentido, las pautas de la Sociedad Europea de Cardiología le dan a la PCR una recomendación de Clase IIb, indicando que esta proteína puede medirse como parte de una evaluación de riesgo refinada en pacientes con perfiles de riesgo cardiovascular inusuales o moderados (Vlachopoulos y col., 2015; Wang y col., 2017).

Por lo tanto, el papel de la PCR en la enfermedades cardiovasculares y como marcador de riesgo en estas enfermedades ha sido estudiado (Kaptoge y col., 2010; Koenig, 2013). Asimismo, se conocen las propiedades cardioprotectoras de la grelina (Granatay col., 2007; Granatay col., 2011; Viridis y col., 2016). Sin embargo, el mecanismo que involucra a la grelina en condiciones de inflamación de bajo grado es complejo y aún no bien comprendido. Es por ello que en el presente estudio se evaluó mediante el análisis multiplex de microesferas (Bio-Plex), los niveles plasmáticos de mediadores inflamatorios, la PCR y la grelina en un grupo de adultos venezolanos hipercolesterolémicos con sobrepeso.

## **Materiales y métodos**

### **SUJETOS**

Se estudiaron a 207 sujetos de ambos géneros, con edades comprendidas entre 18 y 65 años, seleccionados entre los que asistieron de manera voluntaria a la consulta de Medicina Interna del Hospital

Vargas de Caracas y a la consulta de la Unidad de Neuropéptidos de la Facultad de Farmacia, desde julio de 2012 hasta abril de 2015. Los mismos fueron subdivididos en dos grupos de acuerdo a sus cifras de colesterol total: Grupo 1: colesterol < 200 mg/dL (N=164) y Grupo 2: colesterol > 200 mg/dL (N=43). Se aplicó una encuesta a fin de conocer acerca de sus antecedentes médicos, personales, familiares y hábitos de vida. La selección buscó una distribución homogénea de individuos con condiciones socio-económicas similares. A los grupos en estudio, se les comunicó acerca de las características e importancia del estudio y se obtuvo el consentimiento informado por escrito. Fueron excluidos del estudio aquellos sujetos con hábito tabáquico mayor que 20 paq/año, la presencia de proteinuria franca y/o diagnóstico previo de nefropatías independientemente de su etiología, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca, lupus eritematoso sistémico, mieloma múltiple y pacientes con hipertensión grado 2 o 3.

Los sujetos fueron sometidos a examen físico determinando talla, peso, índice de masa corporal (IMC), circunferencia de cintura (CC) y presión arterial (PA). La PA fue determinada, en horas de la mañana al sujeto sentado y después de 10 minutos de reposo, mediante el uso de un esfigmomanómetro de mercurio. El valor de PA de la visita fue el promedio de dos determinaciones, realizadas con un intervalo de un minuto entre ellas.

Las condiciones pre-analíticas fueron las recomendadas mundialmente para este tipo de valoraciones: Ayuno de 8-12 horas y sin dieta previa habitual, evitando ejercicios extenuantes, estrés, entre otros. La muestra de sangre se obtuvo mediante venopunción directa en la región antecubital con agujas

múltiples (Venojet®), utilizando tubos con EDTA. Posteriormente, las muestras previamente mantenidas en frío, se centrifugaron a 3.000 rpm durante 15 minutos y en el plasma se cuantificaron las concentraciones plasmáticas de PCR, citocinas, quimiocinas, perfil lipídico y glucosa.

Todos los protocolos experimentales fueron revisados y aprobados por el Comité de Ética del Hospital Universitario de Caracas y cumplen con la Declaración de Helsinki para experimentación con seres humanos (WMA, 1964 y revisada en 2013).

#### PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO

Todos los métodos fueron procedimientos estándar utilizados en laboratorios de la Unidad de Neuropeptidos de la Facultad de Farmacia, UCV. Para la medición de los parámetros clínicos, se recogieron muestras de sangre venosa después del ayuno nocturno. La glucosa, el colesterol total, colesterol asociado a las lipoproteínas de alta densidad (HDLc) y los triglicéridos, se determinaron por métodos enzimáticos Trinder (Stanbio), las mediciones se realizaron con un espectrofotómetro y los resultados expresados en mg/dL. La determinación cuantitativa de la PCR se realizó por método inmunturbidimétrico (Alpco, EE.UU.).

#### DETERMINACIÓN DE CITOCINAS, MOLÉCULAS DE ADHESIÓN Y QUIMIOCINAS

Todas las muestras de plasma se evaluaron por duplicado mediante el análisis multiplex de microesferas (Bio-Plex Pro Assays Cytokine, Chemokine, and Growth Factors, Life Science Grup, BIORAD). Brevemente, el sistema Bio-Plex® se basa en tres núcleos tecnológicos. El primero constituye una tecnología novedosa

que emplea hasta 100 microesferas de poliestireno (5,6 µm) o magnéticas (8 µm), teñidas fluorescentemente codificadas con un código espectral (Tecnología xMAP), la cual permite la detección simultánea de 100 moléculas diferentes en uno sólo de los pozos de la microplaca de 96 pozos. El segundo es un citómetro de flujo con dos rayos láser asociados a un sistema óptico que permite cuantificar las diferentes moléculas unidas a la superficie de las microesferas. El tercero está constituido por un procesador de señal digital de alta velocidad que maneja los datos de fluorescencia con alta eficiencia. Esta técnica nos permitió estudiar en forma simultánea las concentraciones circulantes de grelina, el antagonista del receptor de interleucina 1 (IL1-ra), interleucinas (IL)-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15 e IL-17, de las citocinas eotaxina, factor de crecimiento básico de fibroblastos (FGFb), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos- macrófagos (GM-CSF), el interferón gamma (INF-γ), quimioquina-10 motivo C-X-C (IP-10/CXCL10), proteína quimiotáctica de monocitos tipo 1 (MCP-1), proteína inflamatoria de macrófagos-1 alfa/beta (MIP-1a/b), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), ligando 5 de la quimioquina CC (CCL5/RANTES), TNF-α y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF).

#### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron analizados utilizando el programa GraphPad InStat. Los datos se presentan como la media ± error estándar de la media (E.E.M.). Se utilizó la prueba de U de Mann Whitney para comparar los valores de las variables de los grupos sujetos a estudio. Las correlaciones entre las variables fueron realizadas por la prueba de correlación de Spearman.

Un valor de  $p < 0,05$  fue considerado estadísticamente significativo.

## Resultados

### CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y BIOQUÍMICAS DE LOS SUJETOS

Las características clínicas de los grupos experimentales se resumen en la **tabla I**. La distribución en sexo de los sujetos fue de 114 mujeres (Grupo 1=86 y Grupo 2=28) y 93 hombres (Grupo 1=78 y Grupo 2=15). No se observaron diferencias significativas en la edad, peso, talla, IMC, circunferencia abdominal (CA), PA sistólicas (PAS), PA diastólica (PAD) y HDLc entre los dos grupos experimentales. Se observó un incremento significativo en los valores de la glicemia, triglicéridos, colesterol total y PCR en los pacientes del Grupo 2 al compararlos con el Grupo 1 ( $p < 0,0001$ ).

Tabla I

#### Características clínicas y bioquímicas de los pacientes sujetos a estudio.

Parámetro	Colesterol <200 mg/dL	Colesterol >200 mg/dL
N=207 F/M	N= 164 86/78	N= 43 28/15
Edad (años)	37,41 ± 1,01	44,07 ± 0,94
Peso (Kg)	80,08 ± 1,63	79,54 ± 1,57
Talla (cm)	1,66 ± 0,01	1,63 ± 0,01
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	28,8 ± 0,55	29,60 ± 0,51
CA (cm)	94,69 ± 1,30	96,14 ± 1,16
PAS (mmHg)	123,71 ± 1,24	126,48 ± 1,35
PAD (mmHg)	81,48 ± 0,9	83,67 ± 0,95
Glicemia (mg/dL)	85,89 ± 1,30	91,19 ± 0,75***
Triglicéridos (mg/dL)	108,04 ± 4,7	161,15 ± 8,63***
HDLc (mg/dL)	39,71 ± 0,82	41,01 ± 1,03
Colesterol total (mg/dL)	144,5 ± 2,99	234,39 ± 3,07***
PCR (mg/L)	4,99 ± 0,33	7,46 ± 1,11**

\*\*\*  $p < 0,0001$  comparado con colesterol <200mg/dL.

\*\*  $p = 0,0067$  comparado con colesterol <200mg/dL.

El análisis de Spearman de las correlaciones entre el colesterol total con las características clínicas y los niveles de PCR en los sujetos se muestran en la **tabla II**, donde se evidencia que el colesterol total se correlacionó de manera positiva con la edad, glicemia, triglicéridos y PCR.

Tabla II

#### Análisis de la correlación de Spearman entre colesterol total y las características clínicas y bioquímicas de todos los sujetos

	r	p
COL <sub>t</sub> & Edad	0,1869	0,0074
COL <sub>t</sub> & Glicemia	0,2619	0,0002
COL <sub>t</sub> & Triglicéridos	0,2319	0,0009
COL <sub>t</sub> & PCR	0,3859	0,0001

NIVELES PLASMÁTICOS DE CITOCINAS PRO-INFLAMATORIAS, MOLÉCULAS DE ADHESIÓN, Y QUIMIOCINAS DETERMINADOS MEDIANTE EL USO DEL INMUNOENSAYO DE MICROESFERAS MULTIPLEX.

El método de la microesferas multiplex permitió detectar 27 biomarcadores: citocinas pro-inflamatorias, moléculas de adhesión y quimiocinas y 11 marcadores de diabetes en los sujetos evaluados. Bajo nuestras condiciones experimentales, los niveles plasmáticos de citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento no mostraron diferencias significativas entre los dos grupos experimentales (**Tabla III**), a excepción de la grelina cuyos niveles plasmáticos fueron significativamente mayores en los sujetos del Grupo 2 al compararlos con el Grupo 1 (**Figura 1**) ( $p < 0,001$ ).

El análisis de Spearman de las correlaciones entre el colesterol total y los niveles plasmáticos de grelina, citocinas pro-inflamatorias, moléculas de adhesión y quimiocinas de todos los sujetos se muestra en la **tabla IV**, donde se indican

Tabla III

**Concentración de las citocinas plasmáticas (pg/mL)**

Parámetro (pg/mL)	Colesterol <200 mg/dL	Colesterol >200 mg/dL
N=207 F/M	N= 164 86/78	N= 43 28/15
IL-2	33,41 ± 2,64	30,21 ± 3,08
IL-4	22,34 ± 2,50	22,57 ± 2,58
IL-6	29,13 ± 2,29	28,37 ± 2,69
IL-8	39,07 ± 3,27	35,58 ± 2,52
IL-17	42,20 ± 3,29	39,86 ± 3,61
Eotaxina	146,52 ± 10,66	166,56 ± 7,73
FGFb	45,08 ± 2,81	42,28 ± 3,14
G-CSF	44,29 ± 2,85	49,25 ± 2,62
IFN-γ	256,13 ± 32,93	266,38 ± 31,91
MCP-1	69,41 ± 5,43	65,04 ± 4,77
RANTES	16550,5 ± 3165	10796,6 ± 1310
TNF-α	39,78 ± 3,51	36,09 ± 2,68
VEGF	53,01 ± 5,41	44,86 ± 3,26

los valores de "r" y la significancia estadística (p). Los resultados demuestran que el colesterol total se correlacionó positivamente y significativamente con la IL-2, IL-8, IFN-γ, eotaxina, grelina, VEGF, MCP-1, TNF-α, FGFb y G-CSF.

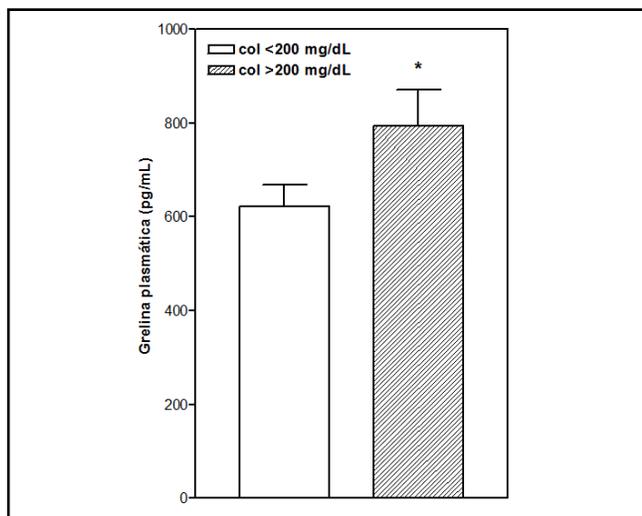


Figura 1. Niveles plasmáticos de grelina en sujetos adultos subdivididos en dos grupos de acuerdo a los niveles de colesterol total: Grupo 1: colesterol <200 mg/dL (N=164) y Grupo 2: colesterol >200 mg/dL (N=43), \*p=0,0407 comparado con colesterol <200 mg/dL.

Tabla IV

**Análisis de la correlación de Spearman entre colesterol y niveles plasmáticos de citocinas**

	r	p
COL <sub>t</sub> & IL-2	0,2426	0,0772
COL <sub>t</sub> & IL-8	0,2267	0,0011
COL <sub>t</sub> & IFN-γ	0,2882	0,0001
COL <sub>t</sub> & eotaxina	0,2743	0,0001
COL <sub>t</sub> & grelina	0,3524	0,0001
COL <sub>t</sub> & VEGF	0,119	0,0942
COL <sub>t</sub> & MCP-1	0,1177	0,0969
COL <sub>t</sub> & TNF-α	0,1946	0,0054
COL <sub>t</sub> & FGFb	0,1407	0,045
COL <sub>t</sub> & G-CSF	0,3459	0,0001

El análisis de Spearman de las correlaciones entre la grelina y los niveles plasmáticos de citocinas pro-inflamatorias y quimiocinas de todos los sujetos se muestra en la **tabla V**. Los resultados demuestran que la grelina se correlacionó significativamente de manera inversa con IL-8, IL-4, IL-6, IL-17 y RANTES.

Tabla V

**Análisis de la correlación de Spearman entre la grelina y los niveles plasmáticos de citocinas**

	r	p
Grelina & IL-8	-0,2307	0,0036
Grelina & IL-4	-0,2962	0,0002
Grelina & IL-6	-0,2572	0,0012
Grelina & IL-17	-0,2798	0,0006
Grelina & RANTES	-0,5178	0,0001

**Discusión**

El papel de la hipercolesterolemia y la inflamación en la patogenia de las enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis es universalmente aceptado (Steinberg, 2005). De hecho, la inflamación y la hipercolesterolemia están relacionadas en un círculo vicioso en el cual el exceso de colesterol que se

acumula en las paredes arteriales induce una respuesta inflamatoria que acelera el depósito de mayor cantidad de colesterol y amplifica la inflamación (Catapano y col., 2017); pues la acumulación del exceso de lípidos dentro de la arteria promueve la disfunción endotelial y su activación, lo cual resulta en el incremento de la producción de citocinas inflamatorias y especies reactivas de oxígeno, sobreexpresión de moléculas de adhesión celular, quimiocinas y disminución en la biodisponibilidad del óxido nítrico (NO) (van Diepen y col., 2013; Gimbrone y García-Cárdena, 2016). Estos procesos contribuyen al reclutamiento e infiltración de monocitos, los cuales se diferencian a macrófagos y fagocitan a las lipoproteínas de baja densidad (LDL), pasos esenciales en la aterogénesis (Ross, 1999; van Diepen y col., 2013; Sorci-Thomas y Thomas, 2016).

Recientemente, el colesterol ha sido relacionado directamente con la inflamación mediante la activación del inflammasoma NLRP3 (Grebe y Latz, 2013), el cual puede favorecer la instauración y amplificación de la respuesta inmuno-inflamatoria local y sistémica, caracterizada por la producción de varias citocinas proinflamatorias, entre ellas la PCR, IL-6 e IL-1, marcadores de inflamación bien establecidos (Ridker, 2016).

La PCR es un miembro de la familia de las pentraxinas de las proteínas de la inmunidad innata, el cual es un marcador inflamatorio no específico de enfermedad cardiovascular (Bassuk y col., 2004), producido y sintetizado en el hígado en respuesta a citocinas inflamatorias (Bray y col., 2016). Sin embargo, se ha descrito que la PCR es sintetizada por otras células como las encontradas en la placa ateromatosa, pues se ha demostrado co-localización de la PCR y lipoproteína

de baja densidad oxidada (LDLox) y macrófagos en placas ateromatosas de pacientes con angina estable e inestable y en infarto al miocardio (Meuwissen y col., 2006). El papel de la PCR producida en la placa no es del todo conocido; sin embargo se ha propuesto que juega un papel relevante en la aterosclerosis y en las enfermedades cardiovasculares (Cirillo y col., 2005).

En el presente estudio se encontró niveles elevados de PCR en los pacientes hipercolesterolémicos con sobrepeso, con respecto a los normocolesterolémicos con sobrepeso, lo cual sugiere la presencia de un estado inflamatorio en estos pacientes, inducido posiblemente por los elevados niveles de colesterol. En este sentido, diferentes estudios han demostrado que la PCR muestra asociación positiva con eventos cardiovasculares de manera independiente de otros factores de riesgo cardiovascular (Ridker y col., 1997; Ridker y col., 2000). De hecho, la participación de la PCR en la patogénesis de las enfermedades cardiovasculares es controvertida; sin embargo, se ha demostrado que la PCR exhibe propiedades protrombóticas, inhibe la expresión de la sintasa de óxido nítrico endotelial, promueve el incremento en la expresión de moléculas de adhesión celular como la molécula de adhesión vascular tipo 1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular (ICAM-1), selectina-E sobre la superficie endotelial, incrementa la adhesión y migración de los monocitos, determina la síntesis de factores quimiotácticos como la MCP-1 e induce la secreción endotelial de otros factores pro-inflamatorios como el NFκ-B, IL-6, IL-8 (Pasceri y col., 2000, Zwaka y col., 2001; Luan y Yao, 2018); por lo tanto, el incremento de los niveles de PCR en los pacientes hipercolesterolémicos con sobrepeso, sugiere la presencia de

un estado inflamatorio crónico de bajo grado en estos pacientes.

De igual manera, nuestros hallazgos muestran la existencia de una asociación positiva entre las concentraciones de colesterol total y los niveles de IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-8, eotaxina, MCP-1, VEGF, FGFB, G-CSF, PCR y grelina, lo cual sugiere que la hipercolesterolemia induce un estado inflamatorio caracterizado por un aumento en las citocinas proinflamatorias, quimiocinas, factores de crecimiento y reactantes de fase aguda. En este sentido, se ha descrito que la hipercolesterolemia, en particular el incremento o modificación de las LDL, es un componente clave en la activación de las células endoteliales y macrófagos, favoreciendo la expresión de diferentes moléculas de adhesión celular sobre la superficie de las células endoteliales y producción de citocinas proinflamatorias como el TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  y la IL-6 (Thornhill y col., 1991; Frostegård y col., 1993; Berliner y col., 1995), promoviendo el cambio del fenotipo del endotelio de uno no adhesivo, no trombogénico y no proliferativo, a otro que expresa y secreta diversas moléculas de adhesión y sustancias quimioatrayentes capaces de promover el reclutamiento de leucocitos a través del endotelio (Ferroni y col., 2003).

Asimismo, la influencia que tienen algunos mediadores inflamatorios sobre el metabolismo de los lípidos ha sido descrita. Las citocinas juegan un papel importante en las enfermedades inflamatorias, y su relación con la hipercolesterolemia y aterosclerosis ha emergido. El TNF- $\alpha$  es una citoquina proinflamatoria que contribuye en el desarrollo de la aterosclerosis mediante la inducción de la disfunción endotelial e iniciando la cascada inflamatoria

dentro de la pared arterial (Ross, 1999). Aunque se ha descrito que su incremento durante la inflamación aguda es protector, los niveles persistentemente elevados durante la inflamación crónica puede resultar en alteraciones del metabolismo de los lípidos y la glucosa (Popa y col., 2007). De hecho, el TNF- $\alpha$  puede interferir con el metabolismo del colesterol mediante la disminución de la secreción de apolipoproteínas y reduciendo el catabolismo y excreción del colesterol (Popa y col., 2007). Asimismo, el TNF- $\alpha$  altera la calidad de las lipoproteínas favoreciendo la generación de LDL pequeña, densa, proaterogénicas y LDLox debido a cambios en el contenido de esfingolípidos. Además, es capaz de disminuir los niveles de HDLc y alterar su composición. Todo esto soporta que la hipercolesterolemia promueve la inflamación vascular y sistémica, mediante la inducción de varios mediadores, algunos de los cuales podría contribuir en la amplificación de la respuesta inflamatoria, tales como la PCR (Popa y col., 2007).

De igual manera, mediadores inflamatorios como la IL-6, IL-1 $\beta$  y el TNF- $\alpha$  pueden alterar el metabolismo de los lípidos (Khovidhunkit y col., 2004), mediante el incremento de la producción y secreción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) por el hígado, y disminuyendo la depuración de lipoproteínas enriquecidas con triglicéridos, con el consecuente incremento de las concentraciones séricas de triglicéridos (Khovidhunkit y col., 2004). Por lo tanto, el incremento de la PCR y la asociación positiva del colesterol con las citocinas proinflamatorias observado en el presente estudio en los pacientes, sugiere que la condición de hipercolesterolemia es capaz de desencadenar un proceso inflamatorio crónico de bajo grado que

puede profundizar o agudizar la situación de los mismos.

La grelina es un péptido expresado en diferentes tejidos y órganos como el estómago, glándula pituitaria, hipotálamo, intestino, páncreas, riñones, entre otros; donde cumple funciones endocrinas, paracrinas y autocrinas (Ghelardoni y col., 2006). Además de su marcada actividad liberadora de la GH, es un poderoso orexigénico y una hormona adipogénica; siendo estos efectos aparentemente independientes de los cambios en la GH (Tschöp y col., 2000). La grelina se encuentra presente en el plasma y en el estómago en dos formas, la acilada, la cual representa la forma biológicamente activa, y la desacilada (Hosoda y col., 2000). En condiciones de salud, la grelina no acilada está presente en la circulación en mayor concentración que la forma bioactiva; sin embargo esta relación puede variar bajo condiciones patológicas (Virdis y col., 2016).

La evidencia indica que tanto la grelina como sus receptores se encuentran presentes en el sistema cardiovascular (Katugampola y col., 2001; Gnanapavan y col., 2002), demostrándose en los cardiomiocitos humanos (Gnanapavan y col., 2002) y en las células endoteliales de arterias y venas (Kleinz y col., 2006). De hecho, algunos estudios han descrito que las concentraciones plasmáticas de grelina se asocian de manera positiva con el grado de aterosclerosis carotídea, lo cual sugiere una posible participación en la aterosclerosis o de un efecto compensatorio durante esta enfermedad. En este sentido, la grelina cumple un papel beneficioso en el sistema cardiovascular tanto en condiciones normales y patológicas, pues estudios *in vitro* e *in vivo* han indicado efectos hemodinámicos y vasoactivos (Wiley y Davenport, 2002;

Nagaya y col., 2001; Enomoto y col., 2003); ya que la grelina mejora la disfunción endotelial e incrementa la expresión de la sintasa de óxido nítrico endotelial en ratas deficientes de la GH (Shimizu y col., 2003), sugiriendo que los efectos cardiovasculares de la grelina son independientes de los de la GH. Asimismo, se ha descrito que la grelina podría atenuar la actividad simpática (Nagaya y col., 2004), es vasodilatadora, aumenta la sensibilidad a la insulina, tiene efectos antioxidantes, disminuye la respuesta pro-inflamatoria, disminuye la fibrosis cardíaca y tiene efectos antiapoptóticos (Wiley y Davenport, 2002; Virdis y col., 2016).

En el presente estudio se evidenció que los pacientes con hipercolesterolemia y sobrepeso presentaron concentraciones plasmáticas de grelina superiores que aquellos sujetos normocolesterolémicos con sobrepeso, lo que apoya su posible papel en las enfermedades cardiovasculares y metabólicas. Diferentes estudios han encontrado alteración en la concentración y/o expresión de estos péptidos en las enfermedades cardiovasculares (Yano y col., 2009; Zhang y col., 2012; Laurila y col., 2014; Yano y col., 2014). En efecto, se ha descrito que la concentración de grelina puede predecir el futuro riesgo para padecer enfermedades cardiovasculares. Así, Laurila y col. (2014) demostraron que niveles plasmáticos elevados de esta hormona protegen de enfermedades coronarias o muertes en sujetos aparentemente sanos (Laurila y col., 2014), están asociados con una disminución en la aterosclerosis (Yano y col., 2009; Zhang y col., 2012); y mejora la predicción de eventos cardiovasculares en pacientes hipertensos (Yano y col., 2014); por lo que la grelina podría ser empleada como un marcador de riesgo cardiovascular.

Asimismo, se ha descrito que las concentraciones de grelina se correlacionan de manera positiva con el grado de aterosclerosis carotídea en hombres (Pöykkö y col., 2006); por lo que la misma parece tener un papel diferente en la aterosclerosis dependiendo de la fase de la enfermedad (Olavi, 2015). En efecto, se ha descrito que la densidad de los receptores para la grelina se encuentra aumentada en las lesiones ateroscleróticas (Katugampola y col., 2001), lo cual podría reflejar el papel beneficioso de este péptido en la aterosclerosis humana (Katugampola y col., 2002). Sin embargo, algunos estudios han descrito niveles disminuidos de grelina en pacientes con infarto agudo al miocardio (Matsumoto y col., 2013) y con trastornos metabólicos como la resistencia a la insulina, diabetes tipo 2 y síndrome metabólico (Pöykkö y col., 2003). Efectivamente, la grelina acilada inhibe la secreción de insulina estimulada por glucosa, y concentraciones bajas de la grelina están asociadas con elevadas concentraciones de insulina y con la prevalencia de diabetes mellitus tipo 2 y resistencia a la insulina (Pöykkö y col., 2003).

De igual manera, en el presente estudio se encontró asociación negativa de la grelina con las concentraciones plasmáticas de IL-8, IL-4, IL-6, IL-17 y RANTES; lo cual sugiere que el incremento de las concentraciones de grelina observado en los pacientes hipercolesterolémicos con sobrepeso, podría representar una respuesta compensatoria y protectora de esta hormona ante la condición de inflamación crónica de bajo grado de los pacientes, inducida por el sobrepeso y la hipercolesterolemia que presentan los mismos, tal y como se refleja por el incremento de sus niveles plasmáticos

de la PCR. En este sentido, se ha descrito que la grelina ejerce efectos inmunoreguladores; de hecho, se ha reportado que la grelina tiene propiedades antioxidantes, anti-inflamatorias (Zhang y col., 2010; Prodam y Filigheddu, 2014) y vasodilatadoras. Así, estudios *in vitro* han demostrado que la grelina inhibe la producción de citocinas inducida por eotaxina y TNF- $\alpha$  en células endoteliales humanas, la activación del NF $\kappa$ -B (Li y col., 2004) y la liberación *in vivo* de la citoquina IL-1 $\beta$  (Dembinski y col., 2003) e IL-6 en ratas obesas (Khazaei y Tahergorabi, 2015). Asimismo, la grelina es capaz de revertir la disfunción endotelial en pacientes con síndrome metabólico mediante el incremento en la producción y biodisponibilidad del óxido nítrico (Tesauro y col., 2005).

Por otra parte, se ha descrito que la grelina interactúa con lipoproteínas ricas en triglicéridos, HDL, VLDL y LDL (Beaumont y col., 2003; De Vriese y col., 2007). En apoyo a esto están nuestros hallazgos de una asociación positiva entre la grelina con los niveles de colesterol, lo que indicaría que la grelina puede unirse a las partículas de HDL, el cual sirve como un transportador circulatorio (Beaumont y col., 2003). Resultados similares han sido reportados en otros estudios (Al-Hakeim y Ali, 2012; Saad y col., 2013).

En conclusión, nuestros resultados sugieren que la hipercolesterolemia y el sobrepeso pueden alterar marcadores de inflamación y metabólicos como la PCR y la grelina en una muestra de la población venezolana, destacando el papel de estas moléculas en la fisiopatología de las enfermedades cardiovasculares, por lo que podrían constituir biomarcadores de riesgo de enfermedad cardiovascular.

## Agradecimientos

Este trabajo fue subvencionado por el Ministerio Popular de Ciencia Tecnología e Industrias, Proyecto Misión Ciencia, Sub-proyecto 7, ECCV No. 2007001585, el Proyecto de Estímulo a la Investigación PEII-20122000760 y el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico con el Proyecto CDCH PI-06-7368-2008-1 y CDCH-UCV AIA-06.8402.2012.

## Referencias bibliográficas

- Al-Hakeim HK, Ali M. 2012. Low ghrelin level is associated with poor control and bad prognosis parameters in obese diabetic patients. *J Diabetol* 1: 5–14, 28.
- Badimon L, Peña E, Arderiu G, Padró T, Slevin M, Vilahur G, Chiva-Blanch G. 2018. C-Reactive Protein in Atherothrombosis and Angiogenesis. *Front Immunol* 9: 430. doi: 10.3389/fimmu.2018.00430.
- Bassuk SS, Rifai N, Ridker PM. 2004. High-sensitivity C-reactive protein: clinical importance. *Curr Probl Cardiol* 29: 439–493.
- Beaumont NJ, Skinner VO, Tan TM, Ramesh BS, Byrne DJ, Mac Coll GS, Keen JN, Bouloux PM, Mikhailidis DP, Bruckdorfer KR, Vanderpump MP, Srai KS. 2003. Ghrelin can bind to a species of high density lipoprotein associated with paraoxonase. *J Biol Chem* 278: 8877–8880.
- Berliner J, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, Watson AD, Lusis AJ. 1995. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation and genetics. *Circulation* 91: 2488–2496.
- Bray C, Bell LN, Liang H, Haykal R, Kaikow F, Mazza JJ, Yale SH. 2016. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein measurements and their relevance in clinical medicine. *WMJ* 115(6): 317–321.
- Catapano A, Pirillo A, Norata G. 2017. Vascular inflammation and low-density lipoproteins: is cholesterol the link? A lesson from the clinical trials. *Br J Pharmacol* 174: 3973–3985.
- Cirillo P, Golino P, Calabro P, Cali G, Ragni M, De Rosa S, Cimmino G, Pacileo M, De Palma R, Forte L, Gargiulo A, Corigliano FG, Angri V, Spagnuolo R, Nitsch L, Chiariello M. 2005. C-reactive protein induces tissue factor expression and promotes smooth muscle and endothelial cell proliferation. *Cardiovasc Res* 68: 47–55.
- Cummings DE, Shannon MH. 2003. Roles for ghrelin in the regulation of appetite and body weight. *Arch Surg* 138: 389–396.
- De Vriese C, Hacquebard M, Gregoire F, Carpentier Y, Delporte C. 2007. Ghrelin interacts with human plasma lipoproteins. *Endocrinology* 148:2355–2362.
- Dembinski A, Warzecha Z, Ceranowicz P, Tomaszewska R, Stachura J, Konturek SJ, Konturek PC. 2003. Ghrelin attenuates the development of acute pancreatitis in rat. *J Physiol Pharmacol* 54: 561–573.
- Enomoto M, Nagaya N, Uematsu M, Okumura H, Nakagawa E, Ono F, Hosoda H, Oya H, Kojima M, Kanmatsuse K, Kangawa K. 2003. Cardiovascular and hormonal effects of subcutaneous administration of ghrelin, a novel growth hormone-releasing peptide, in healthy humans. *Clin Sci (Lond)* 105: 431–435.
- Ferroni P, Basili S, Davì G. 2003. Platelet Activation, Inflammatory Mediators and Hypercholesterolemia. *Curr Vasc Pharmacol* 1: 157–169.
- Figueira L, González J. 2018. Efecto del resveratrol sobre las concentraciones séricas del factor de crecimiento endotelial vascular durante la aterosclerosis. *Clín Invest Arteriosclerosis* doi.org/10.1016/j.arteri.2018.04.003
- Figueira L, González J, Di Basílico L. 2017. La fosfolipasa A2 asociada a lipoproteína como marcador sérico de aterosclerosis. *Rev Fac Far* 80(1 y 2): 45–59.
- Frostegård J, Wu R, Haegerstrand A, Patarroyo M, Lefvert A-K, Nilsson J. 1993. Mononuclear leukocytes exposed to oxidized low density lipoprotein secrete a factor that stimulates endothelial cells to express adhesion molecules. *Atherosclerosis* 103: 213–219.

- Ghelardoni S, Carnicelli V, Frascarelli S, Ronca-Testoni S, Zucchi R. 2006. Ghrelin tissue distribution: comparison between gene and protein expression. *J Endocrinol Invest* 29: 115–121.
- Gimbrone MA Jr, García-Cárdena G. 2016. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis. *Circ Res* 118: 620–636.
- Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, Bhattacharya S, Carpenter R, Grossman AB, Korbonsits M. 2002. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metabol* 87: 2988–2991.
- Granata R, Isgaard J, Alloatti G, Ghigo E. 2011. Cardiovascular actions of the ghrelin gene-derived peptides and growth hormone-releasing hormone. *Exp Biol Med (Maywood)* 236: 505–514.
- Granata R, Settanni F, Biancone L, Trovato L, Nano R, Bertuzzi F, Destefanis S, Annunziata M, Martinetti M, Catapano F, Ghè C, Isgaard J, Papotti M, Ghigo E, Muccioli G. 2007. Acylated and unacylated ghrelin promote proliferation and inhibit apoptosis of pancreatic beta-cells and human islets: Involvement of 3',5'-cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A, extracellular signal-regulated kinase 1/2, and phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt signaling. *Endocrinology* 148: 512–529.
- Grebe A, Latz E. 2013. Cholesterol crystals and inflammation. *Curr Rheumatol Rep* 15: 313.
- Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. 2000. Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Bioch Biophys Res Commun* 279: 909–913.
- Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, Pepys MB, Thompson SG, Collins R, Danesh J. 2010. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet* 375:132–140.
- Katugampola SD, Kuc RE, Maguire JJ, Davenport AP. 2002. G-protein-coupled receptors in human atherosclerosis: comparison of vasoconstrictors (endothelin and thromboxane) with recently de-orphanized (urotensin-II, apelin and ghrelin) receptors. *Clin Sci (Lond)* 103 (Suppl. 48): 171S–175S.
- Katugampola SD, Pallikaros Z, Davenport AP. 2001. [125I-His(9)]ghrelin, a novel radioligand for localizing GHS orphan receptors in human and rat tissue: up-regulation of receptors with atherosclerosis. *Br J Pharmacol* 134: 143–149.
- Khazaei M, Tahergorabi Z. 2015. Serum inflammatory markers in obese mice: Effect of ghrelin. *Adv Biomed Res* 4:145.
- Khovidhunkit W, Kim MS, Memon RA, Shigenaga JK, Moser AH, Feingold KR, Grunfeld C. 2004. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. *J Lipid Res* 45: 1169–1196.
- Kishimoto I, Tokudome T, Hosoda H, Miyazato M, Kangawa K. 2012. Ghrelin and cardiovascular diseases. *J Cardiol* 59: 8–13.
- Klein MJ, Maguire JJ, Skepper JN, Davenport AP. 2006. Functional and immunocytochemical evidence for a role of ghrelin and desoctanoyl ghrelin in the regulation of vascular tone in man. *Cardiovasc Res* 69: 227–235.
- Koenig W. 2013. High-sensitivity C-reactive protein and atherosclerotic disease: from improved risk prediction to risk-guided therapy. *Int J Cardiol* 168: 5126–5134.
- Kojima M, Kangawa K. 2008. Structure and function of ghrelin. *Results Probl Cell Differ* 46: 89–115.
- Laurila M, Santaniemi M, Kesaniemi YA, Ukkola O. 2014. High plasma ghrelin protects from coronary heart disease and Leu72Leu polymorphism of ghrelin gene from cancer in healthy adults during the 19 years follow-up study. *Peptides* 61: 122–129.
- Li WG, Gavrila D, Liu X, Wang L, Gunnlaugsson S, Stoll LL, McCormick ML, Sigmund CD, Tang C, Weintraub NL. 2004. Ghrelin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappaB activation in human endothelial cells. *Circulation* 109: 2221–2226.

- Luan Y, Yao Y. 2018. Clinical significance and potential role of C-reactive protein in chronic inflammatory and neurodegenerative diseases. *Front Immunol* 9: 1302. doi: 10.3389/fimmu.2018.01302.
- Matsumoto M, Yasuda S, Miyazaki S, Kataoka Y, Hosoda H, Nagaya N, Noguchi T, Morii I, Ogawa H, Kangawa K. 2013. Decreased serum ghrelin levels in patients with acute myocardial infarction. *Tohoku J Exp Med* 231: 235–242.
- Meuwissen M, van der Wal AC, Niessen HW, Koch KT, de Winter RJ, van der Loos CM, Rittersma SZ, Chamuleau SA, Tijssen JG, Becker AE, Piek JJ. 2006. Colocalisation of intraplaque C reactive protein, complement, oxidized low density lipoprotein, and macrophages in stable and unstable angina and acute myocardial infarction. *J Clin Pathol* 59: 196–201.
- Nagaya N, Kojima M, Uematsu M, Yamagishi M, Hosoda H, Oya H, Hayashi Y, Kangawa K. 2001. Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 280: R1483–1487.
- Nagaya N, Moriya J, Yasumura Y, Uematsu M, Ono F, Shimizu W, Ueno K, Kitakaze M, Miyatake K, Kangawa K. 2004. Effects of ghrelin administration on left ventricular function, exercise capacity, and muscle wasting in patients with chronic heart failure. *Circulation* 110: 3674–3679.
- Olavi U. 2015. Ghrelin and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 26: 288–291.
- Pasceri V, Cheng JS, Willerson JT, Yeh ET, Chang J. 2001. Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation* 103: 2531–2534.
- Popa C, Netea MG, van Riel PL, van der Meer JW, Stalenhoef AF. 2007. The role of TNF-alpha in chronic inflammatory conditions, intermediary metabolism, and cardiovascular risk. *J Lipid Res* 48: 751–762.
- Pöykkö SM, Kellokoski E, Hörkkö S, Kauma H, Kesäniemi YA, Ukkola O. 2003. Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes. *Diabetes* 52: 2546–2553.
- Pöykkö SM, Kellokoski E, Ukkola O, Kauma H, Päivänsalo M, Kesäniemi YA, Hörkkö S. 2006. Plasma ghrelin concentrations are positively associated with carotid artery atherosclerosis in males. *J Intern Med* 260(1): 43–52.
- Prodan F, Filigheddu N. 2014. Ghrelin gene products in acute and chronic inflammation. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 62: 369–384.
- Ridker PM. 2016. From C-reactive protein to interleukin-6 to interleukin-1: moving upstream to identify novel targets for atheroprotection. *Circ Res* 118: 145–156.
- Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. 1997. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 336: 973–979.
- Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. 2000. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 342: 836–843.
- Ross R. 1999. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 340: 115–126.
- Saad MA, Kabalan YM, Al-Quobaili FA. 2013. Serum ghrelin levels in Syrian obese patients with diabetes mellitus type II. *Afr J Biochem Res* 7: 1–7.
- Scalia R, Appel JZ III, Lefer AM. 1998. Leukocyte-endothelium interaction during the early stages of hypercholesterolemia in the rabbit: role of P-selectin, ICAM-1, and VCAM-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18: 1093–1100.
- Shimizu Y, Nagaya N, Teranishi Y, Imazu M, Yamamoto H, Shokawa T, Kangawa K, Kohno N, Yoshizumi M. 2003. Ghrelin improves endothelial dysfunction through growth hormone-independent mechanisms in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 310: 830–835.
- Slama F, Jridi N, Rayana M, Trimeche A, Hsairi M, Belhadj O. 2015. Plasma levels of leptin and ghrelin and their correlation

- with BMI, and circulating lipids and glucose in obese Tunisian women. *Asian Biomedicine* 9(2):161–168.
- Sorci-Thomas MG, Thomas MJ. 2016. Microdomains, inflammation, and atherosclerosis. *Circ Res* 118: 679–691.
- Sproston N, Ashworth J. 2018. Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection. *Front Immunol* 9: 754. doi: 10.3389/fimmu.2018.00754.
- Steinberg D. 2005. Hypercholesterolemia and inflammation in atherogenesis: Two sides of the same coin. *Mol Nutr Food Res* 49: 995–998.
- Stokes KY, Clanton EC, Russell JM, Ross CR, Granger DN. 2001. NAD(P)H oxidase-derived superoxide mediates hypercholesterolemia-induced leukocyte-endothelial cell adhesion. *Circ Res* 88: 499–505.
- Thornhill MH, Wellicome SM, Mahiouz DL, Lanchbury JS, Kyan-Aung U, Haskard DO. 1991. Tumor necrosis factor combines IL-4 or IFN-gamma to selectively enhance endothelial cell adhesiveness for T-cells. The contribution of vascular cell adhesion molecule-dependent and independent binding mechanisms. *J Immunol* 146: 592–598.
- Tesauro M. 2010. Metabolic and cardiovascular effects of ghrelin. *Curr Diabetes Rev* 6: 228–235.
- Tesauro M, Schinzari F, Iantorno M, Rizza S, Melina D, Lauro D, Cardillo C. 2005. Ghrelin improves endothelial function in patients with metabolic syndrome. *Circulation* 112: 2986–2992.
- Tolle V, Kadem M, Bluet-Pajot MT, Frere D, Foulon C, Bossu C, Dardennes R, Mounier C, Zizzari P, Lang F, Epelbaum J, Estour B. 2003. Balance in ghrelin and leptin plasma levels in anorexia nervosa patients and constitutionally thin women. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 109–116.
- Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. 2000. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 407: 908–913.
- van Diepen JA, Berbee JF, Havekes LM, Rensen PC. 2013. Interactions between inflammation and lipid metabolism: relevance for efficacy of anti-inflammatory drugs in the treatment of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 228: 306–315.
- Virdis A, Lerman L, Regoli F, Ghiadoni L, Lerman A, Taddei S. 2016. Human Ghrelin: A Gastric Hormone with Cardiovascular Properties. *Current Pharma Design* 22: 52–58.
- Vlachopoulos C, Xaplanteris P, Aboyans V, Brodmann M, Cifková R, Cosentino F, De Carlo M, Gallino A, Landmesser U, Laurent S, Lekakis J, Mikhailidis DP, Naka KK, Protogerou AD, Rizzoni D, Schmidt-Trucksäss A, Van Bortel L, Weber T, Yamashina A, Zimlichman R, Boutouyrie P, Cockcroft J, O'Rourke M, Park JB, Schillaci G, Sillesen H, Townsend RR. 2015. The role of vascular biomarkers for primary and secondary prevention. A position paper from the European Society of Cardiology working group on peripheral circulation: endorsed by the Association for Research into Arterial Structure and Physiology (ARTERY) Society. *Atherosclerosis* 241: 507–532.
- Wang J, Tan G, Han L, Bai Y, He M, Liu H. 2017. Novel biomarkers for cardiovascular risk prediction. *J Geriatr Cardiol* 14: 135–150.
- Wiley KE, Davenport AP. 2002. Comparison of vasodilators in human internal mammary artery: ghrelin is a potent physiological antagonist of endothelin-1. *Br J Pharmacol* 136: 1146–1152.
- WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. The World Medical Association, Inc. 2018.
- Yano Y, Nakazato M, Toshinai K, Inokuchi T, Matsuda S, Hidaka T, Hayakawa M, Kangawa K, Shimada K, Kario K. 2014. Circulating des-acyl ghrelin improves cardiovascular risk prediction in older hypertensive patients. *Am J Hypertens* 27: 727–733.
- Yano Y, Toshinai K, Inokuchi T, Kangawa K, Shimada K, Kario K, Nakazato M. 2009. Plasma des-acyl ghrelin, but not plasma HMW adiponectin, is a useful cardiometabolic marker for predicting atherosclerosis in elderly hypertensive patients. *Atherosclerosis* 204: 590–594.

- Zhang M, Fang WY, Yuan F, Qu XK, Liu H, Xu YJ, Chen H, Yu YF, Shen Y, Zheng ZC. 2012. Plasma ghrelin levels are closely associated with severity and morphology of angiographically-detected coronary atherosclerosis in Chinese patients with diabetes mellitus. *Acta Pharmacol Sin* 33: 452-458.
- Zhang G, Yin X, Qi Y, Pendyala L, Chen J, Hou D, Tang C. 2010. Ghrelin and cardiovascular diseases. *Curr Cardiol Rev* 6: 62-70.
- Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J. 2001. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation* 103: 1194-1197.

---

*Recibido: 05-03-2018*  
*Aceptado: 29-09-2018*