

Efecto del resveratrol sobre quimioquinas séricas en la aterosclerosis

Effect of resveratrol on seric chemokines on atherosclerosis

LETICIA FIGUEIRA^{1,*}, JULIO CÉSAR GONZÁLEZ^{1,2}

Resumen

Las quimioquinas como la proteína 10 inducida por interferón (IP-10) y la proteína quimiotáctica de monocitos tipo 1 (MCP-1) están involucradas en la fisiopatología de la aterosclerosis. El resveratrol tiene efectos antiinflamatorios y antiaterogénicos. En el presente estudio se evaluó el efecto del resveratrol sobre los niveles séricos de IP-10 y MCP-1 y su evolución en el tiempo en conejos alimentados con una dieta enriquecida con colesterol. 48 conejos machos Nueva Zelanda fueron divididos en cuatro grupos 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 (2 mg/Kg). Grupo 4: Conejarina suplementada con 0,5% colesterol y resveratrol. Se realizaron determinaciones séricas de triglicéridos, colesterol y sus fracciones, IP-10 y MCP-1 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 aumento de la IP-10 y MCP-1 en los grupos 2 y 4 desde la 6ta semana de experimentación con respecto a los grupos 1 y 3, respectivamente ($p < 0,0051$). En la duodécima semana se observó que el resveratrol revirtió el aumento de los niveles de IP-10 y MCP-1 inducido por la dieta enriquecida con colesterol ($p < 0,0050$). El tratamiento con resveratrol disminuyó la formación de ateromas. En conclusión, la IP-10 y MCP-1 son marcadores séricos tempranos de aterosclerosis. Asimismo, la suplementación oral de resveratrol puede inducir efectos antiaterogénicos dependientes de sus propiedades antiinflamatorias, sugiriendo su potencial valor terapéutico.

Palabras clave: Proteína 10 inducida por interferón, proteína quimiotáctica de monocitos tipo 1 (MCP-1), quimioquina, resveratrol, inflamación, aterosclerosis.

Abstract

The chemokine as the interferon-inducible protein-10 (IP-10) and the monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) are involved in atherosclerosis. Resveratrol has anti-inflammatory and antiatherogenic actions. The effect of resveratrol on serum concentrations of IP-10 and MCP-1 during the progression and evolution of atherosclerosis and its evolution over time in rabbits fed with a cholesterol diet was evaluated. 48 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: Cholesterol diet (0.5% cholesterol). Group 3 (control resveratrol): Standard diet (commercial rabbit food) and resveratrol (2 mg/Kg). Group 4: Cholesterol diet (0.5% cholesterol) and resveratrol (2 mg/Kg). Blood samples of overnight-fasted rabbits were collected on basal, sixth, and twelfth weeks, and concentration of lipid profile, IP-10, and MCP-1 was determined. Half of the animals were sacrificed on sixth or on the twelfth week, and the aorta was dissected for histological studies. Our findings demonstrated that the IP-10 and MCP-1 levels were significantly higher in Groups 2 and 4 than groups 1 and 3, respectively since on the 6th week ($p < 0.0051$). Resveratrol treatment reversed the increased levels of IP-10 and MCP-1 induced by cholesterol diet on the 12th week ($p < 0.0050$). Supplementation of resveratrol diminished the formation of atherosclerotic lesions. Likewise, oral supplementation of resveratrol may induce anti-atherosclerotic effects depending on its anti-inflammatory properties, suggesting its potential therapeutic value.

Key words: Interferon inducible protein-10, monocyte chemoattractant protein 1, chemokine, resveratrol, inflammation, atherosclerosis.

¹ 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

² Laboratorio Clínico Julio César González. Carabobo, Venezuela.

* Correspondencia: figueiraleticia@gmail.com

Introducción

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) representan una importante causa de mortalidad a nivel mundial (Chistiakov y col., 2016); de hecho, la aterosclerosis está involucrada en la patogénesis de las ECV; siendo la inflamación un importante mediador de la misma (Kolattukudy y Niu, 2012). Los monocitos / macrófagos tienen un papel esencial en la secuencia de eventos involucrados en la génesis y progresión de la aterosclerosis; pues las células de origen monocítico están presentes en las lesiones incipientes, las estrías grasas (Aiello y col., 1999). La fase inicial de la aterosclerosis está caracterizada por la adhesión focal de monocitos al endotelio y la subsecuente migración tras-endotelial a la pared de los vasos sanguíneos, donde potencian el proceso inflamatorio mediante la producción de mediadores inflama-torios, tales como las especies reactivas de oxígeno (ROS), factores de crecimiento, citoquinas y quimioquinas (Aiello y col., 1999). Se ha descrito que las quimioquinas determinan el tipo de célula inflamatoria que migran hacia la pared endotelial (Cheng y col., 2007).

El ligando 10 motivo C-X-C (CXCL10), también llamado proteína 10 inducida por interferón (IP-10), es una quimioquina secretada bajo la influencia del interferón gamma (IFN- γ) por una variedad de células como las endoteliales, fibroblastos, queratinocitos, monocitos y linfocitos T (van den Borne y col., 2014), y a la cual se le han descrito propiedades quimioatrayentes sobre células T y monocitos, efectos reguladores sobre la angiogénesis, y diferenciación de las células T vírgenes a células Th1 proinflamatorias (van den

Borne y col., 2014). Además, su secreción puede ser inducida por citoquinas proinflamatorias como el interferón alfa (IFN- α), interferón beta (IFN- β) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) (Ohmori y Hamilton, 1995). La evidencia experimental y clínica ha demostrado que tiene una importante participación en la patogénesis de las ECV, siendo un marcador asociado con enfermedad coronaria, hipertensión e insuficiencia cardíaca (Altara y col., 2016; Leavitt y col., 2020).

Por su parte, la proteína quimiotáctica de monocitos tipo 1 (MCP-1), además conocida como CCL2, es una de las quimioquinas más importantes que regula la migración e infiltración de monocitos, y está involucrada en la aterosclerosis; pues promueve el reclutamiento, migración y activación de células inflamatorias en las lesiones (Zhang y col., 2011). De hecho, el incremento de la expresión de la MCP-1 se ha detectado en las lesiones ateroscleróticas, pero no en las arterias no afectadas, lo cual sugiere su potencial papel en el reclutamiento de monocitos y en la progresión de esta enfermedad (Yla-Herttuala y col., 1991). Asimismo, sus niveles plasmáticos están asociados a factores de riesgo tradicionales para la aterosclerosis en la población en general y con ECV (Deo y col., 2004; de Lemos y col., 2007; Wiesner y col., 2013).

Estudios epidemiológicos y experimentales han sugerido que la ingesta de antioxidantes tales como el resveratrol está asociada con un reducido riesgo de ECV, e inclusive puede evitar y/o revertir la progresión de la aterosclerosis (Figueira y González, 2008a, 2008b; Figueira y col., 2010; Figueira y González, 2018; González y col., 2018;

Figueira y González, 2019; Ye y col., 2019; Zhou y col., 2019). El resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno) es un compuesto polifenólico no-flavonoide el cual podría 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*, disminuye el daño de las células endoteliales, atenúa el engrosamiento de la íntima media y reduce el tamaño de las lesiones ateroscleróticas, es capaz de producir vasodilatación tanto dependiente como independiente del endotelio, tiene acciones antioxidantes, modula la producción de óxido nítrico (NO), inhibe la producción de diversas citoquinas proinflamatorias y controla los niveles de colesterol plasmáticos, factores importantes en la aterogénesis (Labinsky y col., 2006; Park y col., 2009; Figueira, 2010; Zhou y col., 2019). A pesar de que la evidencia ha descrito importantes efectos anti-aterogénicos para el resveratrol, poco se conoce sobre el efecto que tiene la administración *in vivo* de esta fitoalexina sobre las concentraciones séricas de las quimioquinas IP-10 y MCP-1 durante la progresión y evolución de la aterosclerosis; aún más, se conoce todavía menos 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 IP-10 y MCP-1 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 ($25\pm 1^\circ\text{C}$) 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 (2 mg/Kg de peso corporal, vía oral). **Grupo 4:** Alimentados diariamente con dieta estándar, enriquecida con 0,5% p/p de colesterol y resveratrol mezclado en el alimento (2 mg/Kg de peso corporal, vía oral).

La dosis de resveratrol se seleccionó con base en estudios *in vivo* en conejos (Matos y col., 2012; Figueira y González, 2018; 2019), en los cuales el resveratrol posee efectos biológicos a dosis de 2 mg/Kg por vía oral. El resveratrol (3,5,4'-trihidroxi-trans-estilbeno) administrado a los conejos fue de origen natural (Sigma Aldrich).

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 siguieron las buenas prácticas para el manejo de animales de laboratorio del National Institute of Health (NIH Publications No. 8023, 1978).

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 en las semanas 0, 6ta y 12ma, 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 IP-10 y MCP-1 fueron determinadas por ensayo inmunoenzimático (Neo Biolab, Cambridge, Massachusetts, USA).

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

A la 6ta semana y al final del estudio la mitad de los animales de cada grupo fueron sacrificados por dislocación cervical; 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, para luego ser observadas por microscopía de luz. Las lesiones fueron tipificadas de acuerdo a la clasificación de la American Heart Association (Stary y col., 1995).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calculó el promedio y la desviación estándar para las variables estudiadas. Se realizaron las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov y 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 IP-10 y MCP-1 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 resume 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 observó 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 ($p < 0,0001$); sin embargo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones séricas de CT, c-HDL, c-LDL y TG en el grupo 4 con respecto al grupo 2 a lo largo del estudio (**Tabla I**).

CONCENTRACIONES SÉRICAS DE LAS QUIMIOQUINAS, IP-10 Y MCP-1.

Como se puede apreciar en las **figuras 1 y 2**, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones séricas basales de la IP-10 y MCP-1 entre los grupos de conejos

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 | | | | |
| 1 | 77 ± 10 | 41 ± 8 | 30 ± 7 | 71 ± 12 |
| 2 | 71 ± 13 | 38 ± 9 | 28 ± 6 | 70 ± 11 |
| 3 | 75 ± 11 | 40 ± 6 | 27 ± 8 | 74 ± 14 |
| 4 | 73 ± 11 | 39 ± 7 | 28 ± 7 | 71 ± 11 |
| 6ta semana | | | | |
| 1 | 77 ± 9 | 40 ± 9 | 29 ± 5 | 74 ± 14 |
| 2 | 668 ± 104* | 517 ± 75* | 76 ± 10* | 381 ± 112* |
| 3 | 79 ± 11 | 42 ± 8 | 28 ± 6 | 70 ± 9 |
| 4 | 656 ± 128# | 494 ± 78# | 71 ± 11# | 393 ± 109# |
| 12ma semana | | | | |
| 1 | 80 ± 9 | 41 ± 7 | 31 ± 5 | 68 ± 15 |
| 2 | 1185 ± 209* | 898 ± 76* | 81 ± 8* | 843 ± 101* |
| 3 | 77 ± 10 | 43 ± 9 | 29 ± 7 | 67 ± 14 |
| 4 | 1085 ± 224# | 856 ± 86# | 83 ± 9# | 797 ± 106# |
| Valores p | | | | |
| 1 | 0,7364 | 0,9264 | 0,5921 | 0,6380 |
| 2 | 0,0001 | 0,0001 | 0,0001 | 0,0001 |
| 3 | 0,7243 | 0,7217 | 0,9754 | 0,3970 |
| 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.

sujetos a estudio. Asimismo, dichas quimioquinas en los grupos 1 y 3 permanecieron sin cambios a lo largo del experimento; por su parte, los niveles de dichas proteínas 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 IP-10 y MCP-1 aumentaron en el grupo 2 con respecto al grupo 1 ($p < 0,0051$), y en el grupo 4 con respecto al grupo 3 ($p < 0,0051$). Sin embargo, en la duodécima semana se observó una disminución significativa de los niveles

Tabla II
Análisis de la correlación de Spearman
entre las concentraciones de la IP-10,
MCP-1 y el perfil lipídico

| | r | p |
|--------------|--------|--------|
| IP-10& CT | 0,6345 | 0,0001 |
| IP-10& c-LDL | 0,6455 | 0,0001 |
| IP-10& c-HDL | 0,6347 | 0,0001 |
| IP-10& TG | 0,6616 | 0,0001 |
| IP-10&MCP-1 | 0,5785 | 0,0001 |
| MCP-1& CT | 0,6189 | 0,0001 |
| MCP-1& c-LDL | 0,6782 | 0,0001 |
| MCP-1& c-HDL | 0,5815 | 0,0001 |
| MCP-1& TG | 0,5989 | 0,0001 |

c-HDL: Colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad, c-LDL: Colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad, CT: Colesterol total, IP-10: Proteína 10 inducida por interferón, MCP-1: Proteína quimiotáctica de monocitos tipo 1, TG: Triglicéridos.

de IP-10 y MCP-1 en el grupo 4 con respecto al grupo 2 ($p=0,0050$; $p=0,0051$, respectivamente).

En la **Tabla II** se muestra el análisis de Spearman de las correlaciones entre la concentración de IP-10 y MCP-1 entre sí, y con el perfil lipídico, evidenciando correlación positiva significativa entre el IP-10 con la MCP-1 y de estas quimioquinas con el perfil lipídico ($p<0,0001$).

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**).

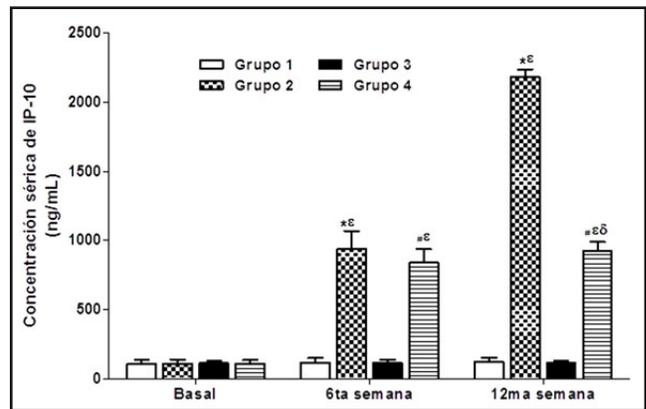


Figura 1. Efecto del resveratrol sobre las concentraciones sérica de IP-10 en los conejos sujetos a experimentación en la semana 0, 6ta y 12ma. Los resultados fueron expresados como la media \pm desviación estándar de la media. (N=12 basal y 6ta semana; N=6 en la 12ma semana). * $p<0,0051$ vs. grupo control (Grupo 1). # $p<0,0051$ vs. control resveratrol (Grupo 3). $\delta p=0,0050$ vs. Grupo 2. $\epsilon p<0,0001$ vs. su respectivo valor basal.

Discusión

Las quimioquinas son una familia de proteínas de bajo peso molecular, las cuales están involucradas en el tráfico

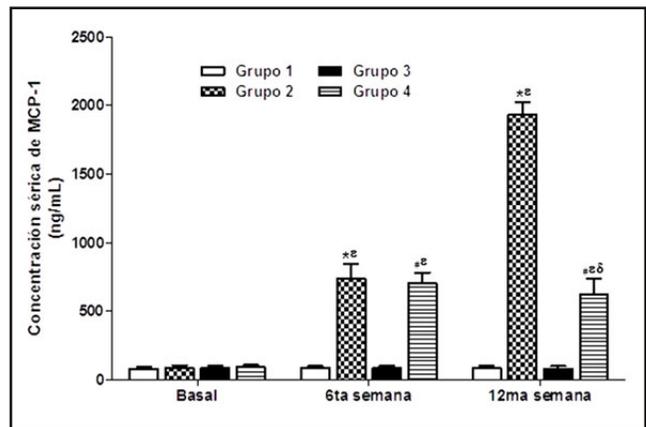


Figura 2. Efecto del resveratrol sobre las concentraciones sérica de MCP-1 en los conejos sujetos a experimentación en la semana 0, 6ta y 12ma. Los resultados fueron expresados como la media \pm desviación estándar de la media. (N=12 basal y 6ta semana; N=6 en la 12ma semana). * $p<0,0051$ vs. grupo control (Grupo 1). # $p<0,0051$ vs. control resveratrol (Grupo 3). $\delta p=0,0051$ vs. Grupo 2. $\epsilon p<0,0001$ vs. su respectivo valor basal.

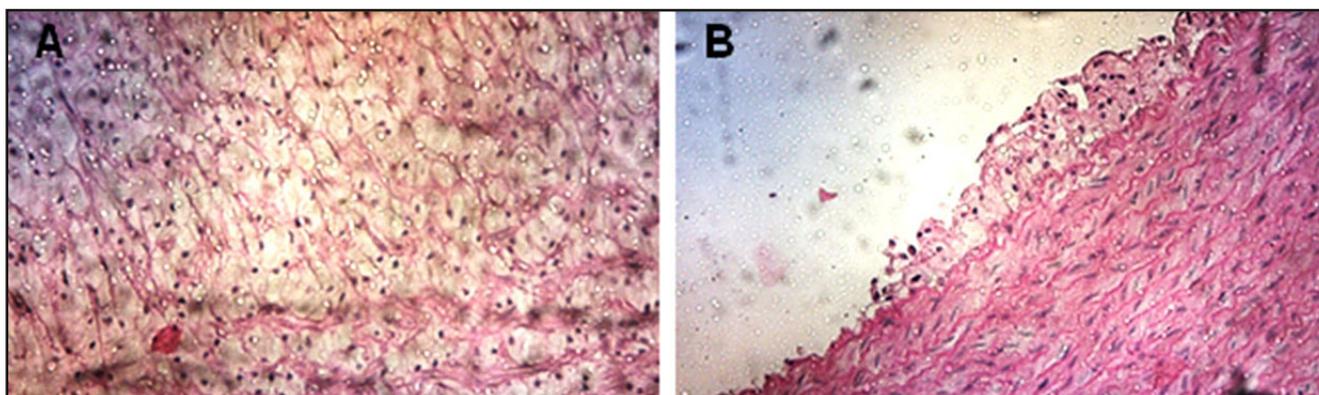


Figura 3. Cortes histológicos de las aortas de los conejos al final del estudio. Lesión tipo IV (Panel A). Se observa en la íntima arterial cúmulos de lípidos intracelulares y extracelulares en mayor extensión de un conejo perteneciente al grupo 2. Lesión tipo II (Panel B) de un conejo perteneciente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

de leucocitos hacia el sitio de inflamación, promoviendo la activación de diversas células; por lo que pueden actuar sobre otros tipos celulares como las endoteliales y las de músculo liso (Szentés y col., 2018). Se han identificado diferentes subgrupos de quimioquinas con base en su estructura molecular, las C, C-C, C-X3-C y C-X-C (van den Borne y col., 2014). Las quimioquinas C y C-C reclutan principalmente linfocitos y monocitos, respectivamente. La C-X3-C, la C-X3-CL1, fractalquina puede actuar como un quimio-atrayente para diferentes leucocitos y promueve la adhesión celular al endotelio activado. Por su parte, las quimioquinas C-X-C están involucradas en el tráfico de leucocitos, proliferación y motilidad de células endoteliales y musculares lisas (Schober, 2008; Zlotnik y Yoshie, 2012). Estas quimioquinas son secretadas por diferentes tipos de células como las endoteliales, musculares lisas, macrófagos y tejido adiposo perivascular; mediando la adhesión de leucocitos a las células endoteliales, así como su infiltración hacia la pared arterial, con implicaciones en el desarrollo de las ECV (Herder y col., 2006; Szentés y col., 2018).

La IP-10 es una quimioquina atrayente de linfocitos con propiedades angiostáticas, la cual induce la atracción de células inflamatorias como monocitos y

Tabla III
Distribución de los conejos según el máximo grado de ateroma encontrado en los cortes de aorta⁴⁰

| Grupos | 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 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| | 0% | 50% | 50% | 0% | 0% | 0% |
| 3 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 100% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% |
| 4 | 4 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 67% | 33% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Duodécima semana | | | | | | |
| 1 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 100% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 |
| | 0% | 0% | 0% | 0% | 100% | 0 |
| 3 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 100% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| | 33% | 17% | 33% | 17% | 0% | 0% |

Datos presentados como n (%).

linfocitos T; además induce la migración y proliferación de células endoteliales y de músculo liso (van den Borne y col., 2014). El IP-10 ejerce sus efectos principalmente mediante su unión al receptor CXCR3, y por vías independientes de este receptor (van den Borne y col., 2014). Por su parte, la MCP-1, es un polipéptido de 9.000-15.000 Da, miembro de la familia β de las citoquinas quimiotácticas que causa reclutamiento e infiltración de monocitos a la pared arterial, promoviendo la adhesión entre leucocitos y células endoteliales; por lo que constituye una quimioquina clave en el inicio y progresión de la inflamación vascular (Jia y col., 2019; Boisvert y col., 2000). Además, ejerce otros efectos, incluyendo la inducción del anión superóxido y la expresión de varios genes proinflamatorios (Aiello y col., 1999).

En el presente estudio se apreció un incremento significativo en las concentraciones séricas de las quimioquinas IP-10 y MCP-1 en los grupos de conejos alimentados con colesterol con respecto a los controles a partir de la 6ta semana de experimentación, lo cual sugiere y confirma el papel de estas moléculas en la fisiopatología de la aterosclerosis desde las primeras etapas de la enfermedad, y corrobora el posible papel de estas moléculas como mediadores y marcadores séricos tempranos de la aterosclerosis. En este sentido, otros estudios han confirmado el aumento de la expresión de estas quimioquinas en arterias afectadas con lesiones ateromatosas incipientes (Volger y col., 2007), sugiriendo la participación de estas moléculas desde las primeras fases de la aterosclerosis; pues las mismas están involucradas en la activación inflamatoria del endotelio vascular, favoreciendo el tráfico y

retención de leucocitos en la pared vascular (Spagnoli y col., 2007; Volger y col., 2007; Libby, 2012).

En este sentido, se ha demostrado la expresión de IP-10 en placas ateroscleróticas humanas en diversos estadios de la enfermedad (Mach y col., 1999), localizándose en células endoteliales, células de músculo liso y macrófagos (Mach y col., 1999; Cheng y col., 2007); de hecho, se ha descrito que la supresión de la expresión de IP-10 en ratones deficientes de apolipoproteína E (ApoE) ocasionó un fenotipo de placa más estable con menor activación de macrófagos (Segers y col., 2011), acompañado de una disminución en el tamaño y número de lesiones ateroscleróticas, en comparación a los ratones deficientes en ApoE, resultando en una menor cantidad de linfocitos T CD4+ acumulados en las lesiones con un simultáneo incremento de linfocitos T reguladores (T reg) (Veillard y col., 2005; Heller y col., 2006).

El papel del IP-10 en la patogénesis de la aterosclerosis aún no ha sido del todo comprendido, evidenciándose que las concentraciones de esta quimioquina incrementa en pacientes con un fenotipo de placa más vulnerable (Segers y col., 2011), que exhiben mayor cantidad de linfocitos Th1, células asesinas naturales (NK) y linfocitos T citotóxicos (CTL) y disminuidos niveles de T reg (Rohm y col., 2015). De igual manera, Niki y col., en el 2015 encontraron elevadas concentraciones plasmáticas de IP-10 en pacientes con enfermedad arterial coronaria con respecto a controles, sugiriendo que la IP-10 podría ser producida localmente en las lesiones ateroscleróticas coronarias, reflejando el grado de

inflamación local. Asimismo, Veillard y col., en el 2005, demostraron que la delección de CXCR3 suprime los primeros pasos de la aterosclerosis mediante el incremento de la expresión de moléculas antiinflamatorias e incrementado el número de linfocitos T reg en las lesiones ateroscleróticas en los ratones ApoE deficientes; además, la deficiencia de IP-10 inhibe la aterosclerosis mediante el cambio del balance de células T de un fenotipo de células T efectoras pro-inflamatoria a otro de células T reg en las lesiones ateroscleróticas (Heller y col., 2006); lo cual sugiere que la activación de CXCR3 por IP-10 es fundamental y crítico para el reclutamiento de linfocitos Th1 en el ateroma, pues el bloqueo o la delección del receptor inhibe de manera significativa las primeras fases de la aterogénesis (Mach y col., 1999; Okamoto y col., 2008).

Asimismo, la evidencia ha descrito que la IP-10 está involucrada en la severidad de las ECV (Altara y col., 2016), evidenciando mayores concentraciones séricas de IP-10 en pacientes con enfermedad de las arterias coronarias (Niki y col., 2015, Safa y col., 2016; Szentes y col., 2018). De hecho, se ha descrito que las concentraciones séricas de las citoquinas podrían servir como predictores independientes de eventos cardiovasculares isquémicos agudos y muerte cardiovascular (Canoui-Poitrine y col., 2011; de Jager y col., 2012), evidenciándose mayores niveles del mismo en pacientes que sufrieron infarto de miocardio con respecto a los controles y a pacientes con angina estable (Koten y col., 2008).

Por otra parte, evidencias experimentales y clínicas han demostrado que la

MCP-1 está involucrada en la patogénesis de la aterosclerosis, pues se ha descrito la expresión de esta proteína en placas ateroscleróticas humanas y en modelos animales desde las fases iniciales de la enfermedad (Takeya y col., 1993). De hecho, se ha descrito que el incremento de la expresión de la MCP-1 está estrechamente relacionado con el desarrollo de la aterosclerosis (Cui y col. 2017; Jia y col., 2019), siendo un mediador clave en las fases iniciales de la formación de la placa aterosclerótica (Cui y col., 2017). La delección de esta quimioquina en ratones que sobre-expresa la polipoproteína B (ApoB), ocasiona una reducción en la adhesión de monocitos y el tamaño de la lesión aterosclerótica (Gosling y col., 1999). Asimismo, ratones deficientes en MCP-1 y en el receptor de LDL o en ApoE mostraron una reducción del 80% en la formación de la placa aterosclerótica y una reducción en el número de macrófagos en las paredes de la aorta (Gu y col., 1998; Dawson y col., 1999; Zerneck y Weber, 2010). Por otra parte, Zhang y col., en el 2011, describieron aumento de la expresión de MCP-1 y su receptor, en aortas de ratones ApoE deficientes alimentados con dieta alta en colesterol, el cual se evidenció desde las fases tempranas, siendo su pico a la semana 10 y 12 del inicio de la dieta, respectivamente. Asimismo, mediante técnicas inmunohistoquímicas demostraron que la expresión temprana de MCP-1 se localizó en las células de músculo liso vascular; sin embargo, en las lesiones más avanzadas el incremento de la expresión de MCP-1 se observó tanto en las células de músculo liso vascular como en los macrófagos de la íntima arterial. Por su parte, durante la fase temprana (antes de la 4ta semana) de la expresión del MCP-1 en las células de músculo liso vascular, las proteínas c-

Jun y C-Fos de la proteína activadora 1 (AP-1), fueron altamente expresadas y observadas en el núcleo de dichas células; mientras que la p-65 perteneciente al factor nuclear κ -B (NF κ -B) se observó después de la 4ta semana de estudio, lo cual sugiere que la temprana expresión de esta quimioquina en células de músculo liso vascular de ratones ApoE deficientes alimentados con colesterol, parece ser dependiente de la vía AP-1 (Zhang y col., 2011).

De igual manera, estudios sugieren que la MCP-1 está involucrada en la patogénesis de las ECV, y sus concentraciones han demostrado encontrarse elevadas en condiciones como hipertensión, hipercolesterolemia y falla renal, y han demostrado tener valor pronóstico en las fases aguda y crónica en pacientes con síndrome coronario agudo (de Lemos y col., 2003; 2007); de hecho los niveles de MCP-1 están asociados con marcadores de riesgo bioquímicos de aterosclerosis en individuos con sobrepeso o con obesidad, encontrándose dichas concentraciones más elevadas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y en pacientes con intolerancia a la glucosa con respecto a sujetos no diabéticos; evidenciando además que los niveles séricos de MCP-1 se correlacionaron con mortalidad cardiovascular en dichos pacientes (Piemonti y col., 2009). Por lo tanto, nuestros hallazgos sugieren que el aumento en las concentraciones de IP-10 y MCP-1 observado en el presente estudio sugiere la existencia de un estado inflamatorio inducido por la dieta enriquecida con colesterol, la cual ocasionó lesiones ateroscleróticas de grado intermedio y avanzado. Asimismo, sugiere que tanto la MCP-1 como la IP-10 están involucradas desde las fases iniciales de la aterogénesis, teniendo

valor como marcadores tempranos, y corroborando además a la aterosclerosis como un proceso inflamatorio.

Por otra parte, nuestros datos arrojan una correlación positiva entre la IP-10 y MCP-1; y de ellas con el perfil lipídico, tal y como se ha descrito en otros estudios (Petrkova y col., 2004; Herder y col., 2006; Short y col., 2017). En este sentido, Short y col., en el 2017, demostraron que la administración de una dieta dislipidémica a ratones fue capaz de promover la quimiotaxis de macrófagos desde la 4ta semana de iniciada la dieta, lo cual se vio acompañado de cambios epigenéticos; demostrando que el estrés metabólico promueve la activación y quimiotaxis de estas células (Short y col., 2017). Adicionalmente, se ha descrito que la síntesis de MCP-1 es regulada hacia arriba por lípidos oxidados, como las lipoproteínas de baja densidad oxidada (LDLox) y por diversas citoquinas (Wiesner y col., 2013); por otra parte la evidencia ha demostrado que las LDLox se pueden unir a la MCP-1, y este complejo es capaz de reclutar monocitos (Wiesner y col., 2013), lo cual podría promover un círculo vicioso en inflamación vascular, favoreciendo la aterogénesis. Por lo tanto, se sugiere que el incremento de la concentración de los lípidos séricos podría contribuir a la instauración del proceso inflamatorio sistémico, el cual se ve acompañado del aumento de las quimioquinas encontrado a nivel periférico. Asimismo, el incremento en las concentraciones séricas de las quimioquinas observado en el presente estudio pudo ser inducido por el ambiente inflamatorio y oxidativo propio de la aterosclerosis, el cual a su vez promueve mayor inflamación.

Diversos estudios epidemiológicos y experimentales han demostrado los beneficios del resveratrol en las ECV (Ye y col., 2019; Zhou y col., 2019); sin embargo, el interés por esta molécula comenzó desde la década de los noventa, cuando se postulaba que esta sustancia encontrada en el vino tinto, tenía efectos cardioprotectores (Li y Förstermann, 2009), ya que el consumo bajo - moderado de vino tinto estaba asociado con disminución de la mortalidad, debido principalmente a disminución de enfermedades coronarias (Keys y col., 1986).

El resveratrol es una fitoalexina a la que se le ha demostrado una variedad de acciones farmacológicas en diversos sistemas biológicos, pues tiene efectos antioxidantes, anti-inflamatorios y anti-cancerígenos (Figueira, 2010). Además, la evidencia ha descrito efectos sobre el metabolismo de los lípidos y los carbohidratos, pues mejora el perfil lipídico, el metabolismo de lipoproteínas, el control glucémico y la sensibilidad a la insulina, siendo un candidato prometedor en la terapia de la diabetes mellitus tipo 2 y otras ECV (Bradamante y col., 2004; Hausenblas y col., 2015). Asimismo, se ha demostrado que el resveratrol ejerce otros efectos favorables a nivel cardiovascular, pues mejora la función endotelial tanto en ratas hipertensas, diabéticas como en sanas (Rush y col., 2007; Silan, 2008); lo cual indica el potencial de este compuesto para la promoción de la salud y la prevención de enfermedades.

En la presente investigación se demostró que bajo nuestras condiciones de estudio, la administración oral de resveratrol (2 mg/Kg de peso corporal) durante 12 semanas, disminuyó las concentraciones séricas de las

quimioquinas IP-10 y MCP-1, las cuales se evidenciaron a partir de la duodécima semana de estudio; sugiriendo el papel antiinflamatorio de esta fitoalexina. Asimismo, dicha reducción se vio acompañada de una disminución en la severidad y progresión de las lesiones ateroscleróticas (lesiones leves o inclusive su ausencia), lo cual corrobora la importancia de estas quimioquinas en la génesis de la aterosclerosis y sugiere el efecto antiinflamatorio como el responsable en parte del efecto antiaterogénico del resveratrol, al disminuir estas quimioquinas proinflamatorias.

En este sentido algunos trabajos han evaluado el efecto del resveratrol sobre la aterosclerosis *in vivo* (Matos y col., 2012; Figueira y González, 2018; 2019). Efectivamente, Matos y col. (2012) encontraron que la administración de resveratrol 2 mg/Kg/día durante 4 semanas y 1% colesterol en la dieta, inhibió la progresión de las lesiones ateroscleróticas y redujo la relación íntima/media en comparación al grupo no suplementado con resveratrol; de hecho, los animales pertenecientes al grupo resveratrol no presentaron lesiones avanzadas en la aorta (lesiones tipo I y II, o no presentaron lesiones). Asimismo, la dieta hipercolesterolémica causó el desarrollo de lesiones ateroscleróticas avanzadas (lesiones tipo III, IV y V) asociadas con un proceso inflamatorio; por su parte, el resveratrol redujo la expresión de MCP-1, la molécula de adhesión celular vascular tipo 1 (VCAM-1), e interleucina-6 (IL-6) en la íntima arterial de los conejos hipercolesterolémicos. De igual manera, estudios *in vitro* muestran que el resveratrol es capaz de bloquear la expresión de la nicotinamida dinucleótido fosfato oxidasa (NAD(P)H

oxidasa) y la MCP-1 inducida por lipopolisacárido (LPS) a través de la inhibición de la activación de la vía fosfatidilinositol 3-quinasa/quinasa serina/treonina Akt (PI3K/Akt) y no afectó la fosforilación de las quinasas reguladas por señales extracelulares (ERK) en línea celular de macrófagos; lo cual sugiere que la vía de señalización Akt es esencial para la expresión de la MCP-1 y Nox1 inducido por LPS, y que el resveratrol bloquea esta expresión mediante la inhibición de la activación de esta vía (Park y col., 2009); estos datos corroboran que la MCP-1 es un blanco farmacológico del resveratrol.

Hasta los momentos no existen evidencias del efecto del resveratrol sobre la IP-10 en la aterosclerosis; sin embargo, recientemente se demostró que el resveratrol disminuyó la producción de IP-10 en linfocitos activados por LPS *in vitro* (Schwager y col., 2017); por otra parte, en un estudio previo *in vivo* en el que se demostró la eficacia del tratamiento del resveratrol combinado con β -carboxi-metilglucano en aerosol administrado durante 7 días sobre el resfriado causado por Rinovirus humano en infantes, los investigadores no encontraron diferencias estadísticamente significativas en la expresión de IP-10 en secreciones nasofaríngeas entre los pacientes tratados con resveratrol combinado con β -carboxi-metilglucano con respecto al grupo placebo (SSF) después de las 48 horas y 30 días de iniciado el tratamiento (Fanelli y col., 2020). A pesar de que en dicho estudio no se apreció efecto sobre esta quimioquina, bajo nuestras condiciones experimentales el resveratrol redujo los niveles séricos del IP-10 a partir de la duodécima semana de estudio. Esta discrepancia puede obedecer a las

condiciones de estudio, dosis, frecuencia y duración del tratamiento con resveratrol y/o tiempo en el que se evaluó la expresión de dicha quimioquina; lo cual sugiere que el resveratrol posee efectos anti-inflamatorios, siendo el IP-10 uno de los blancos farmacológicos de las acciones anti-inflamatorias del resveratrol.

Los posibles mecanismos por los que el resveratrol pudo ejercer sus acciones antiaterogénicas son diversos. En este sentido, la evidencia científica ha demostrado que el resveratrol tiene efectos antiinflamatorios, pues inhibe la producción de TNF- α e IL-6 inducida por LPS *in vitro* en macrófagos e inhibe la activación de dos moléculas de inflamación importantes en la vías de señalización, ERK y el NF κ -B en cultivo de adipocitos (Kang y col., 2010). Asimismo, Chang y col. (2015) demostraron que la administración de resveratrol (25 mg/Kg) durante 56 días a ratones deficientes de apoE alimentados con una dieta hipercolesterolémica, ocasionó una disminución en la formación de lesiones ateroscleróticas que se vio acompañada en una reducción en la expresión y secreción de citoquinas proinflamatorias como la IL-6, y una disminución en la activación del factor de transcripción nuclear NF κ -B, sugiriendo que la inhibición en la liberación de citoquinas pudo ser debido a la supresión de la activación de dicho factor de transcripción. De igual manera, Liu y col. (2019) encontraron que el resveratrol oral (20 mg/Kg) administrado durante 4 semanas fue capaz de mejorar la función cardíaca y disminuyó la expresión de citoquinas y quimioquinas pro inflamatorias en un modelo murino de infarto de miocardio; evidenciando que la fitoalexina promueve la polarización de macrófagos M2

antiinflamatorios, lo cual podría estar relacionado a la fosforilación JAK/STAT3 (Liu y col., 2019). Por lo tanto, los efectos antiinflamatorios observados en el presente estudio pueden ser los responsables en parte de la acción antiaterogénica de este polifenol.

Adicionalmente, la administración oral del resveratrol no ocasionó una disminución de la concentración de los lípidos séricos, factor de riesgo relevante en la aterosclerosis. En este sentido, se ha descrito que los efectos del resveratrol sobre el perfil lipídico son controversiales; por un lado algunos estudios reportan efectos hipolipemiantes (Tanko y col., 2016); sin embargo, otros no reportan dicho beneficio (Sahebkar y col., 2015; Akbari y col., 2020), lo cual puede ser debido en parte a las características de la población tratada, dosis y duración del tratamiento. Además, la ausencia de esta propiedad puede ser en parte debida a la suplementación (exógena) de colesterol en la dieta de los animales. Por lo tanto, las propiedades beneficiosas del resveratrol para evitar la evolución y progresión de las lesiones aterosclerosis observadas en el presente estudio no obedecen a una mejora del perfil lipídico, pues no se evidenciaron efectos hipolipemiantes; por el contrario, pareciera deberse en parte a sus acciones antiinflamatorias al inhibir la expresión y secreción de las quimioquinas, IP-10 y MCP-1; quimioquinas relevantes en el inicio y progresión de la aterosclerosis.

En conclusión, bajo nuestras condiciones de estudio se pudo apreciar que las quimioquinas, IP-10 y MCP-1 son marcadores séricos, no invasivos, tempranos de aterosclerosis. Esto refuerza y corrobora el papel de la infla-

mación en la fisiopatología de esta enfermedad. Asimismo, los resultados del presente estudio soportan la noción que el resveratrol puede inducir efectos antiaterogénicos dependientes de sus propiedades anti-inflamatorias al disminuir las concentraciones séricas de dichas quimioquinas, sugiriendo el potencial valor terapéutico que tiene el resveratrol como un agente antiaterogénico en humanos.

Referencias bibliográficas

- Aiello R, Bourassa P, Lindsey S, Weng W, Natoli E, Rollins B, Milos P. 1999. Monocyte chemoattractant protein-1 accelerates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19(6): 1518–1525.
- Akbari M, Tamtaji O, Lankarani K, Tabrizi R, Dadgostar E, Haghghat N, Kolahdooz F, Ghaderi A, Mansournia M, Asemi Z. 2020. The effects of resveratrol on lipid profiles and liver enzymes in patients with metabolic syndrome and related disorders: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Lipids Health Dis* 19: 25. doi.org/10.1186/s12944-020-1198-x.
- Altara R, Manca M, Brandão RD, Zeidan A, Booz GW, Zouein FA. 2016. Emerging importance of chemokine receptor CXCR3 and its ligands in cardiovascular diseases. *Clin Sci (Lond)* 130(7): 463–478.
- Baldassarre M, Di Mauro A, Labellarte G, Pignatelli M, Fanelli M, Schiavi E, Mastromarino P, Capozza M, Panza R, Laforgia N. 2020. Resveratrol plus carboxymethyl- β -glucan in infants with common cold: A randomized double-blind trial. *Heliyon* 6(4): e03814, 7 pp.
- Boisvert W, Curnss L, Terkeltaub R. 2000. Interleukin-8 and its receptor CXCR2 in atherosclerosis. *Immunol Res* 21(2-3): 129–137.
- Bradamante S, Barenghi L, Villa A. 2004. Cardiovascular protective effects of resveratrol. *Cardiovasc Drug Rev* 22(3): 169–188.

- Canoui-Poitrine F, Luc G, Mallat Z, Machez E, Bingham A, Ferrieres J, Ruidavets JB, Montaye M, Yarnell J, Haas B, Arveiler D, Morange P, Kee F, Evans A, Amouyel P, Ducimetiere P, Empana JP, PRIME Study Group. 2011. Systemic chemokine levels, coronary heart disease, and ischemic stroke events: the PRIME study. *Neurology* 77(12): 1165–1173.
- Chang G, Chen P, Hou P, Mao F. 2015. Resveratrol protects against diet-induced atherosclerosis by reducing low-density lipoprotein cholesterol and inhibiting inflammation in apolipoprotein E-deficient mice. *Iran J Basic Med Sci* 18(11): 1063–1071.
- Cheng C, Tempel D, van Haperen R, de Boer H, Segers D, Huisman M, van Zonneveld A, Leenen P, van der Steen A, Serruys P, de Crom R, Krams R. 2007. Shear stress-induced changes in atherosclerotic plaque composition are modulated by chemokines. *J Clin Invest* 117(3): 616–626.
- Chistiakov D, Bobryshev Y, Orekhov A. 2016. Macrophage-mediated cholesterol handling in atherosclerosis. *J Cell Mol Med* 20(1): 17–28.
- Cui S, Li W, Lv X, Wang P, Gao Y, Huang G. 2017. Folic acid supplementation delays atherosclerotic lesion development by modulating MCP1 and VEGF DNA methylation levels *in vivo* and *in vitro*. *Int J Mol Sci* 18(5): 990. doi:10.3390/ijms18050990.
- Dawson TC, Kuziel WA, Osahar TA, Maeda N. 1999. Absence of CC chemokine receptor-2 reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis* 143(1): 205–211.
- de Jager S, Bongaerts B, Weber M, Kraaijeveld AO, Roush M, Dimmeler S, van Dieijen-Visser MP, Cleutjens KB, Nelemans PJ, van Berkel TJ, Biessen EA. 2012. Chemokines CCL3/MIP1 α , CCL5/RANTES and CCL18/PARC are independent risk predictors of short-term mortality in patients with acute coronary syndromes. *PLoS One* 7(9): e45804.
- de Lemos JA, Morrow DA, Blazing MA, Jarolim P, Wiviott SD, Sabatine MS, Califf RM, Braunwald E. 2007. Serial measurement of monocyte chemoattractant protein-1 after acute coronary syndromes: results from the A to Z trial. *J Am Coll Cardiol* 50(22): 2117–2124.
- de Lemos JA, Morrow DA, Sabatine MS, Murphy SA, Gibson CM, Antman EM, McCabe CH, Cannon CP, Braunwald E. 2003. Association between plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1 and long-term clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 107(5): 690–695.
- Deo R, Khera A, McGuire D, Murphy S, Neto J, Morrow D, de Lemos J. 2004. Association among plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1, traditional cardiovascular risk factors, and subclinical atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 44(9): 1812–1818.
- Figueira L. El Resveratrol. 2010. 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. *Acta Cient Soc Venez Bioanalistas Esp* 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. 2019. Efecto del resveratrol sobre la pentraxina 3 sérica en la aterosclerosis. Pentraxina 3 como marcador de aterosclerosis. *Rev Fac Farm (UCV)* 82(1y2): 97–109.
- Figueira L, González J, Armas 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): 19–24.
- González J, El Basset A, Pascuas R, Severino S, Perdomo M, Bayone J, Navarro M, Figueira L. 2018. Efecto del resveratrol sobre marcadores séricos de inflamación durante la aterosclerosis Papel de la interleucina-17 e interleucina-33. *Rev Fac Farm (UCV)* 81(1y2): 25–40.

- Gosling J, Slaymaker S, Gu L, Tseng S, Zlot C, Young S, Rollins BJ, Charo IF. 1999. MCP-1 deficiency reduces susceptibility to atherosclerosis in mice that overexpress human apolipoprotein B. *J Clin Invest* 103(6): 773–778.
- Gu L, Okada Y, Clinton SK, Gerard C, Sukhova GK, Libby P, Rollins BJ. 1998. Absence of monocyte chemoattractant protein-1 reduces atherosclerosis in low density lipoprotein receptor-deficient mice. *Mol Cell* 2(2): 275–281.
- Hausenblas HA, Schoulda JA, Smoliga JM. 2015. Resveratrol treatment as an adjunct to pharmacological management in type 2 diabetes mellitus-systematic review and meta-analysis. *Mol Nutr Food Res* 59(1): 147–159.
- Heller E, Liu E, Tager A, Yuan Q, Lin AY, Ahluwalia N, Jones K, Hoehn SL, Lok VM, Aikawa E, Moore KJ, Luster AD, Gerszten RE. 2006. Chemokine CXCL10 promotes atherogenesis by modulating the local balance of effector and regulatory T cells. *Circulation* 113(19): 2301–2312.
- Herder C, Baumert J, Thorand B, Martin S, Löwel H, Kolb H, Koenig W. 2006. Chemokines and incident coronary heart disease: results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study, 1984–2002. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 26(9): 2147–2152.
- Kang L, Heng W, Yuan A, Baolin L, Fang H. 2010. Resveratrol modulates adipokine expression and improves insulin sensitivity in adipocytes: Relative to inhibition of inflammatory responses. *Biochimie* 92(7): 789–796.
- Keys A, Mienotti A, Karvonen MJ, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Djordjevic BS, Dontas AS, Fidanza F, Keys MH, Kromhout D, Nedeljkovic S, Punsar S, Seccareccia F, Toshima H. 1986. The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am J Epidemiol* 124(6): 903–915.
- Kolattukudy P, Niu J. 2012. Inflammation, endoplasmic reticulum stress, autophagy and MCP-1/CCR2 pathway. *Circ Res* 110(1): 174–189. doi: 10.1161/ CIRCRESAHA.111.243212.
- Koten K, Hirohata S, Miyoshi T, Ogawa H, Usui S, Shinohata R, Iwamoto M, Kitawaki T, Kusachi S, Sakaguchi K, Ohe T. 2008. Serum interferon-gamma-inducible pro-teín 10 levels was increased in myocardial infarction patients, and negatively correlated with infarct size. *Clin Biochem* 41(1-2): 30–37.
- Jia S, Yang S, Du P, Gao K, Cao Y, Yao B, Guo R and Zhao M. 2019. Regulatory Factor X1 Downregulation contributes to monocyte chemoattractant Protein-1 overexpression in CD14+ monocytes via epigenetic mechanisms in coronary heart disease. *Front Genet* 10: 1098. doi: 10.3389/fgene.2019.01098.
- 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.
- Leavitt C, Zakai NA, Auer P, Cushman M, Lange EM, Levitan EB, Olson N, Thornton T, Tracy R, Wilson J, Lange L, Reiner A, Raffield L. 2020. Interferon gamma-induced protein 10 (IP-10) and cardiovascular disease in African Americans. *PLoS One* 15(4): e0231013.
- Li H, Förstermann U. 2009. Resveratrol: A multifunctional compound improving endothelial function. *Cardiovasc Drugs Ther* 23(6): 425–429.
- Libby P. 2012. Inflammation in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 32(9): 2045–2051.
- Liu S, Du Y, Shi K, Yang Y, Yang Z. 2019. Resveratrol improves cardiac function by promoting M2-like polarization of macrophages in mice with myocardial infarction. *Am J Transl Res* 11(8): 5212–5226.
- Mach F, Sauty A, Iarossi AS, Sukhova GK, Neote K, Libby P, Luster AD. 1999. Differential expression of three t lymphocyte-activating CXC chemokines by human atheroma-associated cells. *J Clin Invest* 104(8): 1041–1050.
- 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.
- NIH Guide for Grants and Contracts Vol . 7, No. 18, November 27, 1978 Page One Guide for the care and use of laboratory animals.
- Niki T, Soeki T, Yamaguchi K, Taketani Y, Yagi S, Iwase T, Yamada H, Wakatsuki T, Shimabukuro M, Sata

- M. 2015. Elevated concentration of interferon-inducible protein of 10 kD (IP-10) is associated with coronary atherosclerosis. *Int Heart J* 56(3): 269–272.
- Ohmori Y, Hamilton T. 1995. The interferon-stimulated response element and a κ B site mediate synergistic induction of murine IP-10 gene transcription by IFN- γ and TNF- α . *J Immunol* 154(10): 5235–5244.
- Okamoto Y, Folco EJ, Minami M, Wara AK, Feinberg MW, Sukhova GK, Colvin RA, Kihara S, Funahashi T, Luster AD, Libby P. 2008. Adiponectin inhibits the production of CXC receptor 3 chemokine ligands in macrophages and reduces T-lymphocyte recruitment in atherogenesis. *Circ Res* 102(2): 218–225.
- 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.
- Petrkova J, Szotkowska J, Hermanova Z, Lukl J, Petrek M. 2004. Monocyte chemo-attractant protein-1 in patients with peripheral arterial disease. *Mediators Inflamm* 13(1): 39–43.
- Piemonti L, Calori G, Lattuada G, Mercalli A, Ragogna F, Garancini M, Ruotolo G, Luzi L, Perseghin G. 2009. Association between plasma monocyte chemoattractant protein-1 concentration and cardiovascular disease mortality in middle-aged diabetic and nondiabetic individuals. *Diabetes Care* 32(11): 2105–2110.
- Rasmusen C, Moinard C, Martin C, Tricottet V, Cynober L, Couderc R. 2007. L arginine plus atorvastatin for prevention of atheroma formation in genetically hypercholesterolaemic rabbits. *Br J Nutr* 97(6): 1083–1089.
- Rohm I, Atiskova Y, Drobnik S, Fritzenwanger M, Kretzschmar D, Pistulli R, Zanow J, Krönert T, Mall G, Figulla HR, Yilmaz A. 2015. Decreased regulatory T cells in vulnerable atherosclerotic lesions: imbalance between pro- and anti-inflammatory cells in atherosclerosis. *Mediators Inflamm* 364710, 13 pp.
- Rush J, Quadrilatero J, Levy AS, Ford RJ. 2007. Chronic resveratrol enhances endothelium-dependent relaxation but does not alter eNOS levels in aorta of spontaneously hypertensive rats. *Exp Biol Med (Maywood)* 232(6): 814–822.
- Safa A, Rashidinejad H, Khalili M, Dabiri S, Nemati M, Mohammadi M, Jafarzadeh A. 2016. Higher circulating levels of chemokines CXCL10, CCL20 and CCL22 in patients with ischemic heart disease. *Cytokine* 83: 147–157.
- Sahebkar A, Serban C, Ursoniu S, Wong ND, Muntner P, Graham IM, Mikhailidis D, Rizzo M, Rysz J, Sperling L, Lip G, Banach M, Lipid and Blood Pressure Meta-analysis Collaboration Group. 2015. Lack of efficacy of resveratrol on C-reactive protein and selected cardiovascular risk factors—results from a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Cardiol* 189: 47–55.
- Schober A. 2008. Chemokines in vascular dysfunction and remodeling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 28(11): 1950–1959.
- Schwager J, Richard N, Widmer F, Raederstorff D. 2017. Resveratrol distinctively modulates the inflammatory profiles of immune and endothelial cells. *BMC Complement Altern Med* 17(1): 309. doi: 10.1186/s12906-017-1823-z.
- Segers D, Lipton J, Leenen P, Cheng C, Tempel D, Pasterkamp G, Moll F, de Crom R, Krams R. 2011. Atherosclerotic plaque stability is affected by the chemokine CXCL10 in both mice and humans. *Int J Inflam* 936109.
- Short JD, Tavakoli S, Nguyen HN, Carrera A, Farnen C, Cox LA, Asmis R. 2017. Dyslipidemic diet-induced monocyte “priming” and dysfunction in non-human primates is triggered by elevated plasma cholesterol and accompanied by altered histone acetylation. *Front Immunol* 8: 958. doi: 10.3389/fimmu.2017.00958.
- Silan C. 2008. The effects of chronic resveratrol treatment of vascular responsiveness of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Pharm Bull* 31(5): 897–902.
- Spagnoli L, Bonanno E, Sangiorgi G, Mauriello A. 2007. Role of inflammation in atherosclerosis. *J Nucl Med* 48(11): 1800–1815.
- Stary H, Chandler A, Dinsmore R, Fuster V, Glagov S, Insull W, Rosenfeld M, Schwartz C, Wagner W, Wissler 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, American Heart Association. *Circulation* 92(5): 1355–1374.
- Szentes V, Gazdag M, Szokodi I, Dézsi CA. 2018. The role of CXCR3 and associated chemokines in the development of atherosclerosis and during myocardial infarction. *Front Immunol* 9: 1932. doi: 10.3389/fimmu.2018.01932.
- Takeya M, Yoshimura T, Leonard E, Takahashi K. 1993. Detection of monocyte chemoattractant protein-1 in human atherosclerotic lesions by an anti-monocyte chemoattractant protein-1 monoclonal antibody. *Hum Pathol* 24(5): 534–539.
- 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.
- Veillard N, Steffens S, Pelli G, Lu B, Kwak B, Gerard C, Charo I, Mach F. 2005. Differential influence of chemokine receptors CCR2 and CXCR3 in development of atherosclerosis *in vivo*. *Circulation* 112(6): 870–878.
- Volger O, Fledderus J, Kisters N, Fontijn R, Moerland P, Kuiper J, van Berkel T, Bijmens A, Daemen M, Pannekoek H, Horrevoets A. 2007. Distinctive expression of chemokines and transforming growth factor- β signaling in human arterial endothelium during atherosclerosis. *Am J Pathol* 171(1): 326–337.
- van den Borne P, Quax P, Hoefer I, Pasterkamp G. 2014. The multifaceted functions of CXCL10 in cardiovascular disease. *BioMed Res Int* 893106, 11 pp- doi.org/10.1155/2014/893106.
- Wiesner P, Tafelmeier M, Chittka D, Choi S, Zhang L, Byun Y, Almazan F, Yang X, Iqbal N, Chowdhury P, Maisel A, Witztum J, Handel T, Tsimikas S, Miller Y. 2013. MCP-1 binds to oxidized LDL and is carried by lipoprotein(a) in human plasma. *J Lipid Res* 54(7): 1877–1883.
- Ye G, Chen G, Gao H, Lin Y, Liao X, Zhang H, Liu X, Chi Y, Huang Q, Zhu H, Fan Y, Dong S. 2019. Resveratrol inhibits lipid accumulation in the intestine of atherosclerotic mice and macrophages. *J Cell Mol Med* 23(6): 4313–4325.
- Ylä-Herttuala S, Lipton BA, Rosenfeld ME, Särkioja T, Yoshimura T, Leonard EJ, Witztum JL, Steinberg D. 1991. Expression of monocyte chemoattractant protein 1 in macrophage-rich areas of human and rabbit atherosclerotic lesions. *Proc Natl Acad Sci USA* 88(12): 5252–5256.
- Zernecke A, Weber C. 2010. Chemokines in the vascular inflammatory response of atherosclerosis. *Cardiovasc Res* 86(2): 192–201.
- Zhang S, Wang X, Zhang L, Yang X, Pan J, Ren G. 2011. Characterization of monocyte chemoattractant proteins and CC chemokine receptor 2 expression during atherogenesis in apolipoprotein E-null mice. *J Atheroscler Thromb* 18(10): 846–856.
- 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.
- Zhou X, Yang J, Zhou M, Zhang Y, Liu Y, Hou P, Zeng X, Yi L, Mi M. 2019. Resveratrol attenuates endothelial oxidative injury by inducing autophagy via the activation of transcription factor EB. *Nutr Metab (Lond)* 16: 42. doi.org/10.1186/s12986-019-0371-6.
- Zlotnik A, Yoshie O. 2012. The chemokine superfamily revisited. *Immunity* 36(5): 705–716.

Recibido: 29/05/2020
Aceptado: 22/06/2020