



# Efecto antiinflamatorio y antioxidante del resveratrol en la aterosclerosis. Papel de la molécula de adhesión celular endotelial plaquetaria 1

Anti-inflammatory and antioxidant effect of resveratrol on atherosclerosis. Role of platelet endothelial cell adhesion molecule 1

LETICIA FIGUEIRA<sup>1</sup>, JULIO CÉSAR GONZÁLEZ<sup>1,2</sup>

## Resumen

La molécula de adhesión celular endotelial plaquetaria 1 (PECAM-1) es una glicoproteína con diversas funciones en la biología vascular que está involucrada en la fisiopatología de la aterosclerosis. El resveratrol es un polifenol con propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. En el presente estudio se evaluó el efecto del resveratrol sobre los niveles séricos de PECAM-1 y los productos de peroxidación lipídica que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBARS) y su evolución en el tiempo en conejos alimentados con una dieta enriquecida con colesterol. 40 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 (2mg/Kg). Grupo 4: Conejarina suplementada con 0,5% colesterol y resveratrol. Se realizaron determinaciones séricas de colesterol y sus fracciones, PECAM-1 y TBARS al inicio, 6ta, y 12ma semana de experimentación. La mitad de los conejos fueron sacrificados a la 6ta y 12ma semana y se realizó estudio histológico de su aorta. Se encontró un aumento de los niveles séricos de PECAM-1 y TBARS en los grupos 2 y 4 desde la 6ta semana de experimentación con respecto a los grupos 1 y 3, respectivamente ( $p < 0,005$ ). Desde la sexta semana, el resveratrol inhibió el aumento de las concentraciones de PECAM-1 inducida por la dieta enriquecida con colesterol ( $p < 0,005$ ). En la duodécima semana se observó que el resveratrol revirtió el aumento de los niveles de TBARS inducido por la dieta enriquecida con colesterol ( $p = 0,004$ ). El tratamiento con resveratrol disminuyó la formación de ateromas. En conclusión, la PECAM-1 y TBARS son marcadores séricos de aterosclerosis; corroborando el papel de la inflamación y estrés oxidativo en la fisiopatología de esta enfermedad. Asimismo, la suplementación oral de resveratrol puede inducir efectos antiaterogénicos dependientes de sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes.

**Palabras clave:** Molécula de adhesión celular endotelial plaquetaria 1, resveratrol, inflamación, estrés oxidativo, aterosclerosis

## Abstract

Platelet endothelial cell adhesion molecule 1 (PECAM-1) is a glycoprotein with vascular functions and are involved in atherosclerosis. Resveratrol is a polyphenol and has anti-inflammatory and antioxidant actions. We evaluated the effect of resveratrol on serum concentrations of PECAM-1 and thiobarbituric acid-reactive lipid peroxidation products (TBARS) during the progression and evolution of atherosclerosis and its evolution over time in rabbits fed with a cholesterol diet. 40 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 (2mg/Kg). Group 4: Cholesterol diet (0.5% cholesterol) and resveratrol (2mg/Kg). Blood samples of overnight-fasted rabbits were collected on basal, sixth and twelfth weeks, and concentration of lipid profile, PECAM-1 and TBARS were determined. Half of the animals were sacrificed on sixth or on twelfth week, and the aorta was dissected for histological studies. Our findings demonstrated that the PECAM-1 and TBARS levels were significantly higher in Groups 2 and 4 than groups 1 and 3, respectively since on 6th week ( $p < 0.005$ ). Resveratrol treatment reversed the increased levels of PECAM-1 induced by cholesterol diet on 6th week ( $p < 0.005$ ). Resveratrol treatment reversed the increased levels of TBARS induced by cholesterol diet on 12th week ( $p = 0.004$ ). Supplementation of resveratrol diminished the formation of atherosclerotic lesions. These results support that serum PECAM-1 and TBARS levels are markers of atherosclerosis. Likewise, oral supplementation of resveratrol may induce anti-atherosclerotic effects depending on its anti-inflammatory and antioxidants properties.

**Keywords:** Platelet endothelial cell adhesion molecule 1, resveratrol, inflammation, oxidative stress, 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.

Correspondencia: [figueiraleticia@gmail.com](mailto:figueiraleticia@gmail.com). Orcid: [0000-0003-3865-5355](https://orcid.org/0000-0003-3865-5355) 2. Laboratorio Clínico Julio César González. Carabobo – Venezuela. Orcid: [0000-0003-1980-5848](https://orcid.org/0000-0003-1980-5848)

DOI: [10.54305/RFFUCV.2022.85.1-2.6](https://doi.org/10.54305/RFFUCV.2022.85.1-2.6)

Disponibile: [http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev\\_ff](http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ff)

Recepción: 29/05/2022

Aprobación: 06/06/2022

Rev. Fac. Farmacia 85(1y2): 51-66. 2022

## Introducción

La aterosclerosis es una enfermedad inmunoinflamatoria crónica y degenerativa de la pared de las arterias, caracterizada por el reclutamiento de monocitos, formación de células espumosas y lesiones complejas con proliferación de células musculares lisas, núcleo necrótico, cristales de colesterol y calcificación; donde la inflamación y el estrés oxidativo juegan un papel importante (Libby, 2002). La migración transendotelial de leucocitos es un evento clave en los procesos inflamatorios y en la aterosclerosis, el cual es mediado y controlado por diferentes moléculas activadoras y vías de señalización (Woodfin y col., 2007). A pesar de que la aterosclerosis está asociada a factores de riesgo clásicos de enfermedad cardiovascular (ECV), las lesiones ateroscleróticas se desarrollan de manera preferente en regiones de flujo perturbado, caracterizados por una tensión de cizallamiento, lo cual promueve distintos fenotipos pro o antiaterogénicos (Hastings y col., 2007; Harry y col., 2008; Xia y col., 2021).

Se ha sugerido que un complejo mínimo necesario para la respuesta al estrés de cizallamiento de las células endoteliales requiere de la molécula de adhesión celular endotelial plaquetaria 1 (PECAM-1, CD31), la cadherina endotelial vascular (VE-cadherina) y el receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR2) (Tzima y col., 2005); en donde el PECAM-1 detecta la fuerza ejercida por el flujo sanguíneo sobre las células endoteliales conllevando la activación transendotelial del VEGFR2, el cual desencadena la activación conformacional de las integrinas, seguido de la estimulación del factor de transcripción nuclear  $\kappa$ -B (NF- $\kappa$ B), responsable de la expresión de moléculas de adhesión celular, citoquinas y quimioquinas pro-inflamatorias (Harry y col., 2008).

La PECAM-1 es una glicoproteína transmembrana que pertenece a la superfamilia de inmunoglobulinas (Ig), que está presente sobre la superficie de plaquetas, células endoteliales, monocitos neutrófilos y linfocitos (Soriano y col., 2021), la cual es una molécula de señalización, y tiene además diversas funciones en la biología vascular; pues participa en la angiogénesis, función plaquetaria, trombosis, es un sensor mecánico al estrés por cizallamiento, y participa en la regulación de la migración de leucocitos (Woodfin y col., 2007); de hecho estudios *in vitro* e *in vivo* indican que la PECAM-1 está implicada en la migración transendotelial de los leucocitos, evento clave en la aterogénesis (Muller y col., 1993; Vaporciyan y col., 1993). De igual manera, juega un relevante papel en la regulación de los procesos trombóticos; pues se ha descrito que el aumento de su expresión y actividad está asociada a la inhibición de la formación de trombos (Jones y col., 2009); de hecho, se ha reportado que ratones deficientes en esta proteína exhiben un fenotipo protrombótico (Falati y col., 2006). Por otra parte, la PECAM-1 regula la actividad de las plaquetas (Marcinczyk y col., 2021), pues se ha encontrado que las interacciones plaquetas – células endoteliales contribuyen en la aterogénesis; ya que las plaquetas adheridas potencialmente aceleran la aterosclerosis mediante el reclutamiento de leucocitos, los cuales sirven como una fuente de citoquinas proinflamatorias y activación del inflammasoma, suprimiendo la resolución de la inflamación (Barrett y col., 2019; Rolfes y col., 2020; Brown y col., 2021).

Durante las últimas décadas diversos estudios han examinado el papel del estrés oxidativo sobre la aterogénesis (Kattoor y col., 2017; Forman y col., 2021). En este

sentido, ha sido ampliamente demostrado que la función endotelial se encuentra alterada desde los estadios más tempranos de la aterosclerosis; de hecho, se cree que la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) induce la disfunción endotelial, paso inicial de la aterogénesis, puesto que el estrés oxidativo conlleva la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), la inactivación del óxido nítrico (NO), la expresión de genes inflamatorios redox sensibles, como la molécula de adhesión celular vascular -1 (VCAM-1), proteína quimiotáctica de monocitos -1 (MCP-1), entre otros. Todos estos cambios inducen la alteración en la estructura y función de las células endoteliales y contribuyen a la iniciación de la aterosclerosis (Kondo y col., 2009, Vogiatzi y col., 2009; Kattoor y col., 2017; Alonso-Piñeiro y col., 2021). Sin embargo, estudios epidemiológicos y experimentales han sugerido que la ingesta de antioxidantes está asociada con un reducido riesgo de ECV (Figueira y col., 2018, 2019, 2020; Forman y col., 2021; Jiménez y col., 2021), lo cual sugiere la importancia del estrés oxidativo en la fisiopatología de esta enfermedad.

El resveratrol (3',5,4' - trihidroxiestilbeno) es un polifenol estilbeno presente en muchas plantas, frutas y vegetales como las uvas, bayas, ciruelas y nueces, el cual ha llamado la atención por sus efectos antioxidantes, antiangiogénicos, inmunomoduladores, antimicrobianos, antidiabéticos, anticancerígenos y en la prevención de las ECV (Figueira, 2010; Zhang y col., 2021). Diferentes evidencias indican que el resveratrol podría ser beneficioso para prevenir el inicio y progresión de la aterosclerosis (Zghonda y col., 2011), pues inhibe la oxidación de las LDL, suprime la agregación plaquetaria,

inhibe la proliferación de células de músculo liso vascular, disminuye el daño de las células endoteliales, atenúa el engrosamiento de la íntima media y reduce el tamaño de las lesiones ateroscleróticas, modula la producción de NO, inhibe la producción de MCP-1 y controla los niveles de colesterol plasmáticos, factores importantes en la aterogénesis (Labinskyy y col., 2006, Wu y col., 2011; Banez y col., 2020; Meza-Torres y col., 2020). El resveratrol además puede conferir vasculoprotección mediante la regulación de la expresión de genes pro-inflamatorios y pro-aterogénicos en las células endoteliales (Labinskyy y col., 2006), pues puede afectar la vía del NF- $\kappa$ B, regulando la respuesta inmune; además, regula la diferenciación, crecimiento y proliferación celular mediante la inhibición de la vía PI3K/Akt (Zhang y col., 2021). A pesar de la evidencia descrita, se desconoce los efectos del resveratrol sobre los niveles séricos de PECAM-1 en modelo de aterosclerosis *in vivo*, y la relación del PECAM-1 con el estrés oxidativo; 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 del PECAM-1 y los productos de peroxidación lipídica que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBARS) 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 40 conejos machos de la raza Nueva Zelanda de 12 semanas de edad con un peso entre 1.200 a 1.300 gramos, provenientes del Bioterio

del Instituto de Higiene "Rafael Rangel" (Caracas, Venezuela). Los animales fueron mantenidos en jaulas a temperatura ambiente ( $25 \pm 1$  °C) con ciclos de 12 horas luz/oscuridad. Después de una semana de ambientación en el Bioterio Experimental de la Universidad de Carabobo (Valencia, Venezuela), los conejos fueron divididos aleatoriamente en 4 grupos de 10 conejos cada uno, organizados de la siguiente manera: Grupo 1 (Control): Los cuales fueron alimentados diariamente con conejarina comercial (Protinal, Venezuela). Grupo 2 (Colesterol): Alimentados diariamente con conejarina comercial suplementada con 0,5% p/p de colesterol. Grupo 3 (Control-resveratrol): Alimentados diariamente con conejarina comercial y suplementados con resveratrol (2mg/Kg de peso corporal, vía oral). Grupo 4 (Colesterol-resveratrol): Alimentados diariamente con conejarina comercial suplementada con 0,5% p/p de colesterol y resveratrol (2mg/Kg de peso corporal, vía oral).

La dosis de resveratrol se seleccionó con base en estudios *in vivo* en conejos (Matos y col., 2012; González y col., 2018; Figueira y González, 2018; 2019; 2020; Jiménez y col., 2021), 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) por método enzimáticos (Wiener Lab, Argentina). 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 (Wiener Lab, Argentina). Las concentraciones séricas de PECAM-1 fueron determinadas por ensayo inmunoenzimático tipo sándwich competitivo (NeoBiolab, Cambridge, Massachusetts, USA). Los TBARS fueron evaluadas por un método colorimétrico, el cual consistió en evaluar el efecto de las EROs sobre los lípidos, que resulta en la producción de varias sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico y que pueden ser medidas por espectrofotometría (Ohkawa y col., 1979).

**Sacrificio de los animales. Preparación de tejidos y tipificación histológica de las lesiones ateroscleróticas:** 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 observados por microscopía de luz. Las lesiones fueron tipificadas de acuerdo con la clasificación de la American Heart Association, la cual considera como lesiones tipo I, aquellas iniciales constituidas por células espumosas sub-endoteliales aisladas; las lesiones tipo II constituidas principalmente por un cúmulo de lípidos intracelulares; las lesiones tipo III son intermedias o pre-ateromas, caracterizadas por cúmulos de lípidos intracelulares y dispersos lípidos extracelulares; las lesiones tipo IV son los ateromas, representan

lesiones avanzadas, y están constituidas por lípidos intracelulares y por una gran cantidad de lípidos extracelulares; las lesiones tipo V contienen tejido conectivo fibroso y en ocasiones se encuentran calcificaciones y las lesiones tipo VI son las placas complicadas (fisura, trombos, hematomas) (Stary y col., 1995).

## **Análisis de los datos**

Se calculó promedio y desviación estándar para las variables estudiadas. Se realizó las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Jarque-Bera. Se empleó el análisis de Kruskal-Wallis con análisis post hoc mediante la prueba de U- de Mann-Whitney sobre cada par de grupos. Se empleó la correlación de Spearman para relacionar la PECAM-1 con las variables del estudio. Se consideró significativo  $p < 0,05$ . Se utilizó el programa GraphPad Prism versión 5.

## **Resultados**

### **LÍPIDOS SÉRICOS DE LOS CONEJOS**

La Tabla I resume las concentraciones de los lípidos séricos de los conejos. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones basales de CT y sus fracciones entre los grupos de conejos en estudio. El CT, c-HDL, c-LDL en los grupos 1 y 3 permanecieron sin cambios significativos a lo largo del estudio. Se apreció un aumento significativo en la concentración de CT y sus fracciones en el grupo 2 y en el grupo 4 con respecto a sus respectivos controles (grupo 1 y 3, respectivamente) ( $p < 0,0001$ ). Para los grupos 2 y 4 las concentraciones de los lípidos séricos variaron desde el inicio hasta el final del experimento ( $p < 0,0001$ ).

**Tabla I.** Lípidos séricos de los conejos sujetos a estudio

	CT (mg/dL)	c-LDL (mg/dL)	c-HDL (mg/dL)
<b>Basal</b>			
Grupo 1	71 ± 12	39 ± 9	36 ± 10
Grupo 2	72 ± 11	40 ± 7	38 ± 11
Grupo 3	68 ± 15	45 ± 6	32 ± 7
Grupo 4	68 ± 15	36 ± 10	40 ± 9
<b>6ta semana</b>			
Grupo 1	78 ± 16	42 ± 11	34 ± 8
Grupo 2	607 ± 147 <sup>*</sup>	542 ± 72 <sup>*</sup>	71 ± 19 <sup>*</sup>
Grupo 3	87 ± 19	41 ± 9	38 ± 12
Grupo 4	597 ± 129 <sup>#</sup>	519 ± 83 <sup>#</sup>	68 ± 25 <sup>#</sup>
<b>12ma semana</b>			
Grupo 1	82 ± 15	48 ± 7	35 ± 9
Grupo 2	981 ± 251 <sup>*</sup>	804 ± 91 <sup>*</sup>	89 ± 40 <sup>*</sup>
Grupo 3	84 ± 17	48 ± 10	40 ± 11
Grupo 4	1017 ± 239 <sup>#</sup>	835 ± 101 <sup>#</sup>	94 ± 54 <sup>#</sup>
<b>Valores p</b>			
Grupo 1	0,9672	0,9925	0,9812
Grupo 2	0,0001	0,0001	0,0001
Grupo 3	0,2917	0,7514	0,6857
Grupo 4	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.

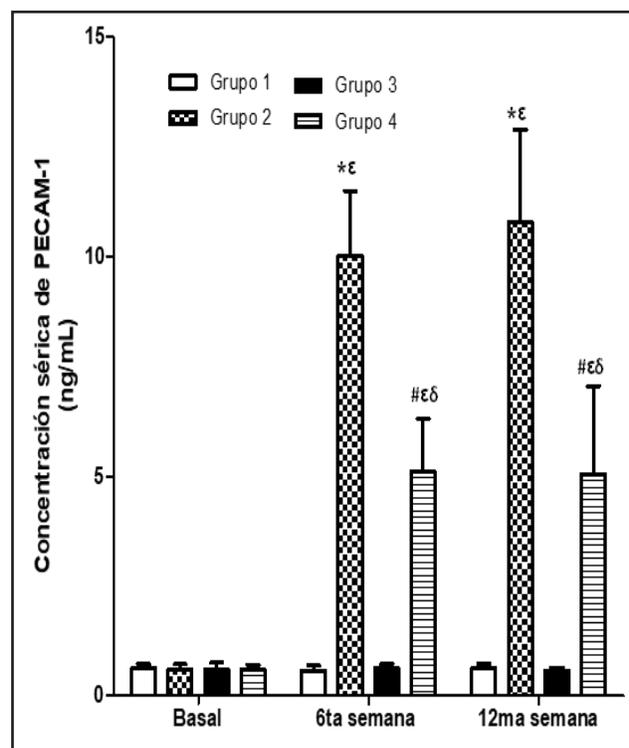
#= Comparación con respecto al grupo 3.

p= Comparación con respecto al basal.

### CONCENTRACIONES SÉRICAS DE PECAM-1 Y TBARS

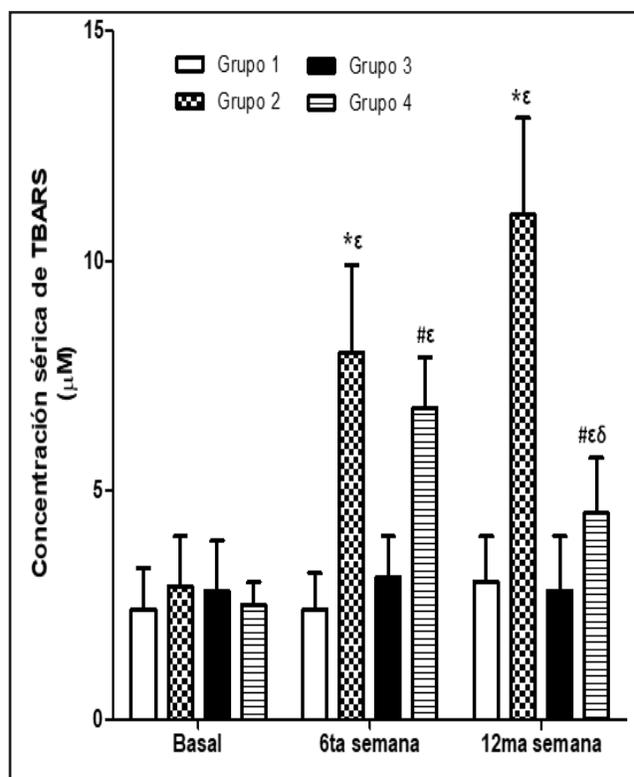
Como se puede apreciar en las Figuras 1 y 2, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones séricas basales de PECAM-1 y TBARS entre los grupos de conejos sujetos a estudio. La PECAM-1 y TBARS en los grupos 1 y 3 permanecieron sin cambios a lo largo del experimento; por su parte, en los grupos 2 y 4 variaron a lo largo del estudio ( $p < 0,0001$ ). Por otra parte, en la sexta semana y al final del experimento las concentraciones séricas de PECAM-1 y TBARS aumentaron

en los grupos 2 y 4 con respecto a los grupos 1 y 3, respectivamente ( $p < 0,005$ ). Sin embargo, en la 6<sup>ta</sup> y 12<sup>ma</sup> semana se evidenció una disminución significativa de la concentración de PECAM-1 en el grupo 4 con respecto al grupo 2 ( $p < 0,0050$ ) (Figura 1). Por otra parte, en la 12<sup>ma</sup> semana se observó una disminución significativa de los niveles de TBARS en el grupo 4 con respecto al grupo 2 ( $p = 0,0040$ ) (Figura 2).



**Figura 1.** Efecto del resveratrol sobre las concentraciones séricas de PECAM-1 en los conejos sujetos a experimentación en la semana 0, 6<sup>ta</sup> y 12<sup>ma</sup>. Los resultados fueron expresados como la media ± desviación estándar de la media ( $n = 10$  basal y 6<sup>ta</sup> semana;  $n = 5$  en la 12<sup>ma</sup> semana). \* $p < 0,005$  vs. grupo control (Grupo 1). # $p < 0,005$  vs. control resveratrol (Grupo 3).  $\delta p < 0,005$  vs. Grupo 2.  $\epsilon p < 0,0001$  vs. su respectivo valor basal.

En la Tabla II se muestra el análisis de Spearman de las correlaciones entre la concentración de PECAM-1 con el perfil lipídico y TBARS, evidenciando correlación positiva significativa entre las variables ( $p < 0,0001$ ).



**Figura 2.** Efecto del resveratrol sobre las concentraciones séricas de TBARS en los conejos sujetos a experimentación en la semana 0, 6<sup>ta</sup> y 12<sup>ma</sup>. Los resultados fueron expresados como la media  $\pm$  desviación estándar de la media (n=10 basal y 6<sup>ta</sup> semana; n=5 en la 12<sup>ma</sup> semana). \*p<0,005 vs. grupo control (Grupo 1). #p<0,005 vs. control resveratrol (Grupo 3).  $\delta$ p<0,004 vs. Grupo 2.  $\epsilon$ p<0,0001 vs. su respectivo valor basal.

**Tabla II.** Análisis de la correlación de Spearman entre las concentraciones de PECAM-1, TBARS y el perfil lipídico

	r	p
PECAM-1 & CT	0,5249	0,0001
PECAM-1 & c-LDL	0,4579	0,0001
PECAM-1 & c-HDL	0,3288	0,0001
PECAM-1 & TBARS	0,4686	0,0001

c-HDL: Colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad, c-LDL: Colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad, CT: Colesterol total, PECAM-1: Molécula de adhesión celular endotelial plaquetaria 1, TBARS: Productos de peroxidación lipídica que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico.

### 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. Ningún conejo de los grupos 1 y 3 presentaron lesiones ateroscleróticas a lo largo del estudio. Por su parte, todos los conejos del grupo 2 presentaron lesiones de grado variable a lo largo del estudio. En el grupo 4, algunos conejos no presentaron lesiones y otros evidenciaron lesiones de grado variable (Figura 3).

### Discusión

Las ECV constituyen actualmente uno de los principales desafíos sanitarios; pues de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), 17,9 millones de personas a nivel mundial están afectadas cada año; y se estima que esta tasa crezca debido al aumento en la incidencia de obesidad y síndrome metabólico, además del incremento en la tasa de complicaciones cardíacas relacionadas con la enfermedad del Coronavirus-19 (COVID-19) (Madjid y col., 2020; Raj y col., 2021).

Ha sido ampliamente descrito que la extravasación de los leucocitos es esencial para la defensa contra infecciones, y es un sello distintivo de la inflamación y de la aterosclerosis; la cual es controlada por una interacción entre receptores de adhesión celular y señales quimiotácticas que regulan el rodamiento, fijación, adhesión y migración transendotelial de los leucocitos; donde la PECAM-1 está implicada en este proceso (Vestweber, 2015; Arif y col., 2021).

La PECAM-1 es una glicoproteína transmembrana tipo 1 de 130 KDa, con 6 dominios extracelulares similares a las Ig, que facilita uniones homofílicas y heterofílicas; además es una eficiente molécula de señalización celular (Woodfin y col., 2007;

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

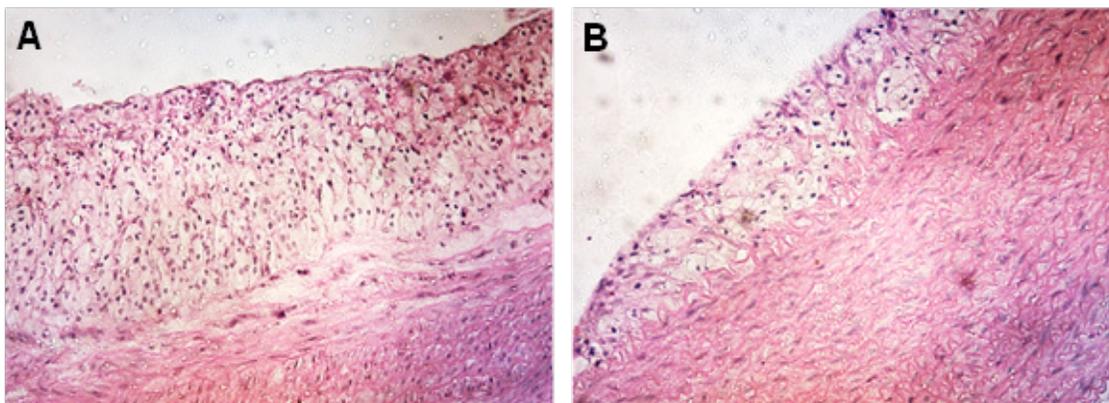
Grupo	Sin ateroma	Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV	Tipo V
<b>Sexta semana</b>						
1	5 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
2	0 (0%)	1 (20%)	4 (80%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
3	5 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
4	3 (60%)	2 (40%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>Duodécima semana</b>						
1	5 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
2	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (20%)	4 (80%)	0 (0%)
3	5 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
4	2 (40%)	1 (20%)	1 (20%)	1 (20%)	0 (0%)	0 (0%)

Wimmer y col., 2019). Está expresada en plaquetas, células endoteliales, neutrófilos, monocitos, linfocitos. Se ha descrito que las uniones inter-endoteliales son especialmente ricas en esta molécula de adhesión celular, pues media la diapédesis de neutrófilos a través de la pared vascular (Schenkel y col., 2004), así como la integridad vascular (Biswas y col., 2006); de hecho, Arif y col., en el 2021 encontraron que la PECAM-1 media la diapédesis de los leucocitos *in vivo* e *in vitro* al desestabilizar las uniones endoteliales, mediante la desfosforilación e internalización de las VE-cadherinas. Además, la PECAM-1 participa en la angiogénesis y remodelado vascular (Collins y col., 2012; Wimmer y col., 2019).

La PECAM-1 también ha sido asociada con la regulación en la producción de NO inducido por cizallamiento (Fleming y col., 2005); de hecho, se ha postulado que esta molécula es un mecanosensor vascular que responde a las fuerzas de cizallamiento,

activando vías de señalización celular que conducen a la liberación de vasodilatadores como el NO (Chrétien y col., 2010); pues el bloqueo de la fosforilación de la PECAM-1 con PP1, un inhibidor de la quinasa Src, bloquea la fosforilación de la sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS) en respuesta al estrés por cizallamiento (Fleming y col., 2005), lo cual demuestra que la fosforilación de PECAM-1 es esencial para la producción de NO a través de la fosforilación de eNOS; donde interviene además el proteoglicano heparán sulfato, glipicano-1 (Bartosch y col., 2021).

En el presente estudio se encontró que la administración de una dieta enriquecida con colesterol ocasionó un aumento en las concentraciones del PECAM-1 desde la 6ta semana de experimentación, lo cual estuvo acompañado por incremento en los lípidos séricos y con la presencia de lesiones ateroscleróticas, lo cual apoya la existencia de un estado inflamatorio en la



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

aterosclerosis, sugiriendo la importancia de la inflamación en la aterogénesis, tal y como se ha reportado previamente (González y col., 2007; Figueira y col., 2008; González y col., 2018; Figueira y col., 2018, 2019, Marchio y col., 2019; Wolf y col., 2019; Figueira y col., 2020; Jiménez y col., 2021); asimismo, los resultados de la presente investigación destacan la utilidad de esta molécula como un posible marcador sérico, temprano y no invasivo de aterosclerosis. En este sentido, diversos estudios han demostrado el papel de esta proteína en la aterosclerosis, pues Harry y col. (2008), demostraron un efecto ateroprotector en las regiones de aorta expuestas a flujo sanguíneo perturbado inducido por estrés de cizallamiento en ratones deficientes para PECAM-1; pues se ha descrito que el estrés de cizallamiento genera tensión entre las células endoteliales adyacentes y activa el PECAM-1, lo cual conlleva la translocación nuclear del NF- $\kappa$ B con la consecuente expresión de mediadores inflamatorios tales como VCAM-1, que promueven la aterosclerosis. En efecto, ratones deficientes en Apolipoproteína E (Apo E) y PECAM-1, muestran una reducción en el tamaño de las lesiones

ateroscleróticas, de la expresión de VCAM-1, molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), selectina P, de la activación del NF- $\kappa$ B y reducida infiltración de macrófagos en las lesiones ateroscleróticas, en comparación con los ratones deficientes en Apo E (Tzima y col., 2005).

Adicionalmente, la PECAM-1 contribuye en la aterogénesis a través de su capacidad de mediar la infiltración de leucocitos; pues estudios *in vitro* han demostrado que las LDL oxidadas (LDLox) promueven la migración de monocitos a través de las células endoteliales estimuladas por citoquinas a través de un mecanismo que involucra la regulación hacia arriba de la PECAM-1 y hacia la baja de VE-cadherinas en las células endoteliales (Hashimoto y col., 2007); por otro lado, se ha descrito en pacientes diabéticos, los cuales tienen una mayor incidencia de aterosclerosis, que la insulina y los niveles elevados de glucosa pueden promover un incremento en la migración de leucocitos a través de las células endoteliales mediante un mecanismo dependiente de la fosforilación de la PECAM-1 (Okouchi y col., 2002). Por otra parte, se ha puntualizado que

los polimorfismos del gen PECAM-1 humano se correlacionan con la incidencia de aterosclerosis coronaria (Elrayess y col., 2003), enfermedad de las arterias coronarias (Fang y col., 2005) e infarto al miocardio (Sasaoka y col., 2001), lo cual ratifica la importancia de esta molécula en la patogénesis de la aterosclerosis y ECV.

Asimismo, nuestros hallazgos demuestran un aumento en la producción de los TBARS séricos en los grupos a los que se les administró una dieta enriquecida con colesterol desde la 6ta semana de experimentación, lo cual sugiere que la administración de una dieta enriquecida con lípidos induce un aumento en la producción de EROs, tal y como se ha encontrado en otros estudios (González y col., 2007; Figueira y col., 2008, 2010), sugiriendo la importancia del estrés oxidativo en la aterosclerosis (Marchio y col., 2019; Yuan y col., 2019). De hecho Figueira y col., (2010), demostraron que la administración de una dieta hiperlipidémica durante 12 semanas en conejos macho Nueva Zelanda ocasionó un aumento en la actividad de la glutatión peroxidasa (GPx) plasmática con respecto al grupo control desde la 6ta semana de experimentación, lo cual se acompañó de lesiones ateroscleróticas en la aorta de los conejos; asimismo, evidenciaron que la administración de una dieta hiperlipidémica suplementada con antioxidantes inhibió la formación de las lesiones; sugiriendo que en condiciones de hiperlipidemia con o sin suplementación de antioxidantes existe un incremento en la actividad de GPx debido a un estado de estrés oxidativo; en este sentido, los investigadores sugieren que la elevación en la actividad de la enzima antioxidante representa un mecanismo compensatorio al incremento del estrés oxidativo inducido por la dieta hiperlipidémica; sugiriendo la importancia

del estrés oxidativo en la fisiopatología de la aterosclerosis; tal y como se evidenció en la presente investigación, donde se observó un incremento en la peroxidación lipídica tras la administración de una dieta enriquecida con colesterol. De hecho, estudios clínicos han demostrado un incremento en las concentraciones séricas de hidroperóxidos lipídicos en pacientes con ECV; pues Yilmaz y col. (2020) demostraron disminución de los niveles de malondialdehído (MDA), dimetilarginina asimétrica (ADMA) y aumento en la actividad de las enzimas antioxidantes GPx y superóxido dismutasa (SOD) en pacientes con ECV después de 12 semanas con terapia antioxidante oral, lo cual sugiere la participación del estrés oxidativo en la patogénesis de las ECV, y el beneficio de la terapia antioxidante en la misma.

Igualmente, encontramos una asociación positiva entre la PECAM-1 con los lípidos séricos y los TBARS, lo cual sugiere la relación que tiene tanto la inflamación como el estrés oxidativo durante la aterosclerosis; en este sentido Brown y col. (2021) encontraron que el grado de adhesión plaquetaria se correlacionaba con el grado de expresión de VCAM-1, siendo inhibida por la apocinina, un inhibidor de la NAD(P)H oxidasa, sugiriendo que la adhesión plaquetaria y el estrés oxidativo contribuye a la activación inflamatoria del endotelio.

Es conocido que la migración de leucocitos al interior de la pared del vaso sanguíneo es un evento temprano en la aterogénesis y es controlado mediante la expresión de moléculas de adhesión celular; en este sentido, el abordaje farmacológico con moléculas con acciones antioxidantes y antiinflamatorias como el resveratrol, ha demostrado disminuir la expresión de moléculas de adhesión celular *in vitro*

como la VCAM-1 e ICAM-1 y atenuar la adhesividad de los monocitos al endotelio (Carluccio y col., 2003).

El resveratrol es un polifenol que ejerce efectos beneficiosos *in vitro* al modular eventos relacionados con la aterosclerosis, pues inhibe la oxidación de las LDL, suprime la agregación plaquetaria, inhibe la proliferación de células de músculo liso vascular, disminuye el daño de las células endoteliales, modula la producción de NO, inhibe la producción de quimioquinas y la producción de EROs, factores importantes en la aterogénesis (Zghonda y col., 2011). Asimismo, estudios *in vivo* demuestran que el resveratrol podría ser un agente que previene el desarrollo y progresión de la aterosclerosis, pues atenúa el engrosamiento de la íntima media y reduce el tamaño de las lesiones ateroscleróticas, mejora la función endotelial (Rush y col., 2007, Silan, 2008), pues produce vasodilatación tanto dependiente como independiente del endotelio (Nagaoka y col., 2007), pues algunos estudios han indicado que el resveratrol inhibe la respuesta contráctil a la noradrenalina y causa relajación en aorta de rata pre-contráctil con fenilefrina (Chen y col., 1996), y reduce el tono vascular en anillos de aorta y en arteria coronaria; siendo este efecto dependiente de un incremento en la expresión de eNOS, de la liberación de NO (Takahashi y col., 2009) y a la disminución de su inactivación (Li y col., 2009).

En el presente estudio, y bajo nuestras condiciones experimentales, se demostró que la suplementación oral de resveratrol (2mg/Kg de peso corporal) durante 12 semanas, fue capaz de disminuir las concentraciones séricas de PECAM-1 y de TBARS en los conejos alimentados con una dieta enriquecida con colesterol,

desde la sexta y duodécima semana de experimentación, respectivamente, lo cual estuvo acompañado con una reducción en el tamaño y del grado de las lesiones ateroscleróticas (lesiones leves o inclusive su ausencia), lo cual sugiere que el resveratrol tendría efectos anti-aterogénicos debido a sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. En este sentido algunos trabajos han evaluado el efecto del resveratrol sobre la aterosclerosis *in vivo* (Matos y col., 2012; Figueira y col., 2018; Figueira y col., 2019; Seo y col., 2019; Figueira y col., 2020, Jiménez y col., 2021). En este sentido, Seo y col. (2019), encontraron que la suplementación de resveratrol fue capaz de disminuir la severidad de las lesiones ateroscleróticas y la expresión de moléculas de adhesión celular como la ICAM-1 en un modelo murino de aterosclerosis, siendo este efecto dependiente de la vía FERM –quinasa y Nrf2. Por su parte, Matos y col. (2012) encontraron que la administración de resveratrol 2mg/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. 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, VCAM-1, e interleucina-6 (IL-6) en la íntima arterial de los conejos hipercolesterolémicos. Por otra parte, estudios *in vitro* han encontrado que el resveratrol inhibe la producción del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e IL-6 inducida por lipopolisacárido (LPS) en macrófagos e inhibe la activación de dos moléculas de inflamación importantes en las vías de señalización, las quinasas

reguladas por señales extracelulares (ERK) y el NF- $\kappa$ B en cultivo de adipocitos (Kang y col., 2010).

Asimismo, algunos investigadores han indicado que el efecto cardioprotector del resveratrol es debido a su capacidad antioxidante (Muller y col., 2009); ya que es capaz de inhibir el daño oxidativo, actuando sobre radical anión superóxido e hidroxilo (Rahman, 2008), inhibiendo la producción de EROs y la peroxidación lipídica (Labinskyy y col., 2006); siendo dichos efectos mediados por un incremento en la actividad de las enzimas antioxidantes, SOD, GPx y catalasa (Li y col., 2009), y disminución de la expresión y actividad de la NAD(P)H oxidasa (Chow y col., 2007). De hecho, se ha encontrado que el pre-tratamiento *in vitro* con resveratrol en línea celular de macrófagos fue capaz de inhibir la formación de células espumosas y la producción de EROs inducida por LPS, mediante la inhibición de la expresión de la NAD(P)H oxidasa, a través de la inhibición de la activación de la vía PI3K/Akt (Park y col., 2009). Estos efectos antioxidantes han estado relacionados con una mejoría en la función vascular, pues la disminución de los niveles de anión superóxido asociados con el resveratrol se ven acompañados de un consecuente incremento en la biodisponibilidad del NO, mejorando la función vascular (Li y col., 2009).

Hasta los momentos existe poca evidencia del efecto del resveratrol sobre la PECAM-1. En este sentido, la evidencia ha demostrado que el resveratrol es capaz de inhibir la expresión del PECAM-1 y del factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF-beta 1), y reducir la adhesión entre las células inflamatorias y las endoteliales en un modelo murino de pancreatitis aguda, por lo que dicho efecto podría reducir la

severidad del daño pulmonar complicado con pancreatitis aguda (Wang y col., 2006). Asimismo, un estudio *in vitro* encontró que el resveratrol fue capaz de inhibir la agregación plaquetaria inducida por LDLox, la formación de EROs, y suprimió completamente la expresión de PECAM-1 en plaquetas tratadas con LDLox (Jie y col., 2015), destacando los efectos antioxidantes, antiagregantes y antiinflamatorios que tiene este polifenol. Por otra parte, Robich y col., en el 2010, demostraron que la suplementación de resveratrol en un modelo de síndrome metabólico en cerdos, mejoró los factores de riesgo cardiovascular (índice de masa corporal, tolerancia glucosada, colesterol sérico, presión sistólica) y disminuyó la expresión de PECAM-1 y aumentó la expresión de trombospondina-1 en el endotelio, pudiendo modular la angiogénesis; ya que la trombospondina-1 tiene propiedades antiangiogénicas, mediante la disminución de la expresión de la PECAM-1, de la proliferación y migración de células endoteliales. Por lo tanto, la disminución del PECAM-1 y TBARS inducida por el resveratrol en conejos alimentados con una dieta enriquecida con colesterol, podría contribuir en el efecto antiaterogénico de esta fitoalexina gracias a sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes.

En conclusión, bajo nuestras condiciones de estudio se pudo apreciar que la PECAM-1 es un marcador sérico y temprano de aterosclerosis; lo cual refuerza y corrobora el papel de la inflamación 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 antiinflamatorias y antioxidantes al disminuir las concentraciones séricas de PECAM-1 y de

los TBARS; sugiriendo el potencial valor terapéutico que tiene el resveratrol en las ECV.

## Agradecimientos

Agradecemos la asistencia técnica de María José De Freitas y de Manuel Avelino Dinis.

## Conflicto de interés

Los autores no tienen conflicto de interés

## Referencias Bibliográficas

- Alonso-Piñero JA, González-Rovira A, Sánchez-Gomar I, Moreno JA, Durán-Ruiz MC. 2021. Nrf2 and Heme Oxygenase-1 involvement in atherosclerosis related oxidative stress. *Antioxidants (Basel)* 10(9):1463.
- Arif N, Zinnhardt M, Nyamay'Antu A, Teber D, Bruckner R, Schaefer K, Li Y, Trappmann B, Grashoff C, Vestweber D. 2021. PECAM-1 supports leukocyte diapedesis by tension-dependent dephosphorylation of VE-cadherin. *EMBO J* 40: e106115.
- Banez M, Geluz M, Chandra A, Hamdan T, Biswas O, Bryan N, Von Schwarz E. 2020. A systemic review on the antioxidant and anti-inflammatory effects of resveratrol, curcumin, and dietary nitric oxide supplementation on human cardiovascular health. *Nutr Res* 78:11-26.
- Barrett TJ, Schlegel M, Zhou F, Gorenchtein M, Bolstorff J, Moore KJ, Fisher EA, Berger JS. 2019. Platelet regulation of myeloid suppressor of cytokine signaling 3 accelerates atherosclerosis. *Sci Transl Med* 11:517.
- Bartosch A, Mathews R, Mahmoud M, Cancel L, Haq Z, Tarbell J. 2021. Heparan sulfate proteoglycan glypican-1 and PECAM-1 cooperate in shear-induced endothelial nitric oxide production. *Sci Rep* 11(1):11386.
- Biswas P, Canosa S, Schoenfeld D, Schoenfeld J, Li P, Cheas LC. 2006. PECAM-1 affects GSK-3 $\beta$ -mediated  $\beta$ -catenin phosphorylation and degradation. *Am J Pathol* 169:314-24.
- Brown E, Ozawa K, Moccetti F, Vinson A, Hodovan J, Bader L, López J, Kievit P, Shaw G, Chung D, Osborn W, Fu X, Chen J, Lindner J. 2021. Arterial Platelet Adhesion in Atherosclerosis Prone Arteries of Obese, Insulin-Resistant Nonhuman Primates. *J Am Heart Assoc* 10: e019413.
- Carluccio MA, Siculella L, Ancora MA, Massaro M, Scoditti E, Storelli C, Visioli F, Distanti A, De Caterina R. 2003. Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: antiatherogenic properties of Mediterranean diet phytochemicals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23: 622-9.
- Chen CK, Pace-Asciak CR. 1996. Vasorelaxing activity of Resveratrol and quercetin in isolated rat aorta. *Gen Pharmacol* 27:363- 6.
- Chow SE, Hshu YC, Wang JS, Chen JK. 2007. Resveratrol attenuates oxLDL-stimulated NADPH oxidase activity and protects endothelial cells from oxidative functional damages. *J Appl Physiol* 102: 1520-7.
- Chrétien M, Zhang M, Jackson M, Kapus A, Langille B. 2010. Mechanotransduction by endothelial cells is locally generated, direction-dependent, and ligand-specific. *J. Cell Physiol* 224: 352-61.
- Collins C, Guilluy C, Welch C, O'Brien ET, Hahn K, Superfine R. 2012. Localized tensional forces on PECAM-1 elicit a global mechanotransduction response via the integrin-RhoA pathway. *Curr Biol* 22:2087-94.
- Elrayess MA, Webb KE, Flavell DM, Syvanne M, Taskinen MR, Frick MH, Nieminen MS, Kesaniemi YA, Pasternack A, Jukema JW, Kastelein JJ, Zwinderman AH, Humphries SE. 2003. A novel functional polymorphism in the PECAM-1 gene (53G>A) is associated with progression of atherosclerosis in the LOCAT and REGRESS studies. *Atherosclerosis* 1:131-8.
- Falati S, Patil S, Gross P, Stapleton M, Merrill-Skoloff G, Barrett N, Pixton K, Weiler H, Cooley B, Newman D. 2006. Platelet PECAM-1 inhibits thrombus formation *in vivo*. *Blood* 107: 535-41.
- Fang L, Wei H, Chowdhury SH, Gong N, Song J, Heng CK, Sethi S, Koh TH, Chatterjee S. 2005. Association of Leu125Val polymorphism of platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) gene & soluble level of PECAM-1 with coronary artery disease in Asian Indians. *Indian J Med Res* 2: 92-9.
- 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): 33-42.
- Figueira L, González J, Mercado M, Hernández J, Reigosa A. 2010. La Dimetilarginina Asimétrica

- (ADMA) sérica como marcador de aterosclerosis en conejos expuestos a dieta hiperlipidémica. *INFORMED* 16 (2):39-44.
- Figueira L, González J. 2010. Efecto de la vitamina C, sobre la glutatión peroxidasa y la formación de ateromas, en conejos expuestos a dieta hiperlipidémica. *Act Cient Soc Venez Bioanal Espec* 11(1):30-6.
- 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* 82 (1 y 2):97-109.
- 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):209-16.
- Figueira L, González J. 2020. Efecto del resveratrol sobre quimioquinas séricas en la aterosclerosis. *Rev Fac Farm* 83 (1 y 2):7-23.
- Figueira L, González J. 2008. Efectos del extracto de pinus maritime, 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. 2010. El Resveratrol. Papel en enfermedades Cardiovasculares y Cancer. *INFORMED* 12 (2): 73-84.
- Fleming I, Fisslthaler B, Dixit M, Busse R. 2005. Role of PECAM-1 in the shear-stress-induced activation of Akt and the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) in endothelial cells. *J. Cell Sci* 118: 4103-11.
- Forman HJ, Zhang H. 2021. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nat Rev Drug Discov* 20 (9):689-709.
- 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* 81 (1y2): 25-40.
- González J, Figueira L, González D, Álvarez A, Aguilera C y Reigosa A. 2007. Niveles plasmáticos de Mieloperoxidasa y proteína C Reactiva en conejos machos Nueva Zelanda expuestos a una dieta hiperlipidémica. *Act Cient de la Soc Venez de Bioanal Espec* 10(2):86-90.
- Harry B; Sanders J, Feaver R, Lansey M, Deem T, Zarbock A, Bruce A, Pryor A, Gelfand B, Black,am B, Schwartz M, Ley K. 2008. Endothelial Cell PECAM-1 Promotes Atherosclerotic Lesions in Areas of Disturbed Flow in ApoE-Deficient Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 28: 2003-8.
- Hashimoto K, Kataoka N, Nakamura E, Tsujioka K, Kajiya F. 2007. Oxidized LDL specifically promotes the initiation of monocyte invasion during transendothelial migration with upregulated PECAM-1 and downregulated VE-cadherin on endothelial junctions. *Atherosclerosis* 194(2):e9-17.
- Hastings N, Simmers M, McDonald O, Wamhoff B, Blackman B. 2007. Atherosclerosis – prone hemodynamics differentially regulates endothelial and smooth muscle cell phenotypes and promotes pro-inflammatory priming. *Am J Physiol Cell Physiol* 6: C1824-33.
- Jie S, Beidong C, Yanyang Z, Li B, Wei W, Ruomei Q. 2015. Effect of resveratrol on ROS production and PECAM-1 expression in ox-LDL-stimulated platelets. *Chinese Pharmacological Bulletin* 12:1608-13
- Jiménez J, González J, Figueira L. 2021. Efecto del resveratrol sobre el factor de crecimiento transformante  $\beta$  sérico en la aterosclerosis. *Rev Fac Farm* 84 (1 y 2):55-68.
- Jones C, Garner S, Moraes L, Kaiser W, Rankin A, Ouwehand W, Goodall A, Gibbins J. 2009. PECAM-1 expression and activity negatively regulate multiple platelets signaling pathways. *FEBS Lett* 583: 3618-3624.
- 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: 789-796.
- Kattoor AJ, Pothineni NVK, Palagiri D, Mehta JL. 2017. Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 19(11):42.
- Kondo T, Hirose M, Kageyama K. 2009. Roles of oxidative stress and redox regulation in atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 16: 2355-62.
- 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): 989-96.
- Li H, Förstermann U. 2009. Resveratrol: A multifunctional compound improving endothelial function. *Cardiovasc Drugs Ther* 23: 425-9.
- Libby P. 2002. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 6917: 868-74.
- Madjid M, Safavi-Naeini P, Solomon S, Vardeny O. 2020. Potential effects of coronaviruses on the

- cardiovascular system: A review. *JAMA Cardiol* 5: 831-40.
- Marchio P, Guerra-Ojeda S, Vila JM, Aldasoro M, Victor VM, Mauricio MD. 2019. Targeting Early Atherosclerosis: A Focus on Oxidative Stress and Inflammation. *Oxid Med Cell Longev* 8563845.
- Marcinczyk N, Misztal T, Gromotowicz-Poplawska A, Zebrowska A, Rusak T, Radziwon P, Chabielska E. 2021. Utility of Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule 1 in the Platelet Activity Assessment in Mouse and Human Blood. *Int J Mol Sci* 22: 9611.
- Matos RS, Baroncini LA, Prêcoma LB, Winter G, Lambach PH, Caron EY, Kaiber F, Prêcoma DB. 2012. Resveratrol causes antiatherogenic effects in an animal model of atherosclerosis. *Arq Bras Cardiol* 98(2):136-142.
- Meza-Torres C, Hernández-Camacho J, Cortés-Rodríguez A, Fang L, Thanh T, Rodríguez-Bies E, Navas P, López-Lluch G. 2020. Resveratrol regulates the expression of genes involved in CoQ synthesis in liver in mice fed with high fat diet. *Antioxidants (Basel, Switzerland)* 9 (5)431.
- Muller WA, Weigl SA, Deng X, Phillips DM. 1993. PECAM-1 is required for transendothelial migration of leukocytes. *J Exp Med* 2:449-460.
- Nagaoka T, Hein TW, Yoshida A, Kuo L. 2007. Resveratrol, a component of red wine, elicits dilation of isolated porcine retinal arterioles: Role of nitric oxide and potassium channels. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48: 4232-9.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Rev Anal Biochem* 95(2);351-8.
- Okouchi M, Okayama N, Imai S, Omi H, Shimizu M, Fukutomi T, Itoh M. 2002. High insulin enhances neutrophil transendothelial migration through increasing surface expression of platelet endothelial cell adhesion molecule-1 via activation of mitogen activated protein kinase. *Diabetologia* 45:1449-56.
- 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 chemotactic protein-1. *Exp Mol Med* 41 (3): 171-9.
- Rahman I. 2008. Dietary polyphenols mediated regulation of oxidative stress and chromatin remodeling in inflammation. *Nutr Rev* 66 (1): S42-S45.
- Raj P, Thandapilly S, Wigle J, Zieroth S, Netticadan T. 2021. A Comprehensive Analysis of the Efficacy of Resveratrol in Atherosclerotic Cardiovascular Disease, Myocardial Infarction and Heart Failure. *Molecules* 26: 6600.
- 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: 1083-9.
- Robich M, Chu L, Chaudray M, Nezafat R, Han Y, Clements R, Laham R, Manning W, Coady M, Sellke F. 2010. Anti-angiogenic effect of high-dose resveratrol in a swine model of metabolic syndrome. *Surgery* 148:453-62.
- Rolfes V, Ribeiro LS, Hawwari I, Böttcher L, Rosero N, Maasewerd S, Santos MLS, Próchnicki T, Silva CMdS, Wanderley CWdS. 2020. Platelets fuel the inflammasome activation of innate immune cells. *Cell Rep* 31:107615.
- Rush J, Quadriatero 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: 814-22.
- Sasaoka T, Kimura A, Hohta SA, Fukuda N, Kurosawa T, Izumi T. 2001. Polymorphisms in the platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) gene, Asn563Ser and Gly670Arg, associated with myocardial infarction in the Japanese. *Ann N Y Acad Sci* 259-69.
- Schenkel AR, Chew TW, Muller WA. 2004. Platelet endothelial cell adhesion molecule deficiency or blockade significantly reduces leukocyte emigration in a majority of mouse strains. *J Immunol* 173:6403-8.
- Seo Y, Park J, Choi W, Son D, Kim J, Kim M, Yoon B, Pyee J, Hong J, Go Y, Park H. 2019. Antiatherogenic effect of resveratrol attributed to decreased expression of ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1). Mechanistic link from focal adhesion to monocyte adhesion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 39(4):675-84.
- Silan C. 2008. The effects of chronic resveratrol treatment of vascular responsiveness of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Pharm Bull* 31: 897-902.
- Soriano E, Gibbins J, Hughes C. 2021. Targeting platelet inhibition receptors for novel therapies: PECAM-1 and G6b-B. *Platelets* 32: 761-9.
- Stary H, Chandler A, Dinsmore R, Fuster V, Glagov S, Insull W, Rosenfield M, Schwartz C, Wagner W, Wesler R. 1995. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the committee on vascular lesions of the council on atherosclerosis. *Am Heart Asso Circulation* 15:1512-31.

- Takahashi S, Uchiyama T, Toda K. 2009. Differential effect of Resveratrol on nitric oxide production in endothelial F-2 cells. *Boll Pharm Bull* 32 (11): 1840-3.
- Tzima E, Irani-Tehrani M, Kiosses W, Dejana E, Schultz D, Engelhardt B, Cao G, DeLisser H, Schwartz M. 2005. A mechanosensory complex that mediates the endothelial cell response to fluid shear stress. *Nature* 7057: 426-31.
- Vaporciyan AA, Delisser HM, Yan HC, Mendiguren II, Thom SR, Jones ML, Ward PA, Albelda SM. 1993. Involvement of platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 in neutrophil recruitment *in vivo*. *Science* 5139: 1580-2.
- Vestweber D. 2015. How leukocytes cross the vascular endothelium. *Nat Rev Immunol* 15: 692-704.
- Vogiatzi G, Tousoulis D, Stefanadis C. 2009. The Role of Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Hellenic J Cardiol* 50: 402-9.
- Wang Z, Ma O, Ren L, Li Z, Li L. 2006. The study in resveratrol function to acute lung injury sourced from severe acute pancreatitis. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 37(6):904-7.
- Wimmer I, Tietz S, Nishihara H, Deutsch U, Sallusto F, Gosselet F, Lyck R, Muller WA, Lassmann H, Engelhardt B. 2019. PECAM-1 Stabilizes Blood-Brain Barrier Integrity and Favors Paracellular T-Cell Diapedesis Across the Blood-Brain Barrier During Neuroinflammation. *Front Immunol* 10:711.
- Wolf D, Ley K. 2019. Immunity and Inflammation in Atherosclerosis. *Circ Res* 124(2):315-327.
- Woodfin A, Voisin M, Nourshargh S. 2007. PECAM-1: A Multi-Functional Molecule in Inflammation and Vascular Biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27:2514-23.
- Wu J, Hsieh I, Wang Z. 2011. Cardioprotection by Resveratrol: a review of effects/targets in cultured cells and animal tissues. *Am J Cardiovasc Dis* 1 (1): 38-47.
- Xia L, Zhang B, Sun Y, Chen B, Yu Z. 2021. Analysis of Syk/PECAM-1 signaling pathway in low shear stress induced atherosclerosis based on ultrasound imaging. *Comput Methods Programs Biomed* 201:105953.
- Yilmaz MI, Romano M, Basarali MK, Elzagallaai A, Karaman M, Demir Z, Demir MF, Akcay F, Seyrek M, Haksever N, Piskin D, Cimaz R, Rieder MJ, Demirkaya E. 2020. The Effect of Corrected Inflammation, Oxidative Stress and Endothelial Dysfunction on Fmd Levels in Patients with Selected Chronic Diseases: A Quasi-Experimental Study. *Sci Rep* 10(1):9018.
- Yuan T, Yang T, Chen H, Fu D, Hu Y, Wang J, Yuan Q, Yu H, Xu W, Xie X. 2019. New insights into oxidative stress and inflammation during diabetes mellitus-accelerated atherosclerosis. *Redox Biol* 20:247-260.
- 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): 1259-67.
- Zhang L, Li C, Kakar M, Khan M, Wu P, Amir R, Dai D, Naveed M, Li Q, Saeed M, Shen J, Rajput S, Li J. 2021. Resveratrol (RV): A pharmacological review and call for further research. *Biomed Pharmacother* 143: 112164.