

Universidad CEU San Pablo
CEINDO - CEU Escuela Internacional de Doctorado
PROGRAMA en MEDICINA TRASLACIONAL



**Valor del perfil molecular
de disfunción adipocitaria y endotelial en
la estratificación del riesgo cardiovascular
de sujetos asintomáticos con Síndrome
Metabólico**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:
Roberto Ortiz Regalón

Dirigida por:
José Felipe Varona Arche
Isabel Sánchez-Vera Gómez-Trelles

Madrid

2019

Agradecimientos

Deseo dar las gracias especialmente a mis directores, el Dr. Jose Felipe Varona Arche y a la Dra. Isabel Sánchez-Vera Gómez-Trelles. Gracias al Dr. Varona por hacerme participe de este proyecto desde sus inicios, aportar todo cuanto ha estado en sus manos, trasmitirme su gran entusiasmo por la investigación y por hacer en todo momento fácil lo difícil. Gracias a la Dra. Sánchez Vera por su plena disponibilidad y compromiso en esta tesis, así como su inagotable dedicación y paciencia, sin su apoyo este trabajo no hubiera sido lo mismo.

Gracias a mi tutora Dra. Esther Escudero Lirola por su positividad y apoyo en los momentos críticos y la Dra. Cira García Durango por su inestimable colaboración en el laboratorio. Al Dr. Fernando Vidal Vanaclocha por su ayuda para que este trabajo comenzara a rodar y su aporte final para que llegara a buen puerto. También quiero agradecer al Dr. Jose María Castellano Vázquez su empujón y apoyo final.

Me gustaría agradecer a la Dra. Beatriz López Melgar, a la Dra. Leticia Fernández Freira y al Dr. Jorge Solís Martín, todos ellos integrantes del equipo de Imagen Cardíaca Avanzada de HM Hospitales, su colaboración ha sido una de las piezas más importantes de este trabajo. El rigor en las pruebas realizadas, su enfoque científico, su compromiso, su lucha administrativa y el tiempo dedicado son impagables, quiero agradecer especialmente a la Dra. Beatriz López Melgar por el tiempo y cariño dedicado a nuestros pacientes.

Agradezco a la fundación HM Hospitales por incitar mi interés investigador, por apostar por nuestro proyecto, participar en su orientación y seguimiento, y por otorgarme una beca para la realización de esta tesis.

A la universidad San Pablo CEU por todo su aporte técnico y administrativo, en especial al Dr. Jose Luis Lavandera y a D. Miguel Rábano por su rápida y eficaz colaboración.

Por último, quiero agradecer a toda mi familia el apoyo prestado y su paciencia en mis días de tensión, especialmente a mi padre que suplió en sus últimos días mis obligaciones laborales para que pudiera cumplir este sueño que vio nacer.

ÍNDICES

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN

1. Enfermedad cardiovascular aterosclerótica.....	1
1.1. Definición.....	1
1.2. Epidemiología.....	1
1.3. Factores de riesgo convencionales.....	2
1.4. Enfermedades con aumento de riesgo de enfermedad cardiovascular..	11
1.5. Estimación de riesgo cardiovascular.....	12
1.6. Estratificación del riesgo cardiovascular.....	16
1.7. Estrategias de prevención de la enfermedad cardiovascular.....	17
2. Evolución fisiopatológica de la enfermedad cardiovascular.....	21
2.1. Antecedentes históricos.....	21
2.2. <i>Continuum</i> cardiovascular.....	21
2.3. <i>Continuum</i> de envejecimiento cardiovascular.....	24
2.4. Mecanismos fisiopatológicos implicados en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular aterosclerótica.....	25
2.5. Moléculas implicadas en el proceso fisiopatológico de la ECV	32
3. Síndrome metabólico y su relación con la ECV.....	49
4. Estratificación del Riesgo Cardiovascular, Síndrome metabólico y perfil molecular sérico.....	51

HIPÓTESIS y OBJETIVOS	55
------------------------------------	-----------

MATERIALES Y MÉTODOS.....	59
----------------------------------	-----------

1. Diseño experimental.....	59
1.1. Tipo de estudio.....	59
1.2. Definición de la población de estudio.....	59
1.3. Protocolo del estudio.....	60
1.4. Tiempo y modo de recogida de datos.....	62
1.5. Confidencialidad de los datos.....	62

2. Parámetros antropométricos, clínicos y analíticos recogidos en los sujetos del estudio.....	63
2.1. Características demográficas de los sujetos y distribución de los componentes del SM.....	63
2.2. Determinación clínica de la presión arterial.....	64
2.3. Parámetros lipídicos.....	64
2.4. Parámetros relacionados con el metabolismo hidrocarbonado/resistencia a la insulina.....	65
2.5. Estimación del riesgo de desarrollar eventos cardiovasculares mayores.....	65
3. Parámetros que pueden expresar aparición enfermedad cardiovascular subclínica.....	65
3.1. Estudios para la detección precoz de lesión aterosclerótica carotídea subclínica.....	66
3.1.1. Grosor íntima media carotídeo.....	66
3.1.2. Presencia de placa carotídea.....	67
3.1.3. Cuantificación del volumen de placa carotídea.....	67
3.2. Estudios para la detección precoz de enfermedad cardíaca.....	68
3.2.1. Hipertrofia ventricular izquierda.....	68
3.2.2. Cuantificación del calcio coronario.....	69
3.3. Estudios para la detección precoz de enfermedad renal.....	69
3.3.1. Estimación del filtrado glomerular.....	69
3.3.2. Cociente albúmina/creatinina.....	70
4. Datos de terapia farmacológica.....	71
5. Parámetros analíticos determinados en las muestras de sangre..	72
5.1. Recogida de muestras.....	72
5.2. Determinación de parámetros moleculares.....	72
6. Análisis estadístico.....	75

RESULTADOS	77
1. Caracterización según la presencia de síndrome metabólico	78
1.1. Parámetros clínicos	78
1.2. Parámetros lipídicos	78
1.3. Parámetros del metabolismo hidrocarbonado/resistencia insulínica.....	79
1.4. Estimación de RCV mediante escalas	79
1.5. Datos de ECV subclínica.....	81
1.6 Parámetros moleculares.....	84
1.7 Relación entre las concentraciones plasmáticas de los parámetros moleculares y el RCV estimado.....	86
2. Caracterización según la presencia de lesión aterosclerótica carotidea subclínica.....	87
2.1. Parámetros clínicos.....	87
2.2. Parámetros lipídicos.....	87
2.3. Parámetros del metabolismo hidrocarbonado/resistencia insulínica....	88
2.4. Relación de los FRCV con la presencia de LACS.....	90
2.5. Parámetros moleculares en función de la presencia de lesión aterosclerótica carotidea subclínica.....	91
2.6. Relación de los parámetros moleculares con la presencia de LACS...93	
3. Correlación entre parámetros moleculares plasmáticos y volumen de placa aterosclerótica carotidea cuantificados mediante ultrasonido vascular tridimensional/3DVUS.....	95
DISCUSIÓN	97
CONCLUSIONES	111
BIBLIOGRAFÍA	113
ANEXOS	139

ÍNDICE DE FIGURAS

INTRODUCCIÓN

Figura 1: Tabla SCORE para cálculo del riesgo cardiovascular en países de bajo riesgo.....	14
Figura 2: Evolución fisiopatológica del continuum cardiovascular.....	22
Figura 3: Etiopatogenia del continuum cardiovascular.....	26
Figura 4: Etiopatogenia de la obesidad abdominal en la inflamación sistémica y la aterosclerosis.....	32
Figura 5: Adipocitocinas secretadas por el tejido adiposo.....	41
Figura 6: Interleuquinas implicadas en los procesos inflamatorios.....	45
Figura 7: Mecanismo de acción de las moléculas de adhesión endotelial ICAM-1 y ICAM-1.....	47
Figura 8: Implicación de PAI-1 en la inhibición de la fibrinólisis.....	49

MATERIALES Y MÉTODOS

Figura 9: Presencia de placa aterosclerótica carotídea mediante estudio con 3DVUS.....	68
Figura 10: Protocolo de cuantificación de los parámetros moleculares mediante inmunoensayo con tecnología Luminex®.....	74

RESULTADOS

Figura 11: Valores medios de GIMc y SCC en los sujetos según la presencia de SM.....	83
Figura 12: Correlaciones estadísticamente significativas entre los niveles plasmáticos de hormonas metabólicas/adipocitocinas, factores endoteliales y estimación de RCV mediante la escala ASCVD.....	86
Figura 13: Correlaciones significativas entre las concentraciones plasmáticas de ICAM-1, VCAM-1 y PAI-1 con el valor de GIMc.....	93

ÍNDICE DE TABLAS

MATERIALES Y MÉTODOS

Tabla 1: Clasificación de categorías de PA.....	64
Tabla 2: Clasificación de ERC en función del FG.....	70
Tabla 3: Categorías de albuminuria.....	71

RESULTADOS

Tabla 4: Características generales y distribución de los componentes de SM...77	
Tabla 5: Principales parámetros clínicos, analíticos y de estimación de RCV a 10 y 30 años.....	80
Tabla 6: Parámetros de enfermedad cardiovascular subclínica.....	83
Tabla 7: Concentraciones plasmáticas de hormonas metabólicas/adipocitocinas, parámetros inflamatorios y factores endoteliales en función de la presencia de SM.....	84
Tabla 8: Parámetros demográficos, clínicos, lipídicos y del metabolismo hidrocarbonado y resistencia insulínica en relación con la presencia de lesión aterosclerótica carotidea subclínica.....	89
Tabla 9: Correlaciones entre los FRCV tradicionales y el valor del GIMc.....	90
Tabla 10: Concentraciones plasmáticas de adipocitocinas, parámetros inflamatorios y factores endoteliales en función de la presencia lesión aterosclerótica carotidea subclínica.....	92
Tabla 11: Correlaciones entre el valor del GIM carotideo y marcadores plasmáticos.....	94
Tabla 12: Correlaciones entre el volumen de placa aterosclerótica carotidea y marcadores plasmáticos.....	96

ACRÓNIMOS

ACV	Accidente cerebrovascular.
AGEs	Advanced glycation end products/productos finales de glicosilación.
AIT	Accidente isquémico transitorio.
AKT	Protein kinasa B (PKB)/Proteína cinasa B.
AMPK	AMP Activated protein kinasa/proteína quinasa activada por AMP.
AOS	Apnea obstructiva del sueño.
ASCVD	Atherosclerotic cardiovascular disease/enfermedad cardiovascular aterosclerótica.
ATPIII	Adult program treatment panel III.
CAC	Cociente albúmina/creatinina.
Célula NK	Célula natural killer/asesino natural.
cHDL	High density lipoproteins cholesterol/lipoproteínas de alta densidad colesterol.
cLDL	Low density lipoproteins cholesterol/lipoproteínas de baja densidad colesterol.
CV	Cardiovascular.
DM	Diabetes mellitus.
EAP	Enfermedad arterial periférica.
EC	Enfermedad coronaria.
ECG	Electrocardiograma.
ECV	Enfermedad cardiovascular.
FA	Fibrilación auricular.
FRCV	Factores de riesgo cardiovascular.
GIMc	Grosor íntima media carotideo.
HbA1c	Hemoglobina glicosilada A1c.
HOMA	Homeostasis model assessment.
HTA	Hipertensión arterial.
HVI	Hipertrofia ventricular izquierda.

IAM	Infarto agudo de miocardio.
IC	Insuficiencia cardiaca.
ICAM-1	Intercelular adhesión molecule 1/Molécula de adhesión intercelular 1.
IECAS	Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina.
IL	Interleuquinas.
IMC	Índice de masa corporal.
IR	Insuficiencia renal.
JNK	Kinasa c-jun N terminal.
LACS	Lesión aterosclerótica subclínica carotidea.
MAPK	Mitogen activated protein kinases / proteína quinasa activada por mitógenos.
MCP-1	Proteína quimiotáctica de monocitos 1.
NO	Óxido nítrico.
OMS	Organización mundial de la salud.
PA	Presión arterial.
PAI-1	Plasminogen activator inhibitor 1/inhibidor del activador de plasminógeno 1.
PAS	Presión arterial sistólica.
PAD	Presión arterial diastólica.
PCR	Proteína C reactiva.
RCV	Riesgo cardiovascular.
SM	Síndrome metabólico.
TFG	Tasa de filtrado glomerular.
TC	Tomografía computerizada.
TG	Triglicéridos.
TNF- α	Factor de necrosis tumoral α .
VCAM-1	Vascular cell adhesión molecule/molécula de adhesión celular vascular.
VEGF	Vascular endotelial growth factor/factor de crecimiento endotelial vascular.

Resumen

Antecedentes. El síndrome metabólico (SM) es una entidad clínica heterogénea asociada con resistencia a la insulina, estado proinflamatorio de bajo grado y disfunción endotelial, que acelera el proceso aterosclerótico. Además, las lesiones ateroscleróticas se desarrollan y empeoran por otros muchos factores (edad, tabaquismo, comorbilidades...) lo que dificulta la estimación precisa del riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular (ECV).

Objetivo. Estudiar la asociación entre la aterosclerosis subclínica y la presencia de los parámetros plasmáticos relacionados con la disfunción del adipocito y el endotelio vascular, en sujetos no fumadores con SM, menores de 60 años y sin eventos cardiovasculares previos.

Métodos. Se estudiaron prospectivamente 78 individuos asintomáticos (promedio 46,5 años, 69% hombres; 59 SM y 19 controles). La ECV subclínica fue definida por la presencia de placa carotídea y/o grosor íntima media carotídeo (GIMc) $>0,9$ mm en estudios de ultrasonido 2/3D, hipertrofia ventricular izquierda (HVI) o Score calcio coronario (SCC) elevado. Se realizó un inmunoensayo multiplex por Luminex xMAP para medir las concentraciones plasmáticas de adipocinas y moléculas derivadas de células endoteliales.

Resultados. En comparación con los controles, los sujetos con SM tuvieron una mayor prevalencia de placa carotídea (25% vs. 0%, $p=0,01$), GIMc $>0,9$ (73% vs. 26%, $p=0,001$) y de extensión de SCC (69 vs. 5, $p=0,01$), que se asociaron con un incremento en los niveles plasmáticos de ICAM-1, VCAM-1 y PAI-1 ($p<0,05$). Hubo una asociación estadísticamente significativa entre GIMc e ICAM-1 (OR:14,57; IC 95%: 2,56-82,73, $p<0,001$), VCAM-1 (OR:7,33; IC 95%: 1,58-33,96, $p=0,007$) y PAI-1 (OR: 7,80; IC 95%: 1,04-22,10, $p=0,036$) en sujetos con placa carotídea y/o GIMc $>0,9$. También se detectó una correlación positiva entre volumen de placa y niveles de ICAM-1 ($r=0,40$; $p=0,045$).

Conclusiones. Nuestros resultados objetivan que el aumento de los niveles de ICAM-1, VCAM-1 y PAI-1 conlleva un desequilibrio proinflamatorio que se asocia con la presencia de aterosclerosis subclínica. Por tanto, la determinación de sus niveles plasmáticos puede ser de gran utilidad clínica y mejorar la estratificación del riesgo de ECV en sujetos no fumadores en estadios tempranos de SM, más allá de los marcadores tradicionales de riesgo cardiovascular.

Abstract

Background. Metabolic syndrome (MetS) is a heterogeneous clinical entity associated with insulin resistance, low-grade proinflammatory balance and impaired endothelial function, accelerating atherosclerosis. Atherosclerotic lesions worsen with age, smoking and co-morbidities, making it difficult to accurately diagnose the cardiovascular disease (CVD) risk.

Aim. We investigate the association between subclinical atherosclerosis and the presence of blood parameters related to adipocyte and vascular endothelial cell dysfunction, in non-smokers with MetS, under 60 and without previous CVD events.

Methods. Seventy-eight asymptomatic individuals (average 46.5 years, 69% male; 59 MetS and 19 controls) were studied prospectively. Subclinical CVD was defined by the presence of carotid plaque and/or carotid intima-media thickness (CIMT) ≥ 0.9 in 2/3D ultrasound-studies, left ventricular hypertrophy (LVH) or high coronary calcium score (CCS). Multiplex immunoassay by Luminex xMAP was performed to measure plasma levels of adipokines and endothelial cell-derived molecules.

Results. Compared with controls, MetS patients had higher prevalence of carotid plaque (25 vs. 0%, $p = 0.01$), CIMT > 0.9 (73 vs. 26%, $p = 0.001$) and higher CCS (69 vs. 5, $p = 0.01$), which were associated with an increase in plasma in ICAM-1, VCAM-1 and PAI-1 ($p < 0.05$). There was a statistically significant association

between CIMT and ICAM-1 (OR: 14.57, 95% CI: 2.56-82.73, $p < 0.001$), VCAM-1 (OR: 7.33, 95% CI: 1.58-33.96, $p = 0.007$) and PAI-1 (OR: 7.80, 95% CI: 1.04-22.10, $p = 0.036$) in patients with carotid plaque and/or CIMT > 0.9 . Positive correlation between plaque volume and ICAM-1 levels was also detected ($r = 0.40$, $p = 0.045$).

Conclusions. We demonstrated that the increase of ICAM-1, VCAM-1 and PAI-1 led to a proinflammatory imbalance pointing to the presence of subclinical atherosclerosis, and improving CVD risk stratification in non-smoking patients at early stage MetS beyond traditional scores.

Introducción

1. Enfermedad cardiovascular aterosclerótica.

1.1. Definición.

La Enfermedad Cardiovascular (ECV) aterosclerótica es un trastorno crónico, de desarrollo insidioso, que afecta al sistema vascular. Entre las entidades clínicas incluidas en esta patología se encuentran la Enfermedad Coronaria (EC), la enfermedad cerebrovascular y la Enfermedad Arterial Periférica (EAP) (1,2).

1.2. Epidemiología.

La ECV es la principal causa de muerte en todo el mundo, un hecho que se lleva repitiendo en los últimos lustros y que cada vez afecta a personas más jóvenes. En 2016, 15,2 millones de personas murieron por ECV, lo que representa un 26,95% de todas las muertes registradas en el mundo. La ECV se considera la mayor pandemia de la humanidad (3).

En Europa también es la principal causa de muerte ascendiendo a más de 4 millones al año, lo que supone el 45% de todas las muertes (4). En las últimas décadas, en algunas regiones de Europa la mortalidad ha ido disminuyendo. Así, en 2013, en 12 países europeos, todos ellos de la región oeste (incluido España), las muertes por cáncer en hombres han superado las muertes por ECV, lo que no ocurre en los países del este de Europa. A pesar de que la mortalidad por ECV está disminuyendo, la tasa de hospitalización por ECV ha aumentado, y los sistemas de salud soportan una carga creciente de pacientes con ECV. El diagnóstico y tratamiento precoz, el seguimiento, la rapidez y especialización de los centros en Infarto Agudo de Miocardio (IAM) e ictus es lo que explica que, a pesar del aumento en la incidencia de ECV, la tasa de mortalidad esté en descenso (2,4).

Al igual que en el resto de países Europeos, en España también es la primera causa de muerte. Se estima que una de cada tres personas muere a causa de ECV, lo que representa el 29,2% del total de fallecimientos en 2016 (5). Se producen 64.417 fallecimientos anuales en mujeres frente a 55.307 de hombres,

lo que supone un 7,6% más de muertes entre el colectivo femenino. Entre 2004 y 2016 tasa de mortalidad por ECV ha ido disminuyendo por undécimo año consecutivo, con una tasa de reducción de mortalidad alrededor del 4% respecto al 2004, gracias a la formación de los profesionales y a la introducción de código infarto e ictus. Los avances farmacológicos y las técnicas de tratamiento han dado su resultado, pero el esfuerzo ahora se debe centrar en la prevención. Gran parte de las muertes, incluso hasta un 90% se podrían prevenir actuando sobre factores de riesgo modificables, únicamente con cambios en el estilo de vida, como el abandono del tabaquismo, consumir una dieta equilibrada, evitar la obesidad y el sedentarismo, moderar el consumo de alcohol, controlar el estrés psicosocial o con la detección y el tratamiento precoz de factores de riesgo como la Hipertensión Arterial (HTA), Diabetes Mellitus (DM) e hiperlipemia (2,4).

Hay diferencias de mortalidad entre las distintas comunidades autónomas. Las tres comunidades con mayor mortalidad son el Principado de Asturias, Andalucía, y Galicia, mientras que las tres comunidades con menor mortalidad son Cataluña, Comunidad Foral de Navarra y la Comunidad de Madrid (5).

1.3. Factores de riesgo convencionales.

Los factores de riesgo convencionales o clásicos se llevan recogiendo e investigando desde el estudio Framingham 1948 (6). Estos Factores de Riesgo Cardiovascular (FRCV) clásicos son: edad, sexo, antecedentes familiares/(epi)genéticos, factores de riesgo psicosociales, tabaquismo, obesidad, HTA, DM y dislipemia (7). Estos factores convencionales siguen siendo la principal herramienta para la clasificación del Riesgo Cardiovascular (RCV) en la población.

- **Edad**

La edad, al igual que el sexo, es considerado un FRCV fijo o no modificable (8). Se considera un factor de riesgo tan importante que incluso en alguna ocasión se ha planteado la necesidad de comenzar con dosis bajas de estatinas como tratamiento preventivo de la ECV en personas mayores de 55 años cuyo único

factor de riesgo es la edad (9). La edad supone un riesgo ya que hay una mayor duración de exposición a FRCV, tanto a los factores conocidos como aquellos que quedan por conocer. En edades más avanzadas el nivel socioeconómico bajo tiene más peso y también el sedentario está más presente (10). El RCV en mayores de 65 años disminuye con un buen control de glucemia, dislipemia y DM. Evitar el sobrepeso, el sedentarismo y el abandono del tabaco son también buenas medidas para reducir el RCV en pacientes de avanzada edad (11).

- **Sexo**

Aunque ser varón aumenta el RCV, en mujeres de mediana edad está aumentando la ECV con respecto al hombre (12). El sexo femenino tiene unas particularidades, como se estudió en el proyecto Euroheart (13), no sólo atribuible a aspectos hormonales sino también a diferencias biológicas fundamentales (14). Este mayor aumento de ECV también se debe al cambio de estilo de vida de muchas mujeres respecto a etapas anteriores, ahora hay más sedentarismo, y mayor predisposición al estrés y ansiedad por la vida laboral. Otro factor muy importante ha sido el aumento del tabaquismo, sobre todo en las mujeres más jóvenes. Así, las mujeres hipertensas presentan más ictus, Hipertrofia Ventricular Izquierda (HVI) e IC diastólica que los hombres (2,12,14). El síndrome de ovario poliquístico está asociado con mayor riesgo de desarrollar DM, por eso se recomienda controles de glucemia en estas mujeres (15). La preeclamsia (HTA durante el embarazo acompañada de proteinuria), se asocia con mayor riesgo de tener HTA y DM, por lo tanto, aumenta el RCV (16). Aproximadamente la mitad de las mujeres con diabetes gestacional tiene riesgo de desarrollar DM a los 5 años del embarazo (17). En la menopausia se observa dislipemia, caracterizada por mayores niveles de Triglicéridos (TG), una disminución del colesterol en HDL (cHDL; high density lipoprotein cholesterol/lipoproteína de alta densidad), y un aumento de las cifras de colesterol total (18,19). Tanto en embarazos como en menopausia se ha observado mayor aparición de eventos tromboticos, secundarios a alteraciones de la actividad plaquetaria, factores de la coagulación y de la actividad fibrinolítica (20,21).

- **Antecedentes familiares/(epi) genéticos**

Antecedentes familiares

La historia familiar es una manera fácil y económica de evaluar el RCV. Comprende una combinación de factores genéticos y ambientales para desarrollar ECV (22). Hay evidencia sobre la alta probabilidad de heredar FRCV más importantes como Presión Arterial (PA) elevada, DM e hiperlipemia. Una historia familiar previa de muerte por ECV precoz se asocia con mayor riesgo de ECV en los familiares. La prevalencia de la enfermedad aterosclerótica o estos factores de riesgo deben cribarse en los familiares de primer grado de pacientes que hayan tenido un evento cardiovascular (CV) prematuro, considerando éste cuando sucede antes de los 55 años en varones y de 65 años en las mujeres (23). No existe evidencia sobre la edad en la que se debe comenzar el cribado pero se estima que un buen momento sería a partir de los 40 años con un seguimiento cada 5 años (24).

Marcadores genéticos

Estudios genéticos han identificado genes que se asocian con una mayor predisposición a tener FRCV, por lo tanto, mayor probabilidad de desarrollar un evento CV (2). Una puntuación de riesgo genético basada en 27 variantes genéticas ha permitido identificar sujetos con RCV que podrían beneficiarse del tratamiento precoz con estatinas (25). Sin embargo, los test individuales no ofrecen un beneficio clínico, quizá por la falta de consenso sobre los marcadores que se deben incorporar a estos test. Se prevé que será una importante herramienta en el futuro, pero hoy en día estos test no se recomiendan para la predicción de ECV (26).

En un FRCV tan importante como es la hipercolesterolemia familiar, sí se puede hacer un método extensivo de cribado genético y asesoramiento, permitiendo incluso un tratamiento precoz en los familiares afectados. Puede ser una herramienta muy útil en pacientes que están en un umbral de decisión difícil, en caso de resultado positivo se podría intensificar el tratamiento (2).

Estudios epigenéticos

Se han comenzado a hacer estudios epigenéticos en los que se observan cómo afectan los cambios químicos al ácido desoxirribonucleico (ADN) a la expresión génica (27). Se estudia concretamente como los niveles bajos de metilación de ADN se asocia con mayor riesgo de EC e ictus (28). De momento no hay datos suficientes que nos indiquen el beneficio de incorporar estas determinaciones en la predicción del RCV frente a los FRCV convencionales.

- **Factores de riesgos psicosociales**

Diferentes estudios han observado que hay factores psicosociales que aumentan el riesgo de ECV así como el empeoramiento de la evolución clínica y el pronóstico de la ECV establecida (2,29).

Entre los factores de riesgo psicosociales están:

- Estatus socioeconómico bajo; definido como nivel educativo bajo, ingresos bajos, trabajo poco reconocido, vivir en zona pobre o marginal.
- Aislamiento social y falta de apoyo social.
- Estrés en el trabajo y en la vida familiar.
- Estrés postraumático, situaciones de estrés agudo o catástrofes naturales: después del fallecimiento de un allegado, la tasa de incidencia de IAM se eleva 21 veces durante las primeras 24 horas, para después disminuir considerablemente en los siguientes días.
- Depresión y los síndromes depresivos, agravado por la falta de apoyo.
- Ansiedad y ataques de pánico.
- Hostilidad: rasgo de la personalidad que se caracteriza por desconfianza, enfado continuo y rabia.
- Personalidad tipo D: caracterizada por una tendencia permanente a la angustia, estado afectivo negativo e inhibición social.

Hay unos mecanismos comunes que relacionan estos factores psicosociales con un aumento de RCV que son el consumo de tabaco, una alimentación poco equilibrada, el sedentarismo, y una mala adherencia a la medicación y a las recomendaciones de estilo de vida (30). Los pacientes con depresión y estrés

crónico tienen alteraciones en el sistema nervioso autónomo, eje hipotálamo-hipofisario, y alteraciones endocrinas, que influyen en los procesos hemostáticos, inflamatorios, alteraciones de la función endotelial y de la perfusión miocárdica (31). Además hay determinadas medicaciones utilizadas por estos pacientes, como los antidepresivos tricíclicos, en el que los efectos adversos también juegan un papel importante en el RCV (32).

- **Tabaquismo**

El tabaquismo es culpable del 50% de todas las muertes evitables en fumadores, la mitad de las cuales se producen por eventos CV (33). El riesgo relativo de IAM en fumadores es el doble en mayores de 60 años y hasta 5 veces más en menores de 50 años (34).

Con las nuevas normativas estrictas sobre el tabaco en numerosos países europeos ya se ha visto una reducción importante de muertes de IAM, pero esta disminución del tabaquismo no es en todas las clases sociales por igual, por ejemplo, en la población con un nivel cultural bajo se mantiene un consumo muy elevado (2,30). Tradicionalmente el tabaco era consumido principalmente por varones, pero cada vez más mujeres y más jóvenes se inician en el consumo de tabaco. Hay muchas regiones donde el número de fumadoras igualan y sobrepasan al número de fumadores (35). En las mujeres el riesgo asociado al tabaco es mayor que en varones, sobre todo si se asocia con anticonceptivos orales (36). Los fumadores pasivos que comparten vivienda o lugar de trabajo con fumadores tienen un 30% más riesgo de ECV (37).

El tabaco es un factor importante en la formación de la placa aterosclerótica, tiene efecto sobre la función del endotelio, vasomotora, procesos oxidativos, función plaquetaria, fibrinólisis, inflamación y modificación lipídica (38).

- **Obesidad**

La obesidad se está convirtiendo en una epidemia mundial, que afecta tanto a adultos como a niños. Mientras que el resto de factores de riesgo clásicos están en descenso, la obesidad y la DM están en aumento (39). La obesidad y la

adiposidad abdominal aumentan la mortalidad por ECV, así como la mortalidad por cualquier causa (40,41).

Los índices de obesidad que mejor predicen el RCV son:

- la medida de perímetro abdominal
- el índice entre perímetro de la cintura y cadera
- Índice de Masa Corporal (IMC): peso (kg) / estatura (m²).

El IMC ha sido el más utilizado por su comodidad y por la dificultad para incorporar a la práctica clínica técnicas más sofisticadas. La medida del perímetro abdominal puede tener problemas en la precisión, sin embargo, dada la relación a la importancia patogénica que tiene la obesidad abdominal se mide cada vez más. Se recomienda la pérdida de peso a partir de un perímetro abdominal ≥ 102 cm en varones y ≥ 88 cm en mujeres. Un metanálisis ha concluido que tanto el IMC como el perímetro abdominal se asocian con la misma intensidad y de manera continuada a la ECV y la DM2 (42).

- **Hipertensión arterial**

La HTA se define como Presión Arterial Sistólica (PAS) igual o superior a 140 mmHg y/o Presión Arterial Diastólica (PAD) mayor o igual a 90 mmHg (43).

A nivel mundial las muertes por ECV secundaria a la HTA alcanzan los 9,4 millones de personas al año. La HTA está considerada uno de los FRCV más importantes. Produce el 45% de muertes por cardiopatía y un 51% de muertes por Accidente Cerebrovascular (ACV), una cifra alarmante si tenemos en cuenta que 1 de cada 3 personas en el mundo tiene HTA, muchos de ellos sin diagnosticar. La máxima prevalencia de HTA se registra en África con un 46% de adultos mayores de 25 años, mientras que la más baja se registra en América con un 35%. En la zona europea la prevalencia es de un 40% (44,45). Este aumento de prevalencia en África y otras regiones de ingresos bajos se debe principalmente a la falta de sistemas de prevención, al elevado número de personas sin diagnosticar, y la falta de tratamiento y control de la HTA (44,45).

Uno de los factores más importantes de la HTA es la edad, y los 4 factores modificables más importantes son: dieta, sedentarismo, alcohol y tabaco (2,43).

La PA elevada es un importante factor de riesgo de enfermedad cardíaca, insuficiencia cardíaca (IC), enfermedad cerebrovascular, EAP, insuficiencia renal (IR) y fibrilación auricular (FA)(2,43).

A todo paciente con HTA se recomienda la realización de: electrocardiograma, analítica sangre (glucosa basal, cLDL(low density lipoprotein cholesterol/lipoproteína de baja densidad colesterol), cHDL, TG, potasio, ácido úrico, creatinina), aclaramiento de creatinina, y determinación de microalbuminuria en orina (43).

La decisión de comenzar un tratamiento farmacológico no depende solo de los valores de PA, sino también de la evaluación del riesgo total CV del paciente. Para evaluar el RCV total se tendrá en cuenta la presencia de (43):

- ECV previa o ECV subclínica
- Enfermedad renal clínicamente establecida
- Coexistencia de otros factores de riesgo (tabaquismo, niveles de colesterol plasmático, DM, historia familiar de ECV prematura)

- **Diabetes mellitus**

La DM es un grave problema de Salud Pública. En las últimas décadas ha aumentado la prevalencia de forma alarmante. La prevalencia mundial de la DM desde 1980 hasta 2014 casi se ha duplicado, pasando del 4,7% al 8,5% en la población adulta. Se estima que en 2014 la DM en adultos ha alcanzado la cifra de 422 millones de personas en todo el mundo. En 2014 la DM provocó 1,5 millones de muertes, y se considera que otros 2,2 millones de muertes de causa CV fueron secundarios a niveles de glucosa por encima de lo deseado (46). Las personas con DM tienen como media el doble de riesgo de ECV (47). En pacientes diabéticos con evolución de la enfermedad durante 10 años, presencia

de proteinuria o una tasa de FG baja, se aproximan a una equivalencia de riesgo de tener una EC previa (48).

La mayoría de los pacientes con DM son obesos. Los cambios de estilo de vida: evitar sedentarismo, el sobrepeso, y cambios en los hábitos alimenticios, es el pilar central tanto en la prevención como en el manejo de DM (49).

Un control glucémico adecuado reduce significativamente las complicaciones microvasculares de la DM (retinopatía, nefropatía y neuropatía). Un control intensivo de la glucemia ha demostrado reducciones significativas del IAM no mortal y eventos de EC. Después de diversos estudios con resultados en ocasiones paradójicos; The Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) ha marcado como objetivo recomendado una hemoglobina glicosilada A1c (HbA1c) de 6,5-7,5% en pacientes con DM1. Esta cifra se considera adecuada para evitar a largo plazo el daño CV y disminuir la mortalidad (49,50).

En estudios recientes el empleo de un inhibidor del cotransportador sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2), empagliflozin, ha demostrado una reducción importante de la mortalidad por todas las causas, disminución de muerte CV, así como una disminución de la hospitalización por IC, se sugiere comenzar con este fármaco de forma precoz en pacientes con DM y ECV (51).

Actualmente se recomienda la utilización de estatinas en mayores de 40 años con DM independientemente de sus niveles de colesterol. También se recomienda la incorporación de estatinas en pacientes con DM menores de 40 años con factores de riesgo significativos o con evidencia de daño orgánico (2,49).

Una reciente revisión sistemática en pacientes con DM tipo 2 confirma que la reducción de PA disminuye el riesgo de mortalidad por todas las causas, eventos CV, EC, ACV, IC, retinopatía, daño renal precoz e IR (52). Valores de PAS < 140 mmHg, reducen el riesgo de complicaciones macrovasculares y microvasculares. Niveles de control más estrictos PAS < 130 mmHg disminuye aún más el riesgo por ACV, retinopatía y albuminuria. En la mayoría de los

pacientes con DM tipo 1 el objetivo de PA recomendado es de 130/80 mmHg, siendo menos exigentes con mayores de 80 años en estos pacientes el objetivo de <150/90 mmHg sería aceptable, a no ser que tengan IR establecida (2,49).

- **Dislipemia**

Se engloba en el término de dislipemia cualquier alteración en los niveles de los lípidos plasmáticos (colesterol, sus fracciones y TG) ya sea por exceso o por defecto (53). La relación entre el colesterol y el RCV es incuestionable (2,53). A pesar de ello, en estudios a nivel mundial se ha observado un importante déficit en el diagnóstico y sobre todo en el tratamiento, con una gran variabilidad entre países (53). El Estudio de Nutrición y Riesgo Cardiovascular en España (ENRICA) estima que la mitad de la población adulta tiene hipercolesterolemia y también pone de manifiesto la escasa adherencia al tratamiento, especialmente en diabéticos y paciente con ECV establecida, precisamente la población en la que el riesgo de mortalidad por ECV es más elevado (54).

La determinación de dislipemias debe ser considerada en todos los hombres \geq 40 años de edad y en las mujeres \geq 50 años de edad o después de la menopausia. También está indicado el cribado en los hijos de pacientes con dislipidemia severa y en familiares de pacientes con ECV precoz (2,53).

Las **concentraciones bajas de cHDL** son un factor independiente de mayor RCV (55). De hecho es uno de los valores considerados en las herramientas que se disponen para estimar el RCV. A pesar de no haber suficiente evidencia para establecer objetivos terapéuticos para el cHDL, se consideran marcadores de aumento de riesgo los niveles de cHDL < 40 (mg/dl) en varones y < 45 (mg/dl) en mujeres (24).

Existe una relación firme y positiva entre **valores elevados de colesterol total o cLDL** y el riesgo de ECV. Igual de firme es la evidencia de que la reducción de cLDL reduce el riesgo de ECV, de ahí que la reducción del cLDL sea uno de los

objetivos principales en la prevención de ECV. Cada 1,0 mmol/l de cLDL que se reduce, disminuye un 20-25% la mortalidad por ECV e IAM (53,56,57).

- En pacientes con RCV muy elevado o con ECV establecida el objetivo es cLDL < 70 mg/dl o una reducción $\geq 50\%$ si no se puede alcanzar el objetivo marcado, el tratamiento se aplicará independientemente del perfil lipídico inicial de estos pacientes.
- En pacientes con RCV elevado el objetivo es mantener el cLDL < 100 mg/dl o una reducción $\geq 50\%$ si no se puede alcanzar el objetivo marcado.
- En pacientes de riesgo moderado-bajo el objetivo es mantener el cLDL < 115 mg/dl (53).

La **hipertrigliceridemia** es un factor independiente y significativo, pero parece tener una relación menos firme que la hipercolesterolemia (58). Por otra parte, los datos genéticos recientes apoyan el argumento de que la elevación de los niveles de TG son una causa directa de la ECV. Los estudios revelan que la elevación de TG postprandiales están asociados a un mayor RCV (59–61). Se considera marcador de riesgo los niveles de TG por encima de 150 mg/dl (62).

Las estatinas son el fármaco hipolipemiante de elección. Han sido y son ampliamente utilizadas en muchos estudios de RCV, su perfil de seguridad es aceptable y han demostrado reducir la morbimortalidad CV y la necesidad de intervenciones coronarias. Las estatinas a dosis que reduzcan la cLDL a la mitad pueden detener la progresión o incluso favorecer la regresión de la aterosclerosis coronaria (57,63).

1.4. Enfermedades con aumento de riesgo de enfermedad cardiovascular.

La aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria en la que los mecanismos inmunitarios interactúan con factores metabólicos y activan lesiones arteriales. Varias patologías en las que intervienen procesos inflamatorios se asocian a una mayor tasa de eventos CV. Entre ellas se encuentran la enfermedad renal crónica, la apnea obstructiva del sueño, la psoriasis, la artritis reumatoide, el

lupus eritematoso, la periodontitis, la enfermedad vascular tras exposición a radiación y la enfermedad vascular tras el trasplante (2):

1.5. Estimación de riesgo cardiovascular.

La estimación del riesgo total se ha convertido en una herramienta fundamental para el médico, ya que permite tratar al individuo de forma integral y no sólo los factores de riesgo individuales. Los FRCV combinados pueden interactuar, incluso tener efecto multiplicador. Mientras que los pacientes con ECV establecida son de fácil detección y son inmediatamente candidatos a la evaluación y el manejo intensivo de todos los factores de riesgo, sin embargo, el reto está en la detección de personas aparentemente sanas pero cuya estimación de riesgo es elevada.

Hay gran variedad de sistemas para la estimación de RCV como son el SCORE, ASSIGN (CV risk estimation model from the Scottish Intercollegiate Guidelines Network), Q-Risk, PROCAM (Prospective Cardiovascular Munster Study), Progetto Cuore risk score, the Pooled Cohort equations, Arriba, y Globorisk, algunos muy utilizados en el pasado como el método de Framingham (2).

En la actualidad el sistema más utilizado y recomendado por las guías de RCV es el sistema SCORE, ya que se basa en grandes bases de datos de cohortes representativas y con validación externa (2).

Sistema SCORE

El sistema SCORE (8) calcula el riesgo a 10 años de sufrir un primer evento CV mortal. Según la Guía de 2016 encargada de la prevención de enfermedades cardiovasculares (2), el cribado de factores de riesgo está recomendado en varones > 40 años y mujeres > 50 años o posmenopáusicas. La estimación de RCV debería realizarse siempre que se identifique uno o más factores de riesgo, que exista una historia familiar de ECV precoz o factores familiares importantes (como dislipemia), que haya presencia de síntomas que indiquen ECV o si el paciente lo solicita.

La estimación del riesgo mediante el sistema SCORE se realiza a partir de tablas (Figura 1) y tiene en cuenta datos del paciente como el sexo, la edad, hábito tabáquico, PAS y colesterol total. El manejo de las tablas es fácil y rápido, para ello se selecciona el sexo del paciente, si es o no fumador, y el rango de edad. Con estos 3 datos se sitúa en el bloque correspondiente y con el valor de colesterol total y la PAS se obtiene un valor numérico y código de color en dicho bloque que indica:

0. verde oscuro: bajo riesgo <1%

1. verde claro: bajo riesgo 1<2%

2. amarillo: bajo riesgo 2<3%

3-4. naranja: bajo riesgo 3<5%

5-9. rojo brillante: alto riesgo 5<10%

10-14. rojo: alto riesgo 10<15%

15-26. rojo oscuro: alto riesgo >15%

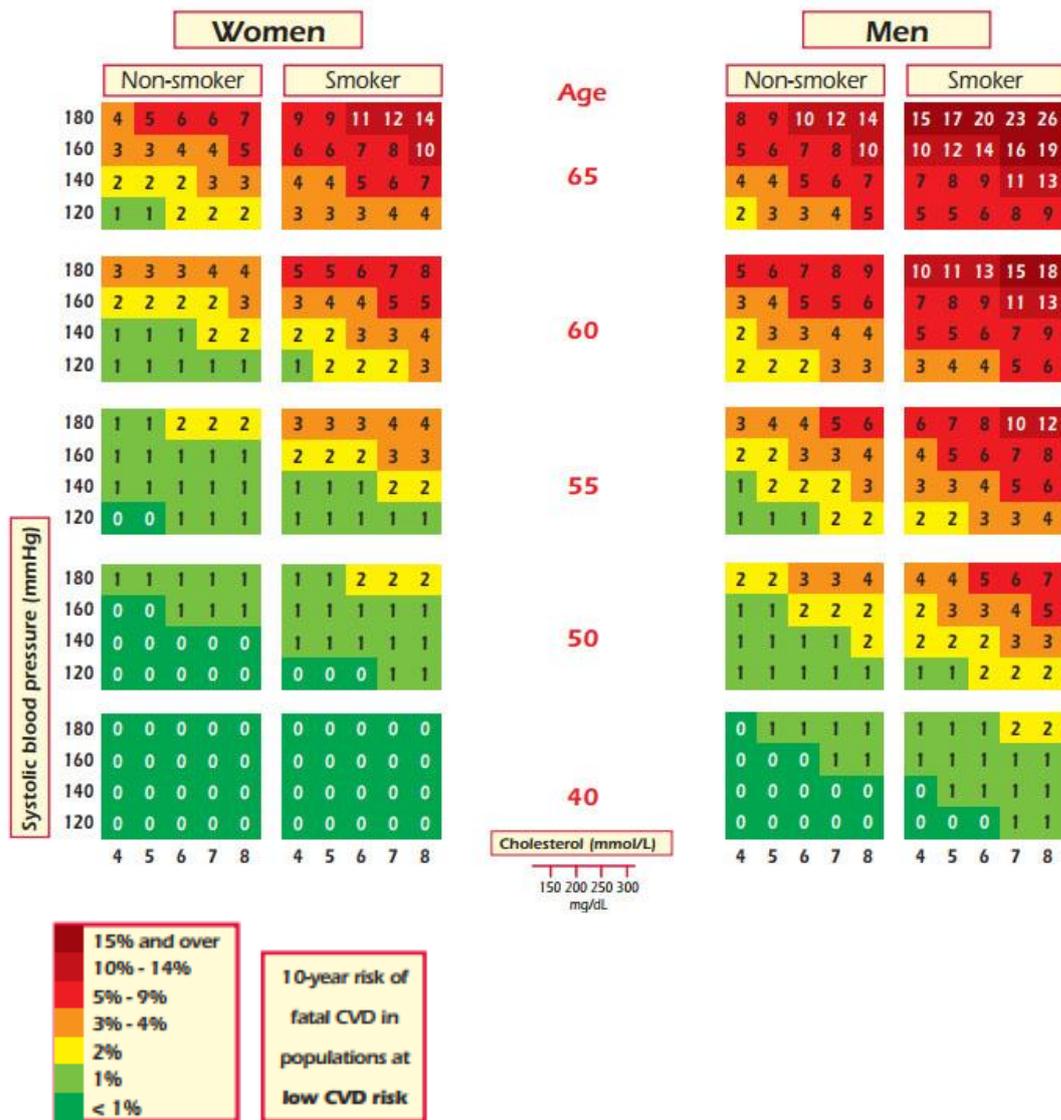


Figura 1. Tabla SCORE para cálculo del riesgo cardiovascular en países de bajo riesgo (2).

Ventajas del sistema SCORE:

Este sistema ofrece ventajas respecto a otros métodos empleados para estimar el riesgo cardiovascular:

- Sistema intuitivo, fácil de usar y rápido.
- Permite un lenguaje común de riesgo, muy útil en la práctica clínica.
- Tiene en cuenta la multifactoriedad de la ECV.
- Muestra de manera clara el aumento de riesgo con el aumento de la edad.

- La incorporación de riesgo relativo permite identificar personas jóvenes con riesgo absoluto bajo que sin embargo tienen riesgo relativo alto y reducible, permite estimar la edad de RCV del individuo.

Limitaciones del sistema SCORE:

Por otro lado, el riesgo puede sin embargo ser subestimado en algunos casos. En primer lugar, la edad está limitada entre 45-65 años y no hay diferenciación entre grupos étnicos. Además, estima el riesgo de mortalidad ECV pero no el riesgo total. Las tablas SCORE de consulta rápida que se utilizan en la práctica clínica deja fuera factores de riesgo adicionales como (cHDL, peso corporal, historia familiar, nuevos marcadores de riesgo).

Por ello, el riesgo se puede subestimar en los siguientes casos:

- Individuos sedentarios u obesos (especialmente obesidad central). El riesgo asociado al sobrepeso es mayor en personas jóvenes que en personas de edad más avanzada.
- Individuos socialmente desfavorecidos o con problemas de adaptación social.
- Individuos con DM: los varones diabéticos tienen un riesgo 3 veces superior, y las mujeres diabéticas 5 veces superior.
- Individuos con cHDL bajo y TG elevados, especialmente en casos de hipercolesterolemia familiar.
- Individuos asintomáticos con evidencia de aterosclerosis subclínica, como por ejemplo un índice tobillo/brazo reducido o placas documentadas en pruebas de imagen como ecografía de carótidas o Tomografía Computerizada (TC) calcio coronario.
- Individuos con ERC moderada-grave (TFG < 60 ml/min/1,73 m²).
- Pacientes con historia familiar de ECV precoz.

Otras escalas de estimación de RCV.

En los últimos años se están utilizando escalas más elaboradas como **ASCVD** (atherosclerotic cardiovascular disease/enfermedad cardiovascular aterosclerótica) risk estimator y **Lifetime risk**, promovidas por The American Heart Association y The American College of Cardiology.

Estas escalas, al igual que el sistema SCORE, tienen en cuenta la edad, sexo, PAS, tabaquismo y colesterol total pero además incluyen otros factores como la raza, DM, tratamiento farmacológico (antihipertensivos, estatinas o ácido acetil salicílico). Además, se desglosa la dislipemia en sus fracciones (colesterol total, cLDL, cHDL), y contempla niveles elevados la PAD. La estimación de riesgo está basada en revisiones sistemáticas de alta calidad y numerosos metaanálisis. Actualmente se están utilizando en estrategias de prevención de RCV aterosclerótico en estudios longitudinales a gran escala (64). Se puede acceder a la escala desde www.acc.org.

1.6. Estratificación del riesgo cardiovascular.

Cuanto mayor es el RCV mayores beneficios se consiguen con las medidas preventivas, de ahí que sea tan importante estratificar el riesgo. Se propone la siguiente clasificación de riesgo (2):

1. Riesgo muy alto

Sujetos con cualquiera de los siguientes factores:

- ECV documentada (angiografía coronaria, imagen nuclear, ecocardiografía de estrés, placa carotídea por ultrasonidos), IAM, Síndrome coronario agudo, revascularización coronaria o arterial, ictus isquémico, EAP.
- DM1 o DM2 con al menos un FRCV o lesión de órgano diana
- ERC grave (TFG < 30 ml/min/1,73 m²)
- Estimación SCORE ≥ 10%

2. Alto riesgo

Sujetos con cualquiera de los siguientes factores:

- Factores de riesgo específicos marcadamente elevados
- DM1 o DM2 sin FRCV ni lesión de órgano diana.
- ERC moderada (TFG 30-59 ml/min/1,73 m²)
- Estimación SCORE \geq 5% y < del 10%

3. Riesgo moderado

- SCORE \geq 1% y < 5%

4. Bajo riesgo

- SCORE <1%

1.7. Estrategias de prevención de la enfermedad cardiovascular.

La prevención de la ECV se define como un conjunto coordinado de acciones, a nivel poblacional o individual, con el objetivo de erradicar, eliminar o reducir al mínimo el impacto de las enfermedades cardiovasculares y su discapacidad relacionada (2,65).

La prevención de la ECV es una estrategia que debe seguirse toda la vida, dado que es la causa de muerte prevenible más importante cualquier esfuerzo en la prevención es beneficioso. La prevención debería empezar antes del nacimiento del individuo, educando a los padres. Desde los colegios promover el placer y las sensaciones de la alimentación saludable y la actividad física (66). A los 11-12 años se debería comenzar con una educación intensa en la prevención del tabaquismo. En el ámbito hospitalario promover hábitos de vida saludable por parte de personal médico, enfermería y especialistas en cardiología, así como educar con el ejemplo. Para una buena prevención de ECV es básica la información del médico al paciente sobre la importancia de hacer un cambio en el estilo de vida, explicar la importancia de la nutrición, control de peso, práctica de ejercicio, relajación y la importancia del abandono del tabaco (2).

Medidas legislativas pueden ser de gran ayuda, como obligar al etiquetado de productos con alto contenido en azúcar, grasas trans, así como obligar a reducir grasas insaturadas y sal en productos elaborados (49,53). La prohibición de fumar en espacios públicos ya ha dado sus frutos con disminución de la incidencia de IAM en los países que incorporaron esta ley. Hacerla más restrictiva y no dar tregua a quien la incumpla, puede ayudar a seguir disminuyendo incidencia (2,37).

- **Tabaquismo**

El paciente debe conocer el beneficio del abandono del tabaco. Algunos efectos son casi inmediatos, otros requieren más tiempo. El RCV disminuye rápidamente tras el abandono del tabaco, la reducción de mortalidad es muy significativa en los primeros 6 meses. Un paciente que abandona el tabaco disminuye el RCV hasta un riesgo intermedio entre el fumador activo y el que no ha fumado nunca (67). Tras un IAM dejar de fumar es la mejor medida preventiva (68).

Terapias sobre el comportamiento son efectivas para ayudar a dejar de fumar, es muy importante el apoyo familiar y de la pareja. Aunque la mayoría de la gente deja de fumar sin ayuda, las terapias de sustitución de nicotina o fármacos como vareniclina y bupropion mejoran las tasas de abandono (69).

- **Nutrición**

Una dieta saludable es fundamental en la prevención de la ECV. La dieta va a influir sobre otros factores de riesgo como son el colesterol sérico, PA, peso y DM (2,43,49,53).

Entre las recomendaciones que podemos aportar al paciente destacan las siguientes:

- Reducción de ácidos grasos saturados y sustituirlos por ácidos grasos insaturados en la medida de lo posible.
- No ingerir alimentos procesados ya que son ricos en sal y grasas trans.
- Ingesta de sal < 5g/ día.
- Promover el consumo de fibra, verduras y frutas.

- Mayor consumo de pescado, como mínimo dos veces por semana (una de las raciones debe ser de pescado azul). El consumo de dos raciones de pescado a la semana puede reducir la mortalidad por EC un 36% y 17% por todas las causas.
- El consumo de bebidas alcohólicas no debe pasar de 20g/día en varones y 10g/día en mujeres.
- Evitar el consumo de bebidas azucaradas ya que el consumo habitual de estas bebidas se asocia con sobrepeso y DM, su consumo se ha asociado con un 35% más de riesgo de EC en mujeres.

- **Actividad física**

El sedentarismo es uno de los principales FRCV. Por el contrario, la realización regular de ejercicio aeróbico se asocia con una reducción de riesgo por muerte CV entre 20-30%. Los adultos deberían realizar como mínimo 2,5-5 h de ejercicio físico aeróbico a la semana. Los pacientes con ECV establecida deberían hacer ejercicio físico aeróbico moderado por lo menos 30 min 3 veces a la semana (2,35,37,49).

El ejercicio físico mejora la función endotelial, mejora la microcirculación, tiene efecto positivo sobre otros factores de riesgo como reducir PA, aumento de concentraciones de cHDL, controla el peso, reduce el riesgo de DM no insulino dependiente (70).

- **Factores psicosociales**

Las intervenciones psicológicas pueden ayudar al paciente a controlar el estrés, la depresión y promover un estilo de vida y comportamiento saludables(31,32).

- **Hipertensión arterial** (medidas no farmacológicas)

Cambios en el estilo de vida puede ser suficientes en el tratamiento de PA ligeramente elevada, y beneficiosas para hipertensiones más severas, mejoran el control y permiten disminuir dosis de fármaco.

Entre las medidas que mejoran la PA se recomienda: la pérdida de peso, disminución de la ingesta de sal por debajo de 5g/día, disminución del contenido de grasa en la dieta, actividad física, reducción del consumo de alcohol y abandono del tabaco (2,43).

Problemas en la adherencia al tratamiento farmacológico.

Los pacientes muestran una baja adherencia al tratamiento farmacológico, sobre todo los pacientes con riesgo elevado, que precisamente son los que mayores beneficios obtienen.

Un 25-30% de los pacientes abandonan alguno de los fármacos al mes de haber sufrido un IAM. Al año es un 50% de los pacientes reconocen no llevar un uso continuado de los fármacos (2).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha intentado detectar los posibles motivos:

- La mala relación/comunicación entre médico y paciente, o el consejo insuficiente puede provocar que el paciente no tenga suficiente conocimiento sobre la importancia del fármaco, incluso confusión sobre su beneficio, posología o duración del tratamiento. La falta de continuidad de atención sanitaria es otro motivo de abandono (71).
- En la prevención de EVC la falta de síntomas y la cronicidad de su administración es otro de los motivos (72).
- La discapacidad física, como: problemas de motricidad, visión, deglución etc...trastornos cognitivos, factores psicológicos como: depresión, falta de motivación, o problemas conductuales son motivos individuales de cada paciente para una falta de adherencia. A veces la complejidad del régimen de tratamiento unido a la plurimedicación que requieren los pacientes son motivo de olvido o abandono, también los efectos secundarios de estos fármacos (73). Problemas socioeconómicos como nivel educativo bajo, falta de ayuda, apoyo social, o el coste elevado de la medicación (74).

2. Evolución fisiopatológica de la enfermedad cardiovascular.

2.1. Antecedentes históricos.

En enero de 1989, ante la progresión de la ECV que ya ocupaba la primera causa de muerte en EEUU, se celebró en Boston el taller “Frontiers in Cardiovascular Therapy and Cardiac Protection - resolved and unresolved issues”. De esta reunión surgió la primera publicación por Dzau y Braunwald, en 1991, en el que propusieron un modelo etiopatológico que explicase el papel de la aterosclerosis coronaria en la ECV (75). En un segundo trabajo publicado en 2006 por Dzau, se consolidó el modelo propuesto que habían acuñado con el nombre de **continuum cardiovascular** (76,77), donde se logra demostrar el papel fundamental del estrés oxidativo y la disfunción endotelial en la aterosclerosis de las arterias coronarias. Si bien es verdad que este modelo no terminaba de explicar la incidencia, no despreciable, de casos de isquemia de miocardio sin enfermedad aterosclerótica, con ayuda de los avances de biología molecular, la aparición de técnicas no invasivas y los avances en técnicas de imagen cardíaca, surgió un tercer trabajo publicado por O'Rourke en 2010 que incorporó un nuevo concepto adicional al continuum clásico; el **envejecimiento vascular** (78).

2.2. Continuum cardiovascular.

El **continuum cardiovascular** comienza con una serie de **factores de riesgo** que pueden producir daño endotelial (Figura 2). Estos factores de riesgo son los ya mencionados en la introducción (*apartado 1.3 factores de riesgo convencionales*). Los factores de riesgo convencionales van a producir un **estado inflamatorio** y **estrés oxidativo** que va a desencadenar un **daño endotelial** en el sistema CV, todos ellos implicado en el inicio y desarrollo de la aterosclerosis (76,77). Por los mecanismos fisiopatológicos anteriormente descritos va a ir apareciendo patología orgánica, aunque en estados iniciales curse de manera asintomática, es lo que conocemos **ECV subclínica**.

Si no se consigue poner freno a los factores implicados en la aparición de ECV subclínica, puede conllevar la aparición de **enfermedad clínica**, manifestada

como enfermedad cardíaca (angina de pecho), enfermedad cerebrovascular (AIT) o enfermedad renal (proteinuria e IR moderada). En estadios más avanzados aparecerían **eventos cardiovasculares** como IAM, IC, ictus y Enfermedad Renal Terminal (ERT), todas ellas con alto índice de mortalidad (2,76,77) (Figura 2).

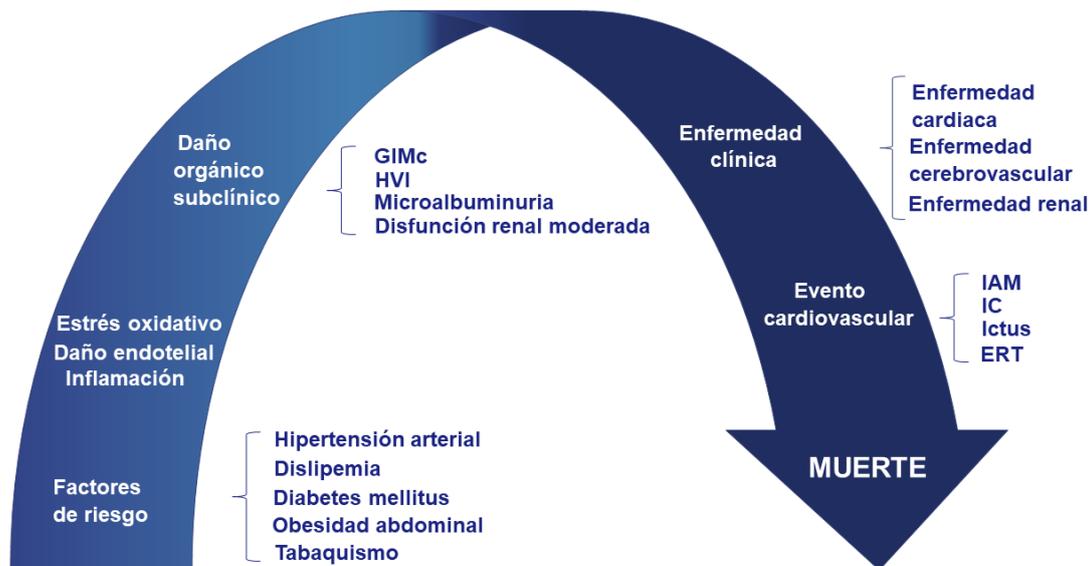


Figura 2. Evolución fisiopatológica del continuum cardiovascular. (Adaptado de Dzau et al. E. *Am Heart J.* 1991, Ref.75). ERT: Enfermedad renal terminal, GIMc: Grosor íntima media carotídeo, HVI: hipertrofia ventricular izquierda, IAM: Infarto agudo de miocardio, IC: insuficiencia cardíaca

La importancia del *continuum cardiovascular* es conocer bien la fisiopatología de cada eslabón, de tal manera que al intervenir precozmente en las etapas iniciales de la cadena podamos cortar la progresión de la enfermedad y evitar el evento CV. Muy importante también es tener herramientas que estimen el grado de afectación orgánica, para anticiparse a la enfermedad clínica. Hay numerosos estudios que han demostrado la disminución de la morbimortalidad CV actuando sobre los factores de riesgo. Medidas no farmacológicas como cambios del estilo de vida (abandono del tabaco, cambios en la dieta, ejercicio) (37,66,68,79), y medidas farmacológicas como antihipertensivos, hipoglucemiantes, fibratos y

estatinas (43,53,57,80). En los pacientes que ya tienen Lesión Aterosclerótica Carotídea Subclínica (LACS), también se ha demostrado que la intervención farmacológica disminuye la progresión muerte por ECV (79,81).

La presencia de ECV subclínica se puede ver manifestada en los siguientes marcadores:

a) Aumento del grosor íntima media carotídeo:

Una manera de valorar la enfermedad aterosclerótica subclínica es midiendo el grosor íntima media carotídeo (GIMc). El GIMc parece ser de valor diagnóstico por su correlación positiva con los FRCV y con la prevalencia de enfermedad cardiovascular/cerebrovascular, y tener un importante papel en el control de la progresión, estabilización y regresión de la enfermedad aterosclerótica con el tratamiento hipolipemiante, antihipertensivo, y el de otros FRCV (82–86).

b) Hipertrofia ventricular izquierda:

Son múltiples los factores implicados en el continuum cardiovascular para el desarrollo de HVI. Hay factores de riesgo con implicación directa como la HTA, pero todos los factores de riesgo, por sus procesos fisiopatológicos van a tener una implicación indirecta. En el remodelado cardíaco va a influir; la angiotensina II, vasopresina, factores de crecimiento peptídico, endotelina, péptidos natriuréticos, citoquinas, estrés oxidativo y la insulina (87). La HVI ha demostrado incrementar de manera significativa el aumento de RCV, de hecho, se ha incorporado hace tiempo el diagnóstico de HVI como uno de los marcadores fundamentales de detección de ECV. Aumenta el riesgo de desarrollar IC, cardiopatía isquémica, muerte súbita, FA e ictus (hay una relación muy estrecha entre la HVI e ictus, incluso en pacientes normotensos) (2,88).

c) Disfunción renal moderada:

La disfunción renal en la actualidad afecta a un porcentaje importante de la población y está relacionada con enfermedades de alta prevalencia, como, la HTA, DM o la ECV (89). El estudio EPIRCE (Estudio Epidemiológico de la

Insuficiencia Renal en España), advierte que la prevalencia de ER crónica en población general es del 9,16% (90). Las principales guías internacionales y nacionales sobre el manejo del paciente hipertenso incorporaron la albuminuria entre las variables principales de RCV (43).

En los últimos años las sociedades científicas de nefrología han desarrollado una enorme actividad de información e investigación acerca de la enfermedad renal, como son la estimación de la función renal mediante ecuaciones para el cálculo del FG, basadas en la determinación de la creatinina sérica y la evaluación de la albuminuria mediante la determinación del cociente albúmina/creatinina (CAC) en una muestra aislada de orina. Según la guía Improving Global Outcomes (KDIGO), se clasificará la albuminuria como A1, A2 o A3, según el CAC en una muestra aislada de orina sea <30, 30-300 o >300mg/g, respectivamente (91).

2.3. Continuum de envejecimiento vascular.

Posteriormente el **Continuum de envejecimiento vascular** surgió con la necesidad de explicar los casos de isquemia miocárdica en pacientes con ausencia de aterosclerosis coronaria significativa como para desarrollar una obstrucción. Los estudios llevados a cabo por O'Rourke (78) se centraron en el estudio microvascular de estos pacientes, de modo que la degeneración progresiva de la aorta proximal crea una rigidez e inflamación que va a repercutir en la vascularización del corazón, cerebro y riñones, pudiendo desencadenar un evento CV independiente a la aterosclerosis.

Así el envejecimiento vascular se va a desarrollar en varias fases:

En una primera fase, con el tiempo la aorta y los grandes vasos sufren un envejecimiento que provoca microlesiones en la capa elástica de la arteria, lo que conlleva un estado inflamatorio crónico y rigidez en la arteria.

En una segunda fase, la rigidez arterial de la aorta proximal, así como la reducción de la perfusión coronaria provoca un aumento de la poscarga e hipertensión sistólica aislada. Esto conlleva un aumento del trabajo cardiaco que se traduce en el tiempo en una HVI. Este aumento de masa del ventrículo

izquierdo disminuye la perfusión coronaria y puede provocar una isquemia miocárdica.

En la tercera fase, la rigidez arterial hace que la amortiguación de la onda de pulso arterial sea deficiente afectando al endotelio de la microcirculación. La reparación continua de este endotelio lleva a un estado inflamatorio crónico con elevación permanente de parámetros inflamatorios. Esta reparación e inflamación continua predispone a la trombosis e isquemia.

Por último, hay una cuarta fase que se producirá simultáneamente junto a la tercera, la HVI, que demanda mayor perfusión del miocardio, unida al acortamiento de tiempo diastólico, aumenta el riesgo de isquemia miocárdica.

2.4. Mecanismos fisiopatológicos implicados en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular aterosclerótica.

Como acabamos de ver en la etiopatogenia del *continuum cardiovascular* los FRCV tradicionales tienen una fuerte implicación y contribuyen a la aparición de inflamación, estrés oxidativo y daño endotelial. Cada uno de ellos por separado está implicado en la fisiopatología vascular, pero además la presencia de varios de ellos ejerce de catalizador para desarrollar la ECV (Figura 3).

La función endotelial normal depende del equilibrio entre el Óxido Nítrico (NO) y las especies oxidativas. El desequilibrio conlleva un estrés oxidativo que induce la expresión de mediadores proinflamatorios y proteínas quimiotácticas, cuyo papel es muy importante en la aterogénesis temprana. Cualquier alteración de la función endotelial normal puede inducir respuestas vasculares patológicas, como la proliferación del músculo liso, vasoconstricción, inflamación y trombosis. También está asociada a importantes mediadores inflamatorios locales, como quimiocinas, citocinas y moléculas de adhesión (92,93).



Figura 3. Etiopatogenia del *continuum* cardiovascular (adaptado de Dzau et al. Circulation. 1996; Ref.76). ACE: enzima convertidora de angiotensina, AII: Angiotensina II, ICAM: molécula de adhesión intercelular, NO: Oxido nítrico, PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno-1, VCAM: molécula de adhesión celular vascular

El Sistema Renina-Aldosterona (SRAA) desempeña un papel importante en la fisiopatología de las ECV. La **angiotensina II** interviene en la hemodinámica renal, tiene efecto directo en los tejidos cardiovasculares, está implicada en la vasoconstricción, en el remodelado vascular y cardíaco y está ampliamente relacionada con la respuesta inflamatoria, el estrés oxidativo, ruptura de la placa y trombosis. Así, la mala adaptación tisular puede dar como resultado HTA, isquemia cardíaca, cardiomiopatía, enfermedades pulmonares y sistémicas. Otras hormonas, como la vasopresina, que tiene efecto sobre el músculo liso vascular aumentando la resistencia vascular, contribuyen a la fisiopatología vascular (94,95).

Los niveles elevados de angiotensina II en los pacientes con HTA son responsables de la acumulación de colágeno en la pared adventicia arterial y de

la hipertrofia celular de la capa media, con desestructuración y pérdida de la elastina, lo que lleva a la arteria a perder su elasticidad, disminuyendo el diámetro de la luz del vaso e interfiriendo en la correcta relajación vascular. Algunos estudios han demostrado que las células T y las citocinas que expresan se encuentran fuertemente implicadas tanto en la inflamación como en la disfunción arterial de los pacientes hipertensos (96,97). En modelos animales se ha estudiado como podría influir la administración de fármacos antihipertensivos en la pared arterial y aunque se obtuvo un buen control de la PA, no se consiguió por el contrario revertir los depósitos de colágeno de la adventicia, lo que sugiere que la fibrosis y el remodelado vascular secundario a la HTA pueden ser irreversibles (98)

La acción de la angiotensina sobre la pared vascular y la activación de las citocinas inflamatorias, junto con la distensión mecánica de la arteria en la HTA, parece que en conjunto estarían implicadas en la activación de las MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinases/proteína quinasa activada por mitógenos), considerada como parte mediadora importante en la pérdida de elasticidad arterial (99,100). La distensión de la arteria tiene su efecto a nivel endotelial, aumenta la expresión de ICAM-1 (Intercelular Adhesión Molecule 1/Molécula de adhesión intercelular 1), y aumenta la adhesión de los monocitos al endotelio, asociándose con la producción de radicales libres, promoviendo un estado inflamatorio y acelerando el proceso aterosclerótico (101). Dado por tanto que antes de la aparición de una HTA elevada objetivable, puede haber cambios estructurales irreversibles que afecten a la rigidez arterial, las medidas preventivas en el control de la PA son de gran importancia (98).

Numerosos estudios han puesto de manifiesto la relación que existe entre las **concentraciones plasmáticas de glucosa** y la patología vascular. Los niveles elevados de glucosa forman enlaces covalentes con las proteínas estructurales y funcionales por medio de un proceso denominado glicación, dando lugar a los denominados productos finales de glicación avanzada/Advance Glycation End products (AGEs), que son la principal causa de las complicaciones en la DM

(102). El fibrinógeno es una de las proteínas más afectadas y se considera una de las principales causas de disfunción vascular y aterosclerosis en diabéticos. Así, esta modificación en las proteínas plasmáticas puede provocar deterioro en la fibrinólisis y activación de plaquetas, además de generar radicales libres de oxígeno y provocar una mala regulación en el sistema inmunológico (102–104).

Las células que expresan altos niveles del transportador de glucosa 1 (GLUT 1), como ocurre en las células endoteliales vasculares, son incapaces de regular las concentraciones intracelulares de glucosa y son más susceptibles a padecer los daños ocasionados por los AGEs. La alteración de los AGEs sobre el colágeno y la elastina de los vasos provoca rigidez vascular, y los daños sobre el sistema vascular producen fibrosis miocárdica, disfunción diastólica e hipertensión sistólica (105,106). Además, en respuesta a los productos de glucosilación y a las citocinas, el endotelio libera tromboxanos y endotelina que finalmente provocan un daño en el glucocaliz del mismo (107), permitiendo el paso de las cLDL al espacio subendotelial, perpetuando así la actividad inflamatoria y por lo tanto la aparición de aterosclerosis. De hecho, en las localizaciones donde son más frecuentes las complicaciones diabéticas, como en las placas ateroscleróticas, se observan niveles elevados de AGEs y de anticuerpos contra los AGEs, lo que pone de manifiesto el papel tan importante que desempeñan en la aterogénesis (107,108).

Existen receptores de la familia de las inmunoglobulinas que interactúan con los AGEs. Estos receptores, denominados receptores para los productos finales de glicación avanzada (RAGE), los podemos encontrar en macrófagos, células endoteliales y músculo liso. La unión de los AGEs a los receptores de estas células provocan un incremento del estrés oxidativo, expresión de citocinas inflamatorias, como Interleuquina-6 (IL-6) y TNF- α (Tumor Necrosis Factor/ factor de necrosis tumoral), mayor expresión de moléculas de adhesión como ICAM-1, VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1/molécula de adhesión celular vascular 1) y aumento de la permeabilidad vascular, por lo tanto parece tener un papel importante en la aterosclerosis (108,109).

La retención de **lipoproteínas ricas en colesterol** en el subendotelio de la pared arterial es un mediador clave en el desarrollo de la aterosclerosis. Las arterias en donde hay disfunción endotelial son el lugar preferente para la penetración y acumulación de lipoproteínas y por lo tanto para la formación de la placa aterosclerótica (110). Las **cLDL** son consideradas las partículas principales en la aterogénesis. Por su tamaño y su densidad son susceptibles de penetrar en la pared arterial y promover la inestabilidad de la placa, aunque otras lipoproteínas como las lipoproteínas ricas en TG y la lipoproteína-a también contribuyen en el depósito de colesterol de la íntima. Los grandes quilomicrones y VLDL (Very Low Density Lipoproteins/ lipoproteínas de muy baja densidad) tienen dificultad para penetrar en la íntima, sin embargo sus remanentes, más pequeños, pueden atravesarla y quedar retenidos en el tejido conectivo (111,112). Una vez retenidos en la pared arterial serán fagocitados por los macrófagos que se transformarán en células espumosas. El acúmulo de células espumosas lleva a la formación de estrías grasas, con núcleos necróticos y formación de una capa fibrosa. Los macrófagos liberan enzimas proteolíticas que debilitan la capa fibrosa y el colágeno intersticial y de este modo debilitan la estructura vascular, provocando la desestabilización y posible ruptura de la capa íntima del vaso (113).

Entre los mecanismos fisiopatológicos de los niveles altos de lipoproteínas en sangre encontramos, alteraciones en la dilatación arterial, producción de citocinas proinflamatorias, activación de monocitos, aumento de estrés oxidativo e inactivación del NO, y aumento de expresión de moléculas de adhesión endotelial. Todos estos mecanismos tienen una importante implicación en la disfunción endotelial (93,112). Además están implicadas en la liberación de factores tisulares, generación de trombina, aumento de fibrinógeno y factores de coagulación VII y XII e inhibición de la fibrinólisis por lo tanto son responsables directos de la fisiopatología implicada en los eventos CV (114,115).

En contrapartida, el **cHDL** presenta un importante efecto protector vascular. Evita el almacenamiento vascular de lipoproteínas de baja densidad, tiene efecto antioxidante y antiinflamatorio (83), inhibe la apoptosis de células endoteliales y

contribuye en la reparación del endotelio dañado, inhibe la activación de los monocitos y reduce la expresión de moléculas de adhesión y citocinas. Por lo tanto, es un buen modulador en la formación de la placa aterosclerótica (83,116,117). También tiene efecto controlador sobre la actividad procoagulante, aumenta la actividad de factores anticoagulantes y tiene un efecto antiagregante por inhibición de la trombina (116). Por lo tanto, niveles disminuidos de cHDL van a disminuir el efecto protector que desempeña en los eventos cardiovasculares (117,118).

En la **obesidad** y el sobrepeso el aumento del tejido adiposo se produce a expensas de una *hiperplasia* de los adipocitos, mediante el reclutamiento y la proliferación de los progenitores adipogénicos (119,120). Además, el exceso de ingesta calórica conlleva una sobrecarga de ácidos grasos que sobrepasa la capacidad de almacenamiento del adipocito. En consecuencia el adipocito se *hipertrofia* provocando cambios en su arquitectura celular y en su funcionalidad (121). La expansión e hipertrofia del tejido adiposo visceral genera una situación de hipoxia y estrés celular en la estructura y función del tejido adiposo (122,123). La *hipoxia* provoca la liberación de citocinas proinflamatorias por parte del adipocito como el TNF- α , IL-6, IL-1 β y quimiocinas como la Proteína Quimiotáctica de Monocitos 1 (MCP-1) e IL-8. Estas moléculas activan a los macrófagos locales residentes en el tejido adiposo, que a su vez también van a liberar citocinas inflamatorias como TNF- α o IL-1 β , exacerbando el proceso inflamatorio (124–126). Por su parte, el *estrés celular*, estado de disfunción celular en el que interviene cinasas como la c-jun N terminal (JNK), desencadena procesos inflamatorios y apoptóticos (124,125).

Pero el tejido adiposo no está formado exclusivamente por adipocitos y macrófagos, sino que también hay otras células como fibroblastos y linfocitos, y todos ellos participan en el proceso inflamatorio. Dentro de los linfocitos, se observa mayor reclutamiento de células T (tipo CD8+) con disminución de células T (tipo CD4+).

Hay dos hipótesis que intentan explicar el mayor reclutamiento de macrófagos y células T (tipo CD8+) en el tejido adiposo de sujetos obesos (127,128). La primera plantea que el adipocito al hipertrofiarse genera mayor número de interleuquinas y esto va a provocar quimiotaxis y activación de células T, que estimulan la atracción y activación de macrófagos y estimulan al adipocito liberando más citocinas inflamatorias y perpetuando el ciclo inflamatorio (128). La otra teoría propone que los ácidos grasos se unen a los macrófagos través de receptores tipo Toll, favorecerá la síntesis de interleuquinas que se liberan al torrente circulatorio. Las interleuquinas al llegar al adipocito aumentan la expresión de receptores de lectinas, haptoglobina, adipocitocinas, moléculas de adhesión endotelial, y a su vez liberará más interleuquinas como TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 e IL-15 y PCR (124,128,129).

En ambos casos dicha inflamación lleva a *disfunción metabólica* que provoca resistencia a la insulina, retroalimentando y perpetuando aún más la respuesta inflamatoria. Este estado inflamatorio no afecta sólo al tejido adiposo, sino que conlleva una inflamación sistémica que afecta a otros tejidos como el hepático, muscular y al endotelio. El ambiente inflamatorio y la presencia de moléculas de adhesión endotelial es el comienzo de la disfunción endotelial y el desarrollo progresivo de aterosclerosis (126,130). Es importante resaltar que particularmente, en la obesidad central, es donde encontramos mayor resistencia a la insulina e hiperinsulinemia secundaria, por lo tanto, en este tipo de sujetos se observa mayor respuesta inflamatoria. De hecho, se ha observado como esta situación se puede llegar a revertir con la disminución de peso (131).

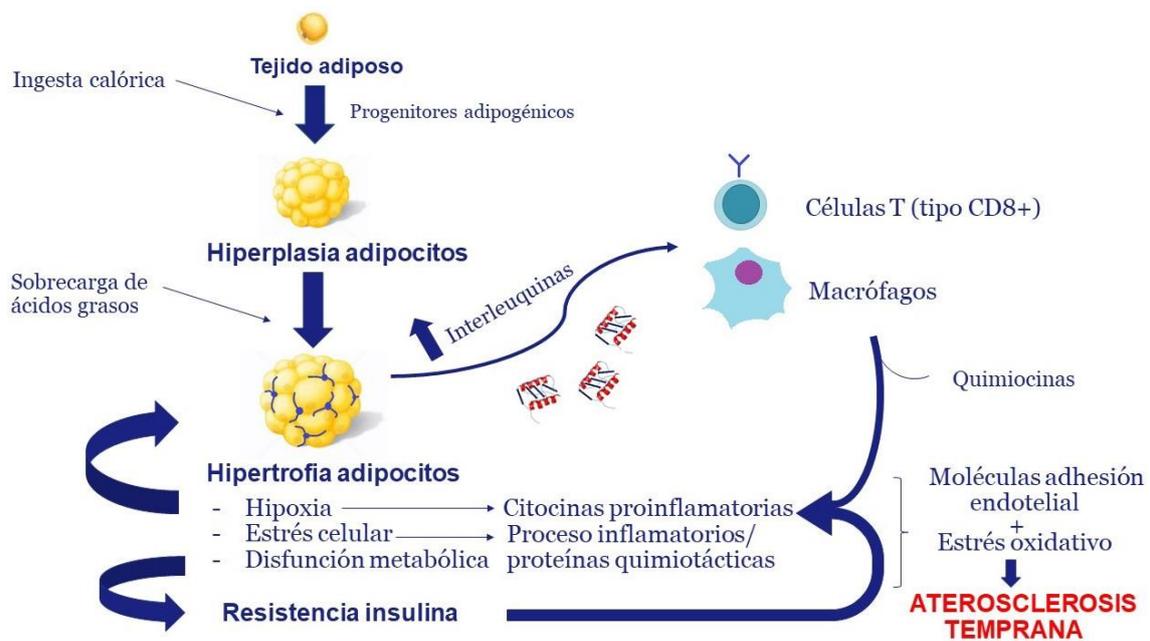


Figura 4. Etiopatogenia de la obesidad abdominal en la inflamación sistémica y la aterosclerosis.

2.5 Moléculas implicadas en el proceso fisiopatológico de la ECV.

Como hemos visto, en los mecanismos fisiopatológicos que hemos estado estudiando y que pueden estar implicados en la aparición de ECV subclínica y posteriormente el desarrollo de ECV sintomática, hay multitud de moléculas implicadas en este proceso. Entre ellas, numerosas hormonas metabólicas, moléculas inflamatorias y moléculas relacionadas con la función endotelial participan de una forma u otra en el proceso mediante el cual los FRCV provocan las alteraciones descritas. Repasaremos algunas de estas moléculas.

- **Hormonas metabólicas y adipocitocinas**

Las adipocitocinas son hormonas producidas por el tejido adiposo y aunque de forma general sus funciones son principalmente metabólicas, algunas también tienen funciones cardiovasculares ya que son capaces de actuar sobre la función endotelial. La implicación de cada una de las adipocitocinas sobre los efectos cardiovasculares no está completamente clarificada, aunque según su función algunas son predominantemente cardioprotectoras y antiinflamatorias, mientras

que otras adipocitocinas tienen efectos cardiovasculares negativos y proinflamatorios

Adiponectina

La adiponectina es una hormona de 30 KDa. El gen que codifica la adiponectina se localiza en el cromosoma 3q27, en el mismo locus donde se ha observado susceptibilidad a DM tipo 2, Síndrome Metabólico (SM) y EC (132). En condiciones fisiológicas se expresa exclusivamente en los adipocitos, pero son múltiples las localizaciones donde podemos observar su expresión.

La adiponectina se une a dos receptores específicos: AdipoR1, que se expresa en el músculo esquelético, y AdipoR2 que se expresa en el hígado donde activa el Receptor nuclear Activado por el Proliferador de Peroxisomas (PPAR), lo que disminuye la glucogenolisis hepática y la oxidación de los ácidos grasos (133). Su activación le confiere, por tanto, una mayor sensibilidad a la insulina (134). De hecho, estos dos receptores se han observado también en las células β pancreáticas y parecen ser el motivo por el cual hay un aumento de la sensibilización a la insulina, mediante la interacción de los receptores adipoR1 y adipoR2 con la AMPK (AMP Activated Protein Kinase/proteína quinasa activada por AMP) (133–135). Así pues, se ha visto en modelos animales que la expresión disminuida de adiponectina se relaciona con la obesidad y la resistencia insulínica, y de igual forma en humanos, en sujetos obesos se ha observado también una disminución de los niveles de adiponectina en plasma (133,136,137). Los niveles disminuidos de adiponectina van a ser buenos predictores sobre el riesgo de tener DM tipo 2 (138–140). Por su parte, la disminución de la expresión de adiponectina por parte del adipocito, parece que es secundaria a varios factores como son la hipoxia, los niveles elevados de citocinas proinflamatorias y el estrés oxidativo (139,141).

Además del papel metabólico, a la adiponectina también se le confiere un papel antiinflamatorio. Concentraciones elevadas de adiponectina se han relacionado con niveles bajos de PCR (142). También parece que suprime la secreción y

señalización de TNF- α en el adipocito, así como una menor infiltración de macrófagos (137). Por tanto, una disminución en la concentración de adiponectina se relacionan con incremento de TNF- α , aumento de la infiltración de macrófagos así como la transformación de éstos en células espumosas, favoreciendo de este modo la aterogénesis (140,141,143).

Adipsina

La adipsina o factor del complemento D, es una proteasa sérica de 25 kD que interviene en la vía alternativa de activación del complemento. Está codificada por el gen CFD y se expresa en el tejido adiposo (144).

En ratones obesos se encuentra disminuida, quizá por deficiente función del receptor o por agotamiento del receptor por sobreestimulación secundario a resistencia a la adipsina (144). También se encuentra disminuida en individuos obesos y en individuos con DM tipo 2, y la administración de adipsina en individuos con DM tipo 2, deficientes de adipsina, se ha relacionado con menor resistencia a la insulina (145,146). Estudios realizados en ratas han relacionado los niveles disminuidos de adipsina con una deficiente liberación de insulina por parte de las células β pancreáticas, y por tanto con una mala homeostasis de la glucemia. Aparte de su elevada presencia en el tejido adiposo también se observa liberación por los monocitos y macrófagos, sumado a su implicación en la vía alternativa del complemento, sugiere una vez más el papel biológico inflamatorio del tejido adiposo (147,148). Cuando se han utilizado antagonistas de receptores del complemento en ratones, se ha observado protección contra la obesidad, la reducción de la inflamación del tejido adiposo y una mejor sensibilidad a la insulina (149).

Leptina

Le leptina es un péptido de 16 KDa compuesto por 167 aminoácidos. El gen responsable de la expresión de la leptina se encuentra en el cromosoma 7q31 (150). Se secreta principalmente en el adipocito, aunque también se ha observado secreción en la placenta, glándula mamaria, ovarios, músculo esquelético, sistema hematopoyético, estómago e intestino (151).

La leptina va a actuar como un lipostato, es decir, como un indicador que informa al hipotálamo de los depósitos de grasa en el organismo. En concreto actúa principalmente en el núcleo arcuato hipotalámico, donde estimula la secreción de péptidos anorexígenos, como la proopiomelanocortina. A su vez disminuye la producción de neuropéptido Y, un importante inductor del apetito. Por todo ello la leptina produce un efecto saciante, a través de sus receptores AMPK que se encuentran en hígado y músculo y están acoplados a distintas vías metabólicas (152–155). Así pues, mutaciones en el gen de la leptina provocan hiperfagia, ya que la ausencia de leptina produce ausencia del reflejo de saciedad a nivel del hipotálamo, y así el déficit de leptina produce obesidad (153,156). Aunque en humanos hay casos de obesidad mórbida por déficit de leptina, los niveles de leptina están aumentados, como consecuencia de una resistencia a la misma a nivel de su receptor o por un mal funcionamiento en el transporte hacia el sistema nervioso central (155).

La leptina tiene también efecto sobre la regulación fisiológica digestiva. Actúa de forma sinérgica con la colecistocinina en la generación de señales neuronales implicadas en la saciedad (157). También interviene en el gasto energético, en el metabolismo lipídico e hidrocarbonado, en la hematopoyesis, en la actividad del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal y en la maduración sexual (153,158).

La administración de leptina en ratones obesos acelera el metabolismo, aumenta el consumo de oxígeno y aumenta la termogénesis (153). Existe una correlación positiva entre la concentración sérica de leptina y la grasa corporal total, de modo que, si hay pérdida de peso, la leptina plasmática disminuye, mientras que, si hay ganancia de peso, aumenta la secreción de esta hormona. De hecho, durante el ayuno los niveles de leptina están bajos. En la obesidad asociada con inmunoresistencia insulínica se ha asociado la hiperinsulinemia con hiperleptinemia. La leptina actúa sobre receptores específicos de la célula β pancreática disminuyendo la secreción de insulina (154,159). La hiperleptinemia se puede considerar un factor de riesgo de DM en pacientes obesos (152,155).

La leptina tiene un papel importante en la regulación lipídica. Estudios epidemiológicos observan una relación entre hiperleptinemia y niveles bajos de cHDL. Niveles bajos de leptina se han relacionado con disminución del colesterol y TG (160).

Se ha observado una relación entre la HTA y niveles elevados de leptina, la administración de leptina en normotensos se ha comprobado que aumenta la PA y la frecuencia cardiaca). Existe una relación entre leptina y la actividad de la renina plasmática y angiotensinógeno en pacientes con HTA esencial. En estudios con ratas se ha observado la implicación de la leptina sobre la activación del sistema nervioso simpático (152,156).

También se sabe que la leptina participa en la aterogénesis por varios mecanismos. Se ha comprobado su implicación en el estrés oxidativo, induciendo la oxidación y aumentando la expresión en el endotelio de MCP-1, así como un aumento en la fibrogénesis y su implicación en el daño renal (156,161). La leptina tiene efecto en la respuesta inmune sobre los Linfocitos T helper 1 (Th1) y estimula la incorporación de colesterol a los macrófagos. Por lo tanto tiene una implicación activa sobre la formación de la placa de ateroma (156). Además tiene efecto angiogénico, induce la agregación de células endoteliales y está implicada en la neoangiogénesis (156,162). También va a tener un papel activo en la coagulación, potenciando significativamente la agregación plaquetaria, y participando en la enfermedad aterotrombótica (156,163,164).

Resistina

Es un péptido de 12 kDa, codificada por el cromosoma 19, en el locus 13.3. Fue descrita por primera vez en 2001, se denominó resistina por inducir resistencia a la insulina en ratones sanos cuando se les administraba exógenamente (165). A pesar de que en un principio la resistina fue identificada en adipocitos, en humanos estas células sintetizan cantidades muy pequeñas en comparación a

otras células y tejidos, como son el músculo, las células pancreáticas y los macrófagos, siendo estos últimos los que sintetizan mayores cantidades (166).

En modelos animales, la resistina está involucrada en la patogénesis de la resistencia a la insulina y la DM tipo 2 asociadas a la obesidad (165,167). Cuando se administran anticuerpos para neutralizarla o agonistas del Receptor Activado por el Proliferador de Peroxisomas- γ (PPAR γ) en modelos de obesidad animal, disminuye la resistencia a la insulina. Sin embargo, en humanos el papel de la resistina en la fisiopatología de la obesidad y la resistencia a la insulina es controvertido, ya que sujetos con obesidad presentan concentraciones circulantes de resistina significativamente mayores a sujetos con peso normal, existiendo una correlación positiva con el IMC, pero no con el grado de resistencia a la insulina (168,169).

La resistina tiene implicación en el sistema inmune y vascular. Se relaciona con marcadores inflamatorios como TNF- α , IL-6, IL-12, MCP-1 y PCR, y en moléculas de adhesión celular como VCAM-1 e ICAM-1 (170). Su implicación en procesos inflamatorios parece ser el sustrato fisiopatológico en la resistencia a la insulina (169), y su presencia en los procesos ateroscleróticos (171,172). También se han observado elevadas concentraciones de resistina y su asociación con la calcificación de la arteria coronaria, por lo tanto las concentraciones circulantes de resistina pueden ser consideradas marcadores inflamatorios en el proceso de aterosclerosis (166,171,172).

Visfatina

Proteína de 52 kDa, codificada por el cromosoma 7, en el locus q22.2-22.3 (173). Su nombre procede de visceral fat lo que pone de manifiesto que es una adipocina secretada principalmente por la grasa visceral, aunque también está presente en músculo esquelético, hígado, médula y linfocitos (174).

La visfatina interviene en la regulación del metabolismo de la glucosa, tiene efecto regulador sobre la secreción de insulina por la célula β pancreática, regula

la sensibilidad de la insulina y facilita la captación de glucosa en el hepatocito (175). Tiene efecto sobre la grasa visceral, facilitando la adipogénesis. Los efectos resultan paradójicos, ya que por un lado mejoran la sensibilidad a la insulina, y por otro lado favorece el depósito de grasa visceral, por lo tanto contribuye a la obesidad (176). Se han observado niveles elevados de visfatina en sujetos obesos y también en pacientes con DM tipo 2 (177,178). Sin embargo, otros estudios no han encontrado asociación significativa entre visfatina y aumento de IMC (179).

También la visfatina parece estar implicada en procesos inflamatorios y de disfunción endotelial, y se relaciona con niveles elevados de IL-1 β , IL-6, TNF- α , PCR, ICAM-1 y VCAM-1 (180,181).

Omentina

La omentina es una proteína de 33 KDa, constituida por 313 aminoácidos. Está codificada por dos genes localizados en la región cromosomal 1q22-q23. Se ha identificado en numerosas células y tejidos, entre ellos células endoteliales y en el corazón. Su mayor expresión se encuentra en el tejido adiposo visceral, concretamente en la región estromal vascular y de manera especialmente importante en el tejido adiposo del epicardio y de las arterias coronarias (182,183).

La omentina interviene en el **metabolismo hidrocarbonado** mediado por la insulina en los adipocitos humanos. La insulina es un regulador importante en los procesos metabólicos, cuya función principal es la captación de glucosa por parte de los hepatocitos, miocitos y adipocitos. La unión de la insulina a su receptor inicia una cascada de señalización, en la que la fosforilación de la AKT (o PKB proteinacinas B) tiene un papel muy importante, ya que va a permitir la captación de la glucosa hacia las células y su metabolismo (184,185). La AMPK también actúa como un importante sensor metabólico celular. Su activación promueve la captación de glucosa por los miocitos, reduce la gluconeogénesis en los hepatocitos, inhibe la lipogénesis en el adipocito, inhibe a las enzimas 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa y acetil CoA carboxilasa, enzimas

involucradas en la síntesis del colesterol y ácidos grasos, respectivamente, y también tiene un papel importante en la β -oxidación de los ácidos grasos(186). La omentina estimula la fosforilación de la AKT y la activación de AMPK, como resultado tiene un efecto positivo en la disminución de la resistencia a la insulina y en la disminución de la síntesis de TG y colesterol (182,187). Por todo ello, los niveles de omentina se ven disminuidos en pacientes obesos, con DM tipo 2 y en pacientes con SM. Los niveles de omentina aumentan cuando los pacientes pierden peso (182,188). La actividad antiinflamatoria que ejerce a través de la inhibición de JNK permite un aumento de la sensibilidad de la insulina en adipocitos, miocitos y hepatocitos (189), y por tanto un papel importante en la disminución del RCV (188,190).

La omentina es una molécula implicada en la modulación de los procesos inflamatorios, capaz de disminuir la actividad inflamatoria que ejerce TNF- α , IL1- β e IL-6, y retardar el comienzo de la cascada inflamatoria mediada por los adipocitos hipertróficos a través de la β -oxidación (189,191).

La omentina tiene un importante papel en la **protección vascular**. En la disfunción endotelial, como consecuencia de la inhibición del ATK, existe un desequilibrio entre el NO (vasodilatador), y la endotelina (vasoconstrictora), de modo que al estar disminuida la concentración de NO, existe un predominio de la actividad vasoconstrictora de la endotelina (192). En este sentido, la omentina modula la actividad vasoconstrictora, ya que controla la vía de activación del NO, modula la respuesta inflamatoria por su implicación en la activación de AMPK e inhibición de JNK y la ciclooxigenasa 2 e inhibe la diferenciación de las células musculares lisas vasculares (193–195). También reduce el desarrollo de aterosclerosis, interviniendo sobre la vía AKT, responsable de la respuesta inflamatoria en macrófagos (196). En resumen, niveles bajos de omentina se relaciona como marcador de RCV por su función moduladora en la patogénesis de los trastornos vasculares (195,196). Respecto a la EAP, hay una asociación importante entre niveles disminuidos de omentina en plasma y EAP, así como su gravedad (197).

Por otro lado, en el tejido adiposo epicárdico, que envuelve al corazón y a las arterias coronarias, hay una importante expresión de omentina. La desregulación local, unido al estado inflamatorio crónico y a la disfunción endotelial conlleva un aumento del RCV (190,194,198,199). La omentina a nivel de arterias coronarias tiene un efecto beneficioso sobre la vasodilatación (198). La inhibición de las vías inflamatorias activadas por TNF- α , IL-1 β , y JNK entre otras, y la disminución de vías generadoras de radicales libres como ciclooxigenasa-2, va a aportar un papel protector sobre las arterias coronarias (194,198,199).

Ghrelina

La ghrelina es un péptido de 28 aminoácidos, está codificada por el cromosoma 3 locus p25-26. Se secreta principalmente en el estómago, aunque también se ha encontrado secreción en el intestino, páncreas, riñón, placenta, hipófisis e hipotálamo (200,201). La conformación de su molécula le permite atravesar la barrera hematoencefálica y unirse a los receptores secretadores sintéticos de la hormona del crecimiento. Tiene efecto sinérgico con la GHRH (Growth-hormone-releasing hormone/somatocrinina) (202). El receptor GHS1a se encuentra en el núcleo arcuato, encargado de la regulación del apetito, también lo encontramos en otras localizaciones como estómago y páncreas (201–203).

Es un potente orexígeno, agente adipogénico, regulador energético y regulador de glucemia (203–205). En condiciones normales la ghrelina se incrementa en el ayuno y disminuye tras la ingesta, también aumentan cuando hay pérdida de peso por disminución de ingesta calórica (203,206). La administración exógena de ghrelina en ratas y humanos produce un aumento del apetito y por lo tanto de la ingesta (207,208). También se observa un aumento de peso a expensas del aumento del tejido adiposo (205,208). En pacientes obesos no hay disminución de ghrelina postprandial, probablemente sea secundario a una disfunción, y por lo tanto la causa de que no haya saciedad (209). La ghrelina activa neuronas productoras de NPY/AGRP, que influyen en el metabolismo sobre eje hipotálamo-hipófiso-tiroideo y el eje hipotálamo-hipófiso-adrenal (210).

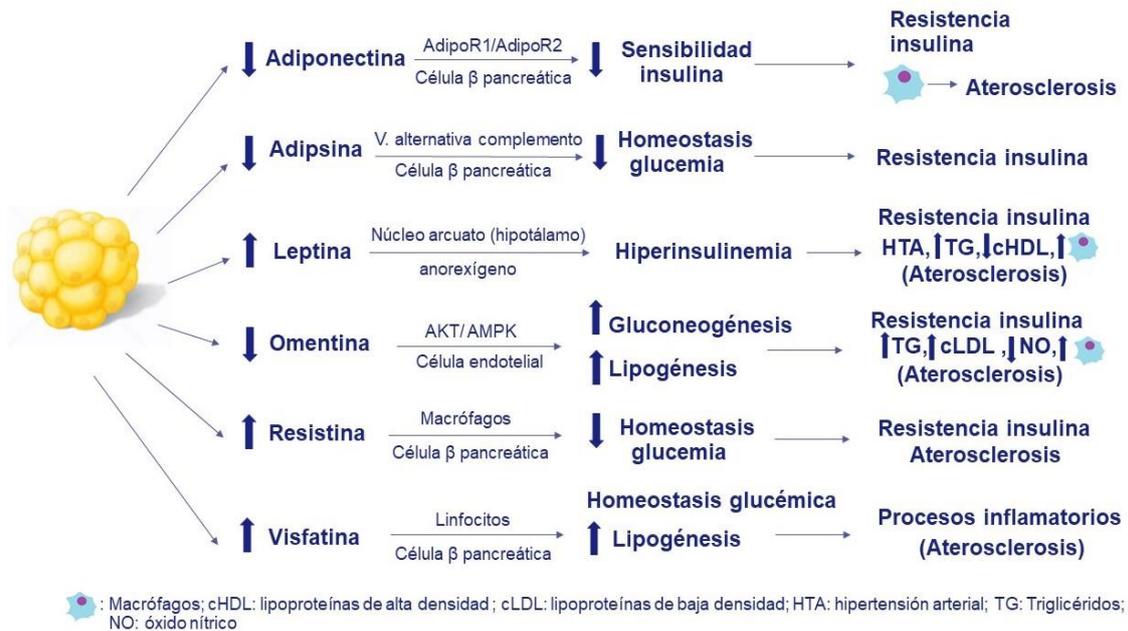


Figura 5. Adipocitocinas secretadas por el tejido adiposo

- **Interleuquinas implicadas en la inflamación**

IL-1 β

Es una proteína de 30 kDa codificada en el cromosoma 2, en el locus 2q13-q21. Es una citoquina producida por múltiples células, siendo los macrófagos los principales productores de IL-1 β . Su activación es dependiente de la vía de la caspasa-1 (211). Existen dos tipos de receptores para IL-1 β : Tipo I, que se encuentra sobre la mayoría de células del organismo y los receptores Tipo II, localizados en los neutrófilos, monocitos, macrófagos, linfocitos B y células de médula ósea.

Está implicada en la quimiotaxis de los granulocitos y en la liberación de histamina por los mastocitos, y por ello está fuertemente implicada en los procesos inflamatorios. Participa en los procesos febriles mediante la liberación de prostaglandinas. La liberación de IL-1 β conlleva elevación de reactantes de fase aguda como la PCR. Tienen efecto sobre la regulación de NO, con actividad sobre la musculatura lisa vascular y músculo cardíaco (212,213).

Alteraciones en el metabolismo como elevación del ácido úrico, DM, y dislipemia se ha relacionado con aumento de los niveles de IL-1 β (214). También se ha encontrado relación entre HTA y niveles altos de IL-1 β (215). Se considera un importante factor en el crecimiento de la íntima en la lesión aterosclerótica (216,217).

IL-6

Proteína de 22 a 27 kDa. Se codifica en el cromosoma 7 locus p15-21. Es una citocina secretada por el tejido adiposo, aunque el 90% de su síntesis se lleva a cabo por células distintas al adipocito como los linfocitos T, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, y músculo esquelético (218). La expresión de la IL-6 es mayor en la grasa visceral que en la grasa periférica. En pacientes obesos habrá hasta un 30% más de IL-6 en circulación. El adipocito en sujetos obesos va a aumentar la secreción de IL-6. La IL-6 aumenta los niveles de PCR y va a interferir en la correcta actividad de la lipoproteína lipasa, como resultado habrá captación de lípidos por parte de los macrófagos y su transformación en células espumosas (219,220).

Los niveles elevados de IL-6 tiene un efecto sobre el eje hipotálamo-hipofisis-adrenal, involucrado en obesidad central, HTA y resistencia a la insulina, además disminuye la actividad de la lipoproteína lipasa (219,220).

Se ha visto como la IL-6 está presente tanto en las primeras fases de la aterosclerosis (219,221) como su implicación a largo plazo (222). Amplios metaanálisis relacionan la IL-6 con la presencia de ECV (223,224). La influencia de la IL-1 β y la IL-6 en etiopatogenia de la aterosclerosis parece estar tan clara, que se están realizando estudios utilizando sus receptores como dianas terapéuticas- mediante anticuerpos monoclonales-, con el fin de demostrar su utilidad en el tratamiento precoz de la enfermedad aterosclerótica (221).

IL-8

Es una citoquina proinflamatoria de 8,4 kDa, codificada en el cromosoma 4.q13-21. Se sintetiza en monocitos, macrófagos, polimorfonucleares y fibroblastos (225). La IL-8 está implicada en la respuesta inflamatoria, estimulación de moléculas de adhesión y oxidación lipídica (226,227). Niveles altos de IL-8 se ha relacionado con obesidad (228) y con un mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares (229,230). La IL-8 es clave en la etiopatogenia de la aterosclerosis (231,232). Se expresa y libera en grandes cantidades por el tejido lesionado. Esto provoca la migración y degranulación de los neutrófilos al tejido lesionado en respuesta a los niveles IL-8. La IL-8 se une a los receptores selectivos IL8RA y IL8RB en la superficie de los neutrófilos encargados de inducir la expresión de mediadores quimiotácticos que desencadenan la inflamación local (233). También es un potente proinflamatorio que estimula la quimiotaxis de los monocitos, por lo que está implicada en la fuerte adhesión de éstos al endotelio vascular (231).

IL-18

Es una citoquina proinflamatoria de 24 kDa, también conocida como factor inductor del interferón gamma. Está codificada por el gen IL-18 presente en el cromosoma 11 en el locus 112.14-112.16 (234). Se secreta principalmente por los macrófagos. Una de sus características principales es la producción de interferón gamma. Activa a las células NK (Natural Killer/asesina natural) y linfocitos T citotóxicos, e incrementa el efecto de otras citocinas proinflamatorias (234–236).

La dislipemia, DM y la resistencia insulínica pueden aumentar la producción de IL-18, mediado por el receptor NLRP3 (237–239). El bloqueo del receptor para la IL-18 se relaciona con modulación de la respuesta inmune en procesos inflamatorios (240).

Se ha observado que la IL-18 está implicada en la patogenia de la enfermedad aterosclerótica (241,242). La IL-18 está fuertemente implicada en la remodelación, hipertrofia cardíaca, y en los casos de IC (243,244).

MCP-1

Es una proteína de 13 kDa. Se expresa en el cromosoma 17 en el locus 11.2q-21.1q (245). Como su nombre indica recluta a monocitos, células T y células dendríticas. Está presente en procesos inflamatorios, principalmente donde hay implicación de monocitos, y en la aterosclerosis (246–248). Los niveles elevados de MCP-1 tienen un importante papel proinflamatorio y se asocian con hiperplasia de la íntima en modelos animales (249). También está implicada en la resistencia a la insulina y juega un papel importante en las complicaciones vasculares de la DM tipo 2 (250,251). La obesidad también está implicada en su desregulación (252) y hay sobreexpresión en presencia de niveles elevados de cLDL oxidada (253).

TNF- α

El TNF- α es una proteína de 17 kDa. Se codifica en el cromosoma 6, en el locus 21.3 (254). Los macrófagos son los principales secretores de TNF- α . En sujetos obesos se ha observado una acumulación de macrófagos en el tejido adiposo junto con un incremento de la secreción de TNF- α (255). El aumento sistémico de los niveles circulantes de TNF- α es la causa de la resistencia a la insulina. Por otro lado, la hiperglucemia mantenida es uno de los motivos de daño endotelial (256), y en pacientes con DM tipo 2 se han observado concentraciones elevadas de citocinas proinflamatorias (IL-6, IL-8, IL-18 y TNF- α) y reducción de citocinas antiinflamatorias (256,257). También los niveles de TNF- α , se han relacionado con aumento de TG y aumento de tejido adiposo. Las dietas ricas en grasas inducen aumento de IL-6, IL-18, y TNF- α , así como un aumento de ICAM-1 y VCAM-1 (258).

Los niveles elevados de TNF- α , aumentan los niveles de otras citocinas inflamatorias y de PCR. También aumentan la actividad de las células

endoteliales y del músculo liso, promoviendo la liberación de moléculas de adhesión y citocinas inflamatorias. Como resultado existe una mayor acumulación de macrófagos en el endotelio vascular, con la correspondiente transformación en células espumosas, y por tanto es un factor muy importante para el desarrollo de aterosclerosis y ECV (259–261).

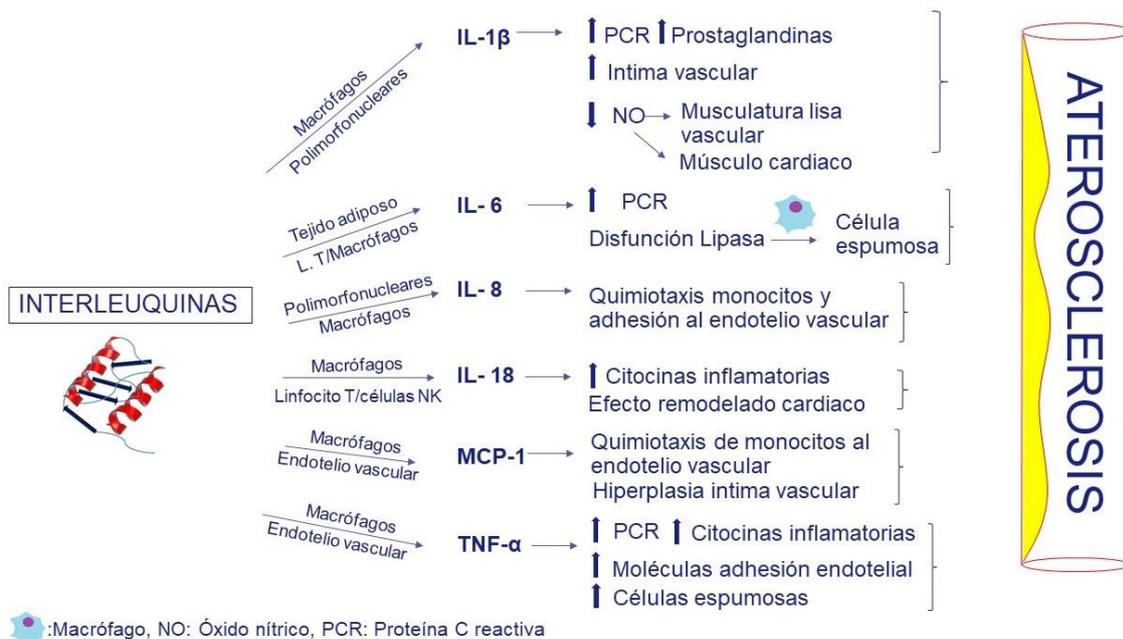


Figura 6. Interleuquinas implicadas en los procesos inflamatorios.

- **Factores endoteliales**

ICAM-1

Es una proteína de 90 kDa que pertenece a la familia de las inmunoglobulinas. También denominada como CD54, tiene un dominio transmembrana y un dominio intracelular. Es una proteína de adhesión intercelular (262), codificada en el cromosoma 19 locus 10.27-10.29 por el gen ICAM-1. Este gen codifica glicoproteínas de superficie que se expresan tanto en células endoteliales como en células del sistema inmune (263,264).

La ICAM-1 tiene un papel fundamental en la migración de leucocitos al endotelio vascular (Figura 7). La activación de ICAM-1 es inducida por citocinas inflamatorias y se expresa en el endotelio, en macrófagos y en linfocitos (265). La ICAM-1 interviene en la adhesión intercelular actuando de ligando con la integrina de los leucocitos, lo que permite la unión de los leucocitos a las células endoteliales y su posterior migración a la íntima vascular (266,267). Por todo ello tiene un papel muy importante en el desarrollo de aterosclerosis y también se encuentran niveles aumentados en enfermedades inflamatorias crónicas (268–270).

VCAM-1

VCAM-1 es una proteína de adhesión celular vascular de la familia de las integrinas. También se conoce como CD106, tiene de 6 a 7 dominios de inmunoglobulina. Está codificada en el cromosoma 1 locus 100.72-100.74 en el gen VCAM-1 (271).

La activación de la VCAM-1 está mediada por citocinas inflamatorias en la que interviene la vía de las MAPK. Se expresa en el endotelio vascular en presencia de citocinas, y media la adhesión de macrófagos y linfocitos al endotelio vascular, por lo tanto va a estar implicada en los procesos ateroscleróticos (269,272,273) (Figura 7).

En sujetos con dislipemia se han observado niveles más elevados de VCAM-1 en plasma, tanto en sujetos con hipertrigliceridemia como en sujetos con niveles disminuidos de cHDL. En sujetos diabéticos también se observan niveles aumentados de VCAM-1, aunque no está del todo claro si esta asociación es causa de la aterosclerosis que acompaña a este tipo de sujetos o hay aumento de VCAM-1 por acción directa de la hiperglucemia e hiperinsulinemia (268).

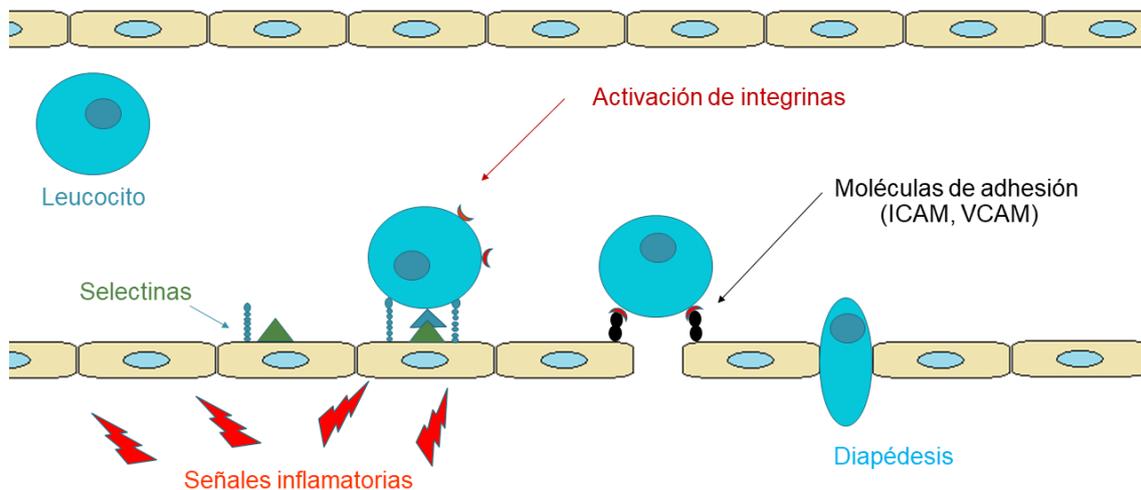


Figura 7. Mecanismo de acción de las moléculas de adhesión endotelial ICAM-1 y VCAM-1

VEGF

El factor de crecimiento endotelial vascular es una proteína señalizadora de 45 kDa, que se codifica en el cromosoma 6, locus 12 (274). Está implicada en la angiogénesis, cicatrización, en los procesos tumorales y en la quimiotaxis de macrófagos y granulocitos entre otras funciones. El VEGF ejerce su acción sobre células diana a través de receptores tirosin quinasa (275).

A diferencia de otros tejidos, el tejido adiposo tiene una capacidad de crecimiento casi ilimitado, por lo que expresa factores de crecimiento angiogénicos como el VEGF, en función de las necesidades de vascularización del tejido adiposo (276). En pacientes obesos, donde se observan niveles aumentados de insulina secundarios a la resistencia, se ha observado una relación dependiente entre los niveles de insulina y la liberación de VEGF por parte de los adipocitos (277). Por todo ello existen niveles aumentados de VEGF en pacientes obesos y particularmente en pacientes con aumento de obesidad abdominal (278). La implicación de la dislipemia en el aumento de VEGF -al igual que otros factores endoteliales- comienza con la exposición del endotelio a las cLDL oxidadas, que van a estimular toda la cascada inflamatoria y el remodelado vascular (279).

En la etiopatogenia de la aterosclerosis se sabe que el engrosamiento de la íntima provoca una disminución del aporte de oxígeno. La hipoxia estimula a diversas células mesenquimatosas a aumentar la síntesis de VEGF (280). Al VEGF se le atribuye una doble implicación en la patogenia de la aterosclerosis, por un lado en el desarrollo de la placa y por otro lado en la inestabilización de la misma (281). En condiciones de normoxia la VEGF mediante angiogénesis tiene la función de reparar el vaso dañado. En la aterosclerosis establecida, la hipoxia, llevará a liberación de VEGF pero lejos de mejorar la situación, va a aumentar del grosor de la pared del vaso y a estimular una mayor infiltración por parte de los macrófagos, lo que perpetúa la necrosis e hipoxia. La angiogénesis secundaria llevará a inestabilización y ruptura de la placa (282). Las células lisas que quedan debajo de la placa también serán estimuladoras de VEGF perpetuando la angiogénesis intraplaca (283,284). El aumento de VEGF en estos sujetos está implicado en la inflamación vascular, remodelado vascular, infiltración de macrófagos en la íntima y por lo tanto en el desarrollo de lesiones ateroscleróticas (285). Hay estudios que demuestran el papel de VEGF en la neovascularización e inestabilidad de la placa carotidea (286).

PAI-1

El inhibidor del activador del plasminógeno-1 es una proteína de 54 kDa, compuesta por 23 aminoácidos. El gen implicado en la síntesis de PAI-1 se llama SERPINE1 y se localiza en el cromosoma 7 (7q21.3-q22) (287,288). Además de su secreción en el endotelio, la mayor secreción de PAI-1 es en el tejido adiposo, especialmente en la grasa visceral. También es secretada por múltiples células, aunque en menor proporción (289,290).

La obesidad abdominal también se asocia a la liberación de otros factores procoagulantes como el fibrinógeno, factor de von Willebrand y el factor VII. En sujetos obesos hay un estado de hipercoagulabilidad por aumento de niveles de factores de coagulación y la activación de plaquetas, que además se combinan con la disminución de la fibrinólisis atribuible al aumento de PAI-1 (291,292).

Parece que contribuyen a la aterogénesis a través de aumento del depósito de plaquetas y fibrina en placas ateroscleróticas en desarrollo. Este estado protrombótico se asocia a un aumento de RCV (292,293). También la dislipemia tiene un papel importante en la expresión de PAI-1 (294,295). La utilización de estatinas tiene un efecto atenuador en la expresión de PAI-1 (296).

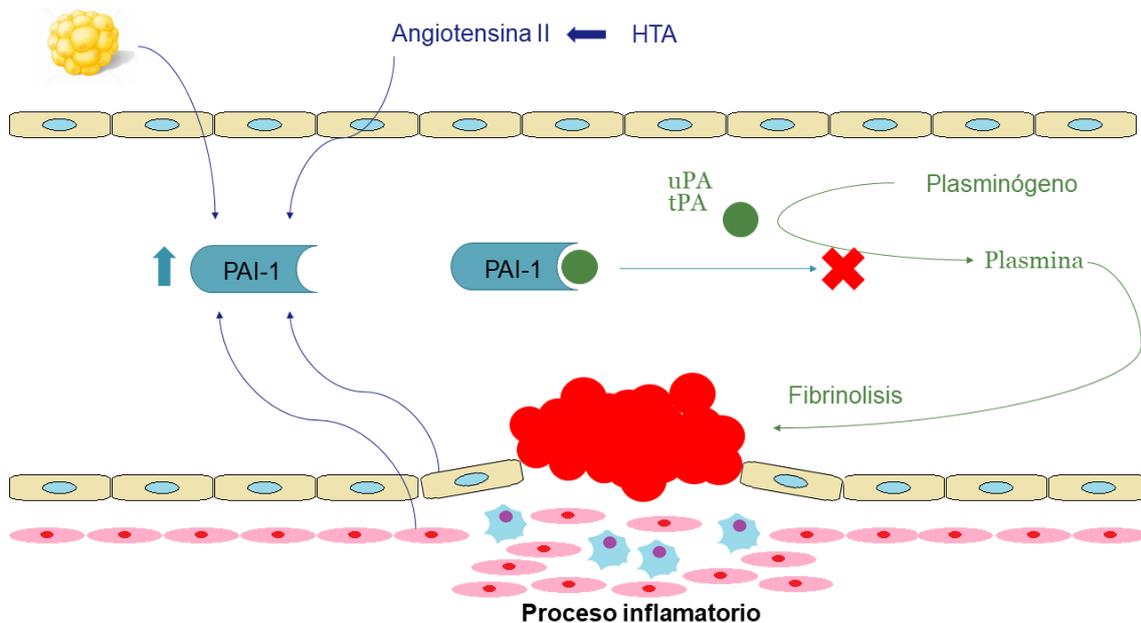


Figura 8. Implicación de PAI-1 en la inhibición de la fibrinólisis.

3. Síndrome metabólico y su relación con la ECV.

El SM se denominó por primera vez en 1988 por Reaven, que introdujo de forma pionera la idea de que la alteración de la acción de la insulina constituía el elemento principal etiopatogénico que conduce al desarrollo de un conjunto de alteraciones metabólicas en un mismo individuo, que lo hacen más susceptible de desarrollar ECV (297). Aunque existen diferentes criterios diagnósticos, el SM se puede definir como un conjunto de alteraciones físicas, bioquímicas y metabólicas que dan lugar a un cuadro clínico caracterizado por obesidad, HTA, dislipemia, resistencia a la insulina y aumento del riesgo de eventos cardiovasculares, que pueden aparecer de forma simultánea o secuencial en un mismo individuo, y que se desencadenan por la combinación de factores

genéticos y ambientales asociados al estilo de vida (especialmente la sobrealimentación y la inactividad física) (298,299).

Los criterios empleados para identificar a los pacientes con SM han sido modificados a lo largo de los años, desde que la OMS reconoció por primera vez al SM como una situación de alto riesgo para el desarrollo de ECV (300). De entre los distintos criterios diagnósticos que se han establecido, los de la National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (ATPIII) de 2001 (301), y revisados por las asociaciones en 2005, son los más utilizados en la práctica clínica debido a su sencillez y practicidad. En la revisión de 2009 (298), el principal problema que encontraron los autores a la hora de elaborar los criterios fueron los puntos de corte en el perímetro abdominal, ya que hay una importante variabilidad poblacional y étnica. En Europa contamos con las recomendaciones de la Sociedad Europea de Cardiología, que utiliza un criterio igual a los estadounidenses de la ATPIII (298).

Así, se considera que una persona tiene SM si presenta al menos 3 de los siguientes 5 criterios:

- 1) Perímetro abdominal superior a >102 cm en hombres y >88 cm en mujeres.
- 2) Elevación de PA con cifras de PAS > 130 mmHg y/o de PAD > 85 mmHg (o uso de terapia farmacológica).
- 3) Niveles bajos de c-HDL < 40 mg/dl (hombres); <50 mg/dl (mujeres).
- 4) Elevación de TG >150 mg/dl (o uso de terapia farmacológica).
- 5) Glucosa basal alterada >100 mg/dl (o uso de terapia farmacológica).

Existen muchos puntos por esclarecer en la etiopatogenia y la fisiopatología del SM, de manera que, aunque millones de personas son diagnosticadas de SM (54,299,302), algunos autores dudan incluso de la existencia de este síndrome como entidad propia (303,304). El mecanismo fisiopatológico es complejo, aunque la obesidad abdominal y la resistencia a la insulina juegan un papel principal (298,299). De forma general se acepta que la secuencia patogénica comenzaría con la obesidad como origen de todas las alteraciones, en concreto

el incremento de la grasa visceral abdominal. El aumento en la secreción por parte de esta, de numerosas citocinas inflamatorias y diversas adipocitocinas, da lugar a una intensa captación de monocitos circulantes, que en el tejido adiposo se transforman en macrófagos (productores de citocinas pro-inflamatorias) y desarrollan un estado inflamatorio crónico y resistencia a la insulina (305,306). Estas dos condiciones, presentes en el SM, constituyen la base patogénica para el desarrollo de aterosclerosis, además la elevación de marcadores inflamatorios y adipocitocinas se asocia con riesgo aumentado de DM tipo 2 y ECV (299,305,306). El SM constituye, por tanto, una condición patológica de riesgo múltiple para el desarrollo de ECV de origen aterosclerótico. De hecho, hay estudios que avalan que el riesgo de ECV asociado al SM es aproximadamente el doble en comparación con los individuos que no lo tienen, independientemente de la definición empleada y la metodología de los estudios (298). Por ejemplo, los datos de un metaanálisis en el que se incluyeron más de 170.000 individuos indicaron que la presencia de SM se corresponde con un riesgo relativo de eventos cardiovasculares y muerte de 1.78 en hombres y de un 2.63 en mujeres, incluso tras realizar un ajuste estadístico para los factores clásicos de RCV, lo que indica que el mayor riesgo de ECV en el SM no puede explicarse sólo por la presencia de éstos últimos (307). Las definiciones actuales de SM permiten identificar una población con un elevado riesgo de ECV, superior al que se puede predecir por los FRCV de forma aislada (308).

4. Estratificación del Riesgo Cardiovascular, Síndrome metabólico y perfil molecular sérico

En la actualidad la estratificación del RCV se sigue haciendo mediante factores descritos hace más de 5 décadas. Comenzó en 1948 a partir del estudio Framingham (6) con la intención de investigar la incidencia y factores de riesgo implicados en de la ECV. Estos FRCV clásicos son: tabaquismo, edad, sexo, HTA, DM, dislipemia y obesidad (7). A partir de estos factores de riesgo se han elaborado numerosas escalas de riesgo que actualmente se emplean en la práctica clínica, uno de los más utilizados es el sistema SCORE (8) para intentar

predecir la probabilidad de tener un evento CV mortal a los 10 años. Pero estimar el riesgo individual de RCV puede ser subóptimo con estas escalas. Estudios amplios como INTERHEART (29) apoyan la teoría de que en un porcentaje elevado de los eventos CV están implicados factores clásicos antes descritos, aun así, identificar sujetos con alto riesgo de desarrollar un primer evento CV continúa siendo complejo, dado que una parte importante de los eventos se observan en sujetos clasificados como riesgo bajo o intermedio, reportando una incidencia superior al 40% en algunas series (309,310).

En este sentido, el concepto de SM se está utilizando para identificar sujetos con elevado RCV, en base a la agregación de múltiples FRCV con un sustrato fisiopatológico común (299,302). Existen datos que nos hacen pensar que determinadas moléculas séricas implicadas en la disfunción adipocitaria, en la resistencia insulínica, y especialmente en la inflamación sistémica y disfunción endotelial tienen relación con el riesgo de desarrollar aterosclerosis e incluso complicaciones aterotrombóticas (126,137,141,199,202,269). Así mismo, el riesgo aumentado de eventos CV en individuos con aterosclerosis subclínica (82,84,86,311–316). Se han descrito un número importante de marcadores que pueden estar implicados en la patogenia de la ECV, sin embargo, a día de hoy no están incorporados en la práctica clínica habitual y apenas hay datos descritos sobre la utilidad de estas moléculas en la valoración del RCV en sujetos con SM. De ahí la importancia de incorporar nuevas estrategias diagnósticas apoyándonos en técnicas de imagen y marcadores analíticos; inflamatorios y endocrinometabólicos que nos ayuden en la predicción del RCV y la detección de aterosclerosis subclínica.

Por tanto, el presente estudio plantea evaluar la relación entre determinados perfiles moleculares séricos (adipocitocinas, parámetros inflamatorios y factores endoteliales) y la presencia de ECV subclínica en sujetos asintomáticos y específicamente en sujetos asintomáticos con SM. Definir la utilidad de determinados marcadores séricos podría ayudar a mejorar la clasificación y

estratificación de los individuos con SM, y a identificar de forma más precoz a aquellos con riesgo elevado de desarrollar eventos CV.

Hipótesis y Objetivos

HIPÓTESIS

Dado que el diagnóstico de SM engloba un grupo muy heterogéneo de individuos (con características clínicas y pronósticas muy distintas), y que la predicción del riesgo real de sufrir eventos cardiovasculares en estos sujetos es en la actualidad imprecisa, el presente estudio plantea la siguiente hipótesis:

Existen moléculas plasmáticas asociadas con disfunción endotelial y adipocitaria que se relacionan con la presencia de lesión vascular subclínica, y por tanto permiten detectar con mayor precocidad aquellos sujetos con mayor riesgo de desarrollar eventos cardiovasculares.

OBJETIVOS

El **objetivo principal** es la búsqueda de perfiles moleculares asociados con lesión vascular subclínica que nos ayuden a una mejor estratificación del RCV de sujetos con criterios de SM.

Por ello, mediante la determinación en sujetos con y sin SM de:

- las concentraciones plasmáticas de hormonas asociadas con disfunción adipocitaria (adiponectina, adiposina, leptina, resistina, visfatina, omentina y ghrelina), citocinas inflamatorias (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-18, MCP-1 y TNF- α) y factores endoteliales (ICAM-1, VCAM-1, VEGF y PAI-1).
- la presencia o ausencia de datos de lesión vascular subclínica (estimada mediante pruebas de detección precoz de enfermedad aterosclerótica: medida del grosor íntima media carotídeo (GIMc); volumen de placa, medida del score calcio coronario (SCC), medida del cociente albúmina creatinina (CAC) en orina y presencia de hipertrofia ventricular izquierda (HVI).
- el RCV estimado mediante escalas de riesgo SCORE, ASCVD y Lifetime-risk.

planteamos los siguientes **objetivos específicos**:

- 1 Evaluar la prevalencia de lesión vascular subclínica en sujetos con SM respecto a sujetos sin SM.
- 2 Evaluar la asociación entre las distintas moléculas analizadas y la presencia de SM y sus distintos componentes.
- 3 Evaluar la asociación entre las distintas moléculas analizadas y la categoría de RCV estimada.
- 4 Evaluar la asociación entre cada una de las moléculas analizadas con la presencia de lesión vascular subclínica, según el método de detección empleado:
 - 4.1. GIM patológico medido por ecografía 2D
 - 4.2. Volumen de placa estimado por ecografía 3D

Materiales y métodos

Materiales y métodos.

1. Diseño experimental.

1.1. Tipo de estudio.

Se trata de un estudio observacional prospectivo en condiciones de práctica clínica habitual.

Se incluyeron en el estudio sujetos que reunían los criterios de inclusión pertinentes (ver siguiente apartado “1.2 Definición de la población de estudio”), remitidos al Servicio de Medicina Interna y Unidad de Riesgo Cardiovascular del Hospital Universitario HM Montepíncipe, en el periodo de tiempo comprendido entre enero de 2014 y enero de 2016. A todos los sujetos se les explicó el estudio y se les entregó la hoja de información (Anexo 1). A los sujetos que mostraron su conformidad se dio a firmar el consentimiento informado (Anexo 2). El proyecto fue aprobado por el Comité Ético (CEIm) del grupo HM (18.09.1304-GHM) (Anexo 3).

1.2. Definición de la población de estudio.

Se incluyeron un total de 78 individuos asintomáticos de los cuales, 59 sujetos cumplían con criterios de SM y 19 no reunían todos los criterios de SM.

Criterios de inclusión individuos con SM: Individuos no fumadores, mayores de 18 años y menores de 60 años (para evitar el efecto del tabaquismo y la edad avanzada en la presencia de aterosclerosis) y sin eventos cardiovasculares previos.

El diagnóstico de SM se realizó siguiendo los criterios armonizados aceptados en la actualidad, que están basados en la agrupación de 3 ó más de los siguientes FRCV:

- Perímetro abdominal por encima de los límites establecidos (> 102 cm en varones y > 88 cm en mujeres).
- Niveles elevados de PA (PAS/PAD > 130/85 mmHg) o terapia hipotensora.
- Niveles bajos de cHDL (<40 mg/dl en varones y <50 mg/dl en mujeres); o terapia hipolipemiente.
- Niveles elevados de TG >150 mg/dl o terapia hipolipemiente.
- Glucosa basal alterada >100 mg/dl y/ o terapia hipoglucemiente.

Criterios de exclusión: Individuos menores de 18 años y mayores de 60 años; Individuos con hábitos tóxicos significativos (tabaquismo; etilismo > 50 g/d en hombres y > 30 g/día en mujeres; consumo de drogas recreacionales); Individuos con DM tipo1, hipertiroidismo, hipotiroidismo o HTA secundaria; Individuos con incapacidad para entender la hoja de información del estudio; Individuos que no accedieron a firmar el consentimiento informado.

Criterios de inclusión de individuos sin SM: Individuos no fumadores, mayores de 18 años y menores de 60 años y sin eventos cardiovasculares previos, sanos o que solo presenten 1-2 criterios de SM y con los mismos criterios de exclusión.

1.3. Protocolo del estudio.

Se incluyeron en el estudio todos aquellos individuos que acudían al Servicio de Medicina Interna y Unidad de Riesgo Cardiovascular del Hospital Universitario HM Montepríncipe y cumplían los criterios de inclusión pertinentes ya detallados. Fue independiente para su incorporación al estudio que los individuos consultaran por motivos relacionados con RCV, clínica derivada de ECV, derivados por otras especialidades o por cualquier otro motivo. Por tanto, se tuvo en cuenta que cumplieran los criterios de inclusión, aunque el hallazgo fuera incidental, por métodos rutinarios en la práctica clínica o por datos concluyentes en la historia clínica.

A todos los sujetos se les explicó la importancia de la ECV y el procedimiento del estudio. Una vez que dieron su conformidad y firmaron el consentimiento informado, se recogió una historia clínica detallada del paciente y se guardó en una carpeta individual, estandarizada y creada exclusivamente para el estudio. En estas carpetas no hay acceso a datos personales del paciente, vienen marcadas con una pegatina en la parte anterior donde aparece el código asignado a cada paciente del estudio. La custodia de estas carpetas se realizó en las consultas de Medicina Interna, en un archivador bajo llave, que sólo tuvo acceso el director clínico del proyecto.

Así pues, en la consulta del Servicio de Medicina Interna y Unidad de Riesgo Cardiovascular del Hospital Universitario HM Montepríncipe se recogió el consentimiento informado, se comenzó con la recogida de datos y se les pidió las distintas pruebas de imagen y analíticas correspondientes. Los datos que se recogieron en la consulta fueron:

- Características clínicas de los sujetos: edad, sexo, antecedentes de ECV establecida o algún factor de FRCV previo.
- Parámetros antropométricos: peso, talla, perímetro abdominal, perímetro de la cadera.
- Determinación de PA: en caso de que la medida de PA estuviera alterada a lo largo de las sucesivas consultas, se derivó al paciente al Servicio de Cardiología para la monitorización ambulatoria de PA o para su medida en domicilio.

También se les pidió una analítica para la determinación del hemograma, iones, parámetros lipídicos, parámetros de metabolismo glucídico y parámetros de detección precoz de enfermedad renal (albumina, creatinina, ácido úrico). En la misma extracción para esta determinación analítica se recogió una muestra de sangre para analizar en el Instituto de Medicina Molecular Aplicada (IMMA) de la Universidad San Pablo CEU.

Además, se les pidieron otras pruebas complementarias para el estudio: seguimiento de GIMc con ecografía por el Servicio de Cardiología e Imagen Cardíaca Avanzada, Electrocardiograma (ECG) y ecocardiograma, cuantificación del volumen de placa carotídea y cuantificación del calcio coronario por el Servicio de Cardiología del Hospital Universitario HM Montepríncipe.

1.4. Tiempo y modo de recogida de datos.

La información se recogió en el cuaderno de recogida de datos diseñado a tal efecto. Toda la información fue cumplimentada por el médico investigador a partir de los datos obtenidos en la historia clínica, las visitas del estudio y los resultados de los exámenes complementarios realizados. Los sujetos fueron informados sobre su participación en el estudio, la cual fue voluntaria y no supuso ningún cambio, ni en su tratamiento ni en su atención médica, respecto a los que hubiera recibido de no participar y dieron el consentimiento informado por escrito.

1.5. Confidencialidad de los datos.

Siempre se mantuvieron los niveles más altos de conducta profesional y confidencialidad y se cumplió la legislación nacional vigente sobre protección de datos (Ley de Protección de datos 15/1999), ajustándose a los principios de la Declaración de Helsinki. El derecho de los individuos a la confidencialidad fue respetado. La identidad de los individuos se codificó en los documentos del estudio y sólo personal debidamente autorizado tuvo acceso a los datos personales identificables. Los detalles personales que pudieron identificar al paciente fueron siempre confidenciales. Asimismo, fue responsabilidad del investigador clínico informar al paciente de modo expreso, preciso e inequívoco que sus datos se incorporaron a una base de datos informática, la cual sólo se empleó con finalidades de investigación clínica y que el paciente no pudo ser identificado de ninguna forma en dicha base de datos, y de la identidad y dirección del responsable del tratamiento de dicha base de datos.

Todos los datos consignados en el cuaderno de recogida de datos fueron tratados de forma confidencial. En ninguno de los registros efectuados hubo constancia del nombre de los individuos, sino que éstos fueron identificados a través de un número correspondiente al código del investigador y al código del paciente.

2. Parámetros antropométricos, clínicos y analíticos recogidos en los sujetos del estudio.

Todas las variables que se relacionan a continuación se recogieron en los 78 sujetos incluidos en el estudio. Se obtuvieron del Servicio de Medicina Interna y Unidad de Riesgo Cardiovascular del Hospital Universitario HM Montepríncipe y Servicio de Cardiología, según la práctica clínica habitual y mediante estudios específicos no invasivos (principalmente ecografías).

2.1. Características demográficas de los sujetos y distribución de los componentes de SM.

Se recogieron datos sobre la edad, sexo, número y tipo de FRCV (perímetro abdominal aumentado, HTA, bajos niveles de cHDL, hipertrigliceridemia y glucemia basal alterada).

Las medidas antropométricas se tomaron en las consultas de Medicina Interna y Unidad de Riesgo Cardiovascular. Se realizaron medidas del **perímetro abdominal** (en centímetros), cuantificado mediante cinta métrica. En todos los casos la medida se realizó en la cintura, en el punto intermedio entre el borde inferior de la última costilla y la cresta iliaca superoanterior, en bipedestación (317). El punto de corte para cumplir uno de los criterios de SM es un perímetro abdominal ≥ 102 cm en varones y ≥ 88 cm en mujeres (298).

2.2. Determinación clínica de la presión arterial.

Se midió la PA en la consulta siempre de la misma manera. Para ello primero se dejó que el paciente se sentara durante 3-5 min antes de comenzar a tomar las mediciones. Se tomaron como mínimo dos mediciones de PA, con el paciente sentado, con el puño a nivel del corazón dejando 1-2 min entre las mediciones. Se utilizaron los ruidos de Korotkoff de fase I y V (desaparición) para identificar la PAS y PAD, respectivamente. En la primera consulta se midió la PA en ambos brazos para detectar posibles diferencias. Después de las mediciones de PA se midió la frecuencia cardiaca por palpación de pulso (30 s). El esfigmomanómetro fue validado según protocolos estandarizados, y calibrado por los servicios técnicos periódicamente (318).

TABLA 1. Clasificación de categorías de PA (43).

Categoría	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)
Óptima	<120	<80
Normal	120-129	80-84
Normal-alta	130-139	85-89
Hipertensión grado 1	140-159	90-99
Hipertensión grado 2	160-179	100-109
Hipertensión grado 3	≥180	≥110
Hipertensión sistólica aislada	≥140	Y <90

PAS (presión arterial sistólica), PAD (presión arterial diastólica)

2.3. Parámetros lipídicos.

Todos los parámetros analíticos que se relacionan a continuación se obtuvieron de muestras de sangre que de forma rutinaria se piden desde el Servicio de Medicina Interna y Unidad de Riesgo Cardiovascular del Hospital Universitario HM Montepríncipe, según la práctica clínica habitual, y se han determinado en el laboratorio de análisis de dicho Hospital. Las variables están recogidas en los 78

sujetos que se incluyeron en el estudio. Los parámetros de perfil lipídico solicitados fueron las concentraciones plasmáticas de: colesterol total (en mg/dl), cHDL (en mg/dl), cLDL (en mg/dl) y TG (en mg/dl).

2.4. Parámetros relacionados con el metabolismo hidrocarbonado/resistencia a la insulina.

Respecto a los parámetros relacionados con el metabolismo hidrocarbonado se determinó por el laboratorio de análisis del Hospital Universitario HM Montepíncipe los siguientes parámetros: glucosa basal (en mg/dl), insulina basal (en mcU/ml), HbA1c (en %). Para relacionar los valores de glucosa con los niveles de insulina en sangre se calculó el índice HOMA (Homeostasis Model Assessment), un modelo matemático sencillo y de gran utilidad para determinar de una manera aproximada la sensibilidad de un individuo a la insulina (319). Se calcula con la siguiente fórmula:

HOMA: $(\text{Insulina [mcU/ml]} \times \text{glucemia [mg/dl]}) / 405$

2.5. Estimación del riesgo de desarrollar eventos cardiovasculares mayores.

Para estimar el riesgo de desarrollar un evento CV se aplicó:

- La Tabla SCORE calibrada para España y tabla SCORE relativo para riesgo de mortalidad CV a 10 años (2).
- La escala ASCVD-10 para estimación de RCV a 10 años (64).
- La escala Lifetime risk para estimación de RCV a 30 años (64).

3. Parámetros que pueden expresar aparición de ECV subclínica.

La evaluación de ECV subclínica se realizó en todos los sujetos mediante la determinación del GIMc, la presencia de placa aterosclerótica carotídea, la presencia de HVI y CAC en orina.

El estudio del volumen de placa carotídea y la presencia de calcificación coronaria (SCC) se realizó en aquellos sujetos que accedieron a completar el estudio mediante la realización adicional de ecografía 3D vascular (n=49) y tomografía computarizada de las coronarias (n=35) respectivamente. Todos los análisis de imagen se realizaron por expertos en el campo de imagen cardíaca avanzada y de una forma ciega respecto a datos clínicos y analíticos.

3.1. Estudios para la detección precoz de lesión aterosclerótica carotídea subclínica.

Los métodos no invasivos que se han utilizado para la detección precoz de LACS y la estratificación del riesgo de desarrollar eventos cardiovasculares/cerebrovasculares en sujetos asintomáticos con FRCV son los que se citan a continuación, y se han llevado a cabo en el Servicio de Cardiología e Imagen Cardíaca Avanza del Hospital Universitario HM Montepríncipe.

Se definió la presencia de enfermedad vascular carotídea si el GIMc era patológico y/o había presencia de placa, completándose el estudio en algunos sujetos con la cuantificación del volumen de dicha placa.

3.1.1. Grosor íntima media carotídeo.

En la determinación del grosor íntima media carotídeo (GIMc) existen varios protocolos para su determinación, lo cual dificulta la interpretación y la comparación de los resultados (316,320). La mayoría de los estudios utilizan la carótida derecha e izquierda y promedian los valores de ambas. El segmento distal de la pared lejana de la arteria carótida común es el segmento con las condiciones más favorables para realizar una medición precisa y reproducible. El GIM de la arteria carótida común se mide aproximadamente a 1,5 cm por debajo de la separación de los flujos carotídeos, o 1 cm por debajo de la bifurcación (316). La presentación ecográfica de las paredes arteriales muestra dos líneas ecogénicas separadas por un espacio hipoecoico. La línea ecogénica más interna es la interfase íntima-lumen y la más externa es la interfase media-

adventicia. Estudios anatómicos muestran que la distancia entre las dos líneas ecogénicas paralelas representa el GIMc (86).

En nuestro estudio, para la medición del GIMc se utilizó un equipo de ultrasonidos Philips equipado con una sonda lineal de 12 MHz. Se tomaron imágenes longitudinales de la carótida común con sincronización electrocardiográfica realizándose medidas en sístole a nivel de la pared posterior en la porción común distal de ambas carótidas a 1 cm de la bifurcación, utilizando para ello el software de medida semiautomático QLAB (Philips Health Care, Andover, MA, USA). Se consideró un valor de GIMc patológico por encima de 0,9 mm (316).

3.1.2. Presencia de placa carotidea.

La presencia de placa carotidea es un marcador de severidad de aterosclerosis y EC (84,315,321,322). Se define como una prominencia focalizada > 50% respecto del GIMc adyacente, o un espesor > 1,2 mm o engrosamiento difuso del GIMc > 1,5 mm (323).

En nuestro estudio, con el mismo equipo de ultrasonido Philips con el que se determinó el GIMc, se realizaron adquisiciones axiales y longitudinales del vaso para determinar la presencia de placas ateroscleróticas que se definieron como protrusión focal de la luz del vaso con un espesor > 50% respecto del GIMc adyacente, o un espesor >1,2 mm o engrosamiento difuso del GIMc > 1,5 mm (323).

3.1.3. Cuantificación del volumen de placa carotidea.

En los sujetos que accedieron a completar el estudio se realizó la cuantificación del volumen de placa carotidea mediante una nueva técnica de ecografía vascular en 3 dimensiones. Esta técnica se llevó a cabo en el Servicio de Cardiología e Imagen Cardiovascular Avanzada del Hospital Universitario HM Montepríncipe.

La ecografía vascular 3DVUS se realizó con un equipo de ecografía Philips Epiq equipado con la sonda lineal volumétrica VL 13-5 2D/3D (Philips Health Care, Andover, MA, USA) que realiza un barrido automático axial con una reconstrucción volumétrica de un segmento de unos 6 cm (adquisición de 30 grados) del vaso explorado. El análisis se realizó con el software semiautomático Vascular Plaque Quantification (VPQ) parte del QLAB 10.5



Figura 9. Presencia de placa aterosclerótica carotídea mediante estudio con 3DVUS.

3.2. Estudios para la detección precoz de enfermedad cardíaca.

La metodología que se describe a continuación, se ha llevado a cabo en el Servicio de Cardiología del Hospital Universitario HM Montepríncipe.

3.2.1. Hipertrofia ventricular izquierda.

La presencia de Hipertrofia ventricular izquierda (HVI) se llevó a cabo mediante ecografía cardíaca transtorácica. El ecocardiograma es el método de referencia para medir la HVI y es uno de los métodos de imagen no invasivos fundamentales en la evaluación de la función y dinámica cardíaca (88).

En nuestro estudio la presencia de HVI se determinó con un equipo de ecocardiografía realizando mediciones estandarizadas internacionalmente. Para ello se llevó a cabo una ecocardiografía en Modo M que consigue medición entre los límites bien definidos del endocardio, según la American Society of

Echocardiography (ASE), pues empleando dichos límites la estimación resulta más precisa que con criterios anteriores. Esta medición se realizó con equipos dotados de análisis de ultrasonido en segundo armónico ya que aportan una mejor resolución de los bordes endocárdicos y permite una medición más precisa. La presencia de HVI se definió en una proyección paraesternal eje largo del corazón como un espesor septal $\geq 11\text{mm}$ (324).

3.2.2. Cuantificación del calcio coronario

La determinación del Score Calcio Coronario (SCC) se realizó en un equipo de tomografía axial computarizada de 160 detectores (Aquilion, Toshiba Medical Systems Corp.) con un protocolo sin contraste de baja dosis de radiación y con sincronización ECG siguiendo el método de Agatston para su cuantificación y los percentiles de normalidad ajustados por edad y sexo según el estudio MESA (325).

3.3. Estudios para la detección precoz de enfermedad renal.

La metodología que se describe a continuación se ha llevado a cabo en el Servicio de Medicina Interna y Unidad de Riesgo Cardiovascular del Hospital Universitario HM Montepríncipe.

3.3.1. Estimación del filtrado glomerular.

La estimación del filtrado glomerular (FG) se llevó a cabo mediante el empleo de fórmulas que permiten identificar disminuciones del FG en individuos con creatinina sérica dentro de los límites normales, por lo tanto, son una herramienta útil para predecir un aumento de RVC.

Actualmente la fórmula más recomendada por las guías de práctica clínica y sociedades científicas es MDRD-4 (Modification of Diet in Renal Disease). Es la más utilizada en la clínica diaria por su sencillez y por ser un buen identificador de reducción de FG. Además numerosas asociaciones de Nefrología como la de

nuestro país incorporan calculadoras de fácil acceso y manejo para su utilización (89).

Fórmula MDRD-4:

FG (ml/min/1,73 m²) = 186 x (creatinina)^{-1,154} x (edad)^{-0,203} (mujeres: x 0,742)
(afroamericanos: x 1,120)

TABLA 2. Clasificación de ERC en función del FG (89). Existe ERC cuando el FG calculado con MDRD-4 es < 60 ml/min/1,73 m². En pacientes mayores de 70 años, se considera ERC cuando los valores disminuyen a < 45 ml/min/1,73 m².

Categoría	FG (ml/min/1,73 m ²)	Descripción
G1	≥ 90	Normal o elevado
G2	60-89	Ligeramente disminuido
G3a	45-59	Ligera/modera disminuido
G3b	30-44	Moderada/gravemente disminuido
G4	15-29	Gravemente disminuido
G5	< 15	Fallo renal

3.3.2. Cociente albúmina/creatinina.

El método más común de detección de albuminuria en la práctica clínica es el cociente albúmina/creatinina (CAC) (mg/g) en una muestra aislada de orina de primera hora de la mañana. El cociente proteínas/creatinina ofrece una mejor aproximación a la proteinuria, si bien esta determinación no se lleva a cabo de forma rutinaria en nuestro medio, y la clásica determinación en orina de 24 horas, se reserva para casos especiales en los que se considere necesaria una estimación más precisa (89).

La medida que se realizó fue el CAC urinario en una muestra aleatoria de orina matutina, estableciendo como nivel patológico un CAC ≥ 30 mg/g, valores superiores están considerados como lesión de órgano diana (91).

Tabla 3. Categorías de albuminuria (89)

Categoría	CAC (mg/g)	Descripción
A1	<30	Normal a ligeramente elevada
A2	30-300	Moderadamente elevada
A3	>300	Muy elevada

4. Datos de terapia farmacológica.

Se hizo una recogida de datos detallada de los fármacos utilizados por el paciente; fecha de inicio de administración del fármaco, cambios de medicación desde el inicio de tratamiento, dosis exacta, y posología de todos aquellos fármacos que intervienen en las variables del estudio:

- Fármacos hipoglucemiantes: antidiabéticos orales, insulinas, péptido similar a glucagón tipo 1 (GLP-1).
- Fármacos hipertensivos: beta-bloqueantes, calcioantagonistas, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAS), antagonistas del receptor de angiotensina II, diuréticos, antagonista del receptor mineralcorticoideo, metildopa o cualquier otro fármaco que pueda modificar las cifras de tensión arterial.
- Fármacos hipolipemiantes: estatitas, fibratos, secuestradores de ácidos biliares (colestipol, colestiramina), inhibidores de la absorción de colesterol (ezetimiba), ácido nicotínico, compuestos con ácido Omega-3.

5. Parámetros analíticos determinados en las muestras de sangre

Todos los parámetros que se relacionan a continuación están determinados a partir de muestras de sangre en los 78 sujetos que se incluyeron en el estudio, y su determinación se llevó a cabo en el Instituto de Medicina Molecular Aplicada (IMMA) de la Facultad de Medicina de la Universidad San Pablo CEU.

5.1. Recogida de muestras

De cada paciente se extrajeron en ayunas dos tubos Vacutainer de 5 mL de sangre que contienen una concentración final de 1 mg/mL ácido etildiaminotetraacético (EDTA) (Becton, Dickinson). A continuación, se centrifugaron a 2500 rpm, a 4 °C y durante 10 minutos, con el fin de obtener su fracción de plasma. Dicho plasma se alicuotó y guardó a -40°C hasta su posterior análisis para determinar las concentraciones plasmáticas de hormonas metabólicas, adipocitocinas, citocinas inflamatorias y factores endoteliales.

5.2. Determinación de parámetros moleculares.

En cada una de las muestras recogidas se llevó a cabo la determinación de distintos parámetros plasmáticos mediante un análisis por inmunoensayo Multiplex mediante tecnología *x-Map* technology (Luminex®) con la ayuda del equipo Luminex 200, según las indicaciones de la casa comercial (Bio-Rad, California, USA). Para ello se utilizaron 5 kits comerciales Multiplex, cada uno de los cuales analiza distintos analitos, de modo que se determinaron los siguientes parámetros, que hemos agrupado en:

- **Hormonas metabólicas y adipocitocinas:** adiponectina, adiposina, leptina, resistina, visfatina y grelina.
- **Citocinas inflamatorias:** IL-1 β , IL-8, IL-18, TNF- α , MCP-1
- **Factores endoteliales:** VEGF, VCAM-1, ICAM-1, PAI-1

Los kits empleados fueron: 1) Bio-Plex Pro™ Human Cytokine Standard 23-Plex, Group II para la IL-18, 2) Bio-Plex Pro™ Human Cytokine Standard 23-Plex,

Group II para la ICAM-1 y VCAM-1; 3) Bio-Plex Pro™ Diabetes Standard para la adiponectina y la adiposina; 4) Bio-Plex Pro™ Human Cytokine Standard 23-Plex, Group I para la IL-1 β , IL-8, MCP-1, TNF- α y VEGF; 5) Bio-Plex Pro™ Diabetes Standard 10-Plex, para la leptina, resistina, visfatina y PAI-1.

Los ensayos inmunológicos Multiplex se fundamentan en la técnica ELISA tipo sándwich, pero a diferencia de esta, ofrecen una cuantificación simultánea de múltiples analitos en un mismo ensayo, pudiendo detectar hasta 100 proteínas por muestra en cada pocillo de la placa. Esta tecnología de alto rendimiento se ha desarrollado para obtener resultados comparables a los de los ensayos ELISA pero con una mayor eficacia, al analizar en la misma muestra todos los parámetros a la vez. Por su parte se ahorra así también tiempo y costes. Además, el Multiplex necesita un menor volumen de muestra para el análisis.

La tecnología de inmunoensayo XMap-Luminex emplea esferas magnéticas marcadas internamente con dos fluorocromos que captan y emiten luz a distintas longitudes de onda. Cada fluorocromo puede tener hasta 10 posibles niveles de intensidad de fluorescencia, por lo que utilizando diferentes concentraciones de cada fluorocromo se pueden generar hasta 100 esferas distintas. Las esferas, a su vez, se conjugan con anticuerpos específicos de captura, para poder medir a la vez, en una misma muestra, distintos analitos.

El protocolo es equivalente a un ELISA tipo sándwich. Brevemente (Figura 10):

1. Se prepara la mezcla de microesferas magnéticas conjugadas con los anticuerpos de captura específicos de los analitos a determinar.
2. Se añade un anticuerpo de detección conjugado con biotina.
3. La mezcla de reacción de incubación con una mezcla de estreptavidina (que reconoce a la biotina) conjugada con el fluorocromo verde ficoeritrina.
4. Se coloca la placa en el analizador y un láser rojo, denominado de clasificación y que hace pasar una luz a 635 nm, identifica que tipo de esfera es, gracias a la fluorescencia con la que se ha marcado la esfera.

Por lo tanto, identifica que anticuerpo específico se ha unido a la esfera y qué tipo de analito se trata.

5. Simultáneamente, un segundo láser, denominado cuantificador, hace incidir una luz verde (532 nm) que cuantifica la cantidad de ficoeritrina unida a la esfera, interpolando los valores de fluorescencia en la curva de calibrado que se prepara con estándares de concentraciones conocidas de cada analito. Es decir, cuantifica cuánto analito de cada tipo se ha detectado en la muestra.

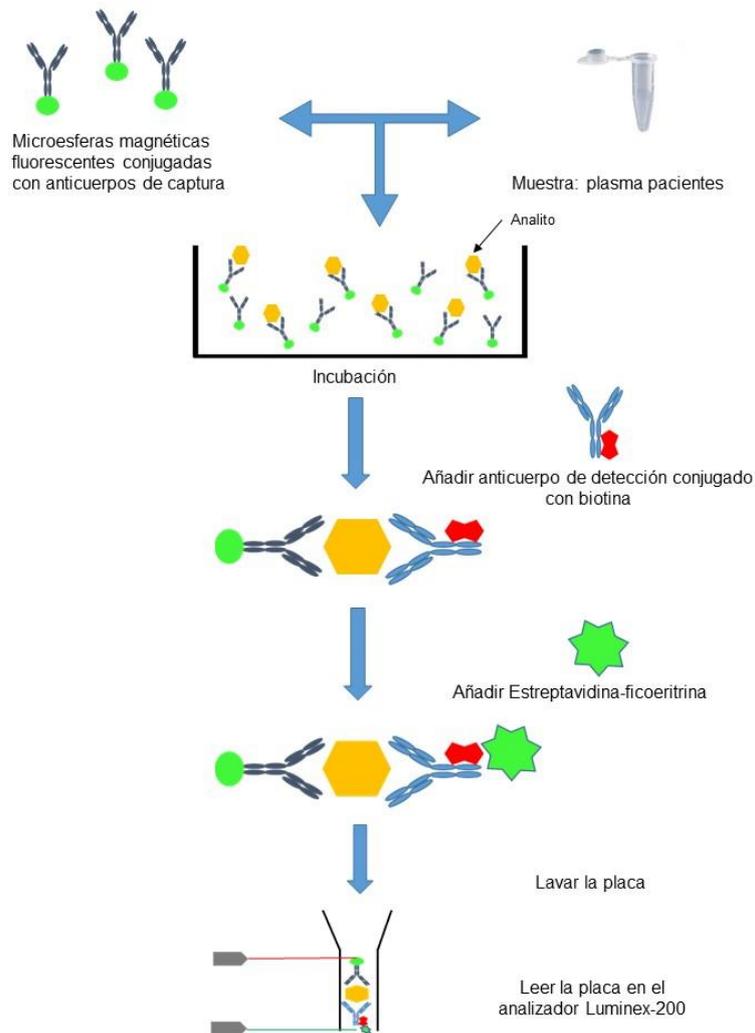


Figura 10. Protocolo de cuantificación de los parámetros moleculares mediante inmunoensayo con tecnología Luminex®. Se incuban las muestras con las esferas magnéticas que llevan adheridas el anticuerpo de captura. A continuación, se incuban con el anticuerpo de detección conjugado con biotina. Por último, se incubaba la muestra con una mezcla de Estreptavidina-ficoeritrina, que se unirá al anticuerpo de detección. El resultado final se lee en el equipo Luminex™ 200. (Adaptado de Luminex Corp).

Por su parte, la omentina se determinó mediante enzimoimmunoensayo (ELISA), en la cual se mide por espectrofotometría el antígeno presente en la muestra analizada, estando el anticuerpo pegado en el fondo del pocillo. Para ello se utilizó un kit comercial específico para omentina (Cusabio Biotech) y para el procedimiento se siguieron las instrucciones del comerciante. La sensibilidad de la técnica es de $< 0,39$ pg/mL. La lectura se llevó a cabo en el equipo Varioskan Flash (Thermo Fisher, Scientific España) midiéndose la absorbancia a 450 nm.

6. Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el programa SPSS 20.0 program (SPSS Institute, France), considerando diferencias estadísticamente significativas un valor de $p < 0,05$. En primer lugar, se determinó si las variables seguían una distribución normal mediante el test estadístico de Kolmogórov-Smirnov, aplicando posteriormente pruebas paramétricas o no paramétricas, dependiendo de si las variables seguían o no una distribución normal. Los resultados se expresaron como la media \pm desviación estándar (SD) para las variables cuantitativas y como número y porcentaje para las variables cualitativas.

Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante el test T-Student para muestras independientes en las variables cuantitativas. Las variables categóricas se expresaron como porcentajes, y se contrastaron con el test χ^2 . También se utilizaron medidas de asociación Odds ratio.

Para estudiar la relación existente entre las diferentes variables cuantitativas se llevó a cabo un análisis de regresión lineal y si procedía un análisis de regresión logística. Las correlaciones entre variables antropométricas, clínicas hormonales, metabólicas e inflamatorias se evaluaron utilizando los coeficientes de correlación de Pearson o sus equivalentes no paramétricos según correspondiese.

Resultados

Resultados

Se incluyeron 78 sujetos, de los cuales 59 presentaban SM (76%) y 19 no reunían criterios de SM (24%). La edad media fue de $48,47 \pm 7,94$ años en los sujetos con SM frente a $40,58 \pm 8,08$ años en el grupo sin SM ($p < 0,001$). En el grupo de SM el 78% fueron hombres frente a un 42% entre los sujetos sin SM ($p < 0,001$). En cada uno de los cinco componentes de SM evaluados se observó un elevado porcentaje de individuos que cumplían dichos criterios diagnósticos. Las características demográficas y la distribución de los componentes de SM se detallan en la Tabla 4.

Tabla 4. Características generales y distribución de los componentes de SM. Los valores se expresan como la media \pm desviación estándar o como el número de sujetos, n (%), en sujetos con y sin síndrome metabólico.

	Con SM (n=59)	Sin SM (n=19)	p valor
Edad (años)	$48,47 \pm 7,94$	$40,58 \pm 8,08$	0,001
Sexo masculino, n (%)	46 (78%)	8 (42%)	0,003
Nº de componentes de SM			
Ningún criterio	0 (0,0%)	7 (36,8%)	
1 ó 2 criterios	0 (0,0%)	12 (63,2%)	
≥ 3 criterios	59 (100%)	0 (0,0%)	
Presencia de los componentes de SM			
Perímetro abdominal elevado, n (%)	51 (86,4%)	5 (26,3%)	0,001
Presión arterial elevada, n (%)	50 (84,7%)	2 (10,5%)	0,001
Niveles bajos de colesterol HDL, n (%)	34 (57,6%)	1 (5,3%)	0,001
Hipertrigliceridemia, n (%)	42 (71,2%)	2 (10,5%)	0,001
Glucosa basal alterada, n (%)	45 (76,3%)	7 (36,8%)	0,002

HDL: lipoproteínas de alta densidad; SM: Síndrome metabólico.

1. Caracterización según la presencia de síndrome metabólico.

1.1. Parámetros clínicos.

Se observó un aumento significativo del **perímetro abdominal** ($108,42 \pm 13,16$ vs. $89,32 \pm 11,84$ cm; $p < 0,001$) en los sujetos con SM respecto a los sujetos sin SM (Tabla 5). Estas diferencias se mantuvieron cuando se analizó según el sexo, siendo en los hombres ($109,83 \pm 12,89$ vs. $90,62 \pm 7,70$ cm; $p < 0,001$) y en las mujeres ($103,46 \pm 13,39$ vs. $88,36 \pm 14,44$ cm; $p < 0,001$).

Respecto a los valores de **presión arterial** se observó un aumento significativo tanto en los valores de PAS ($135,51 \pm 20,01$ vs. $115,79 \pm 12,05$ mmHg; $p < 0,001$) como en los de PAD ($86,10 \pm 12,07$ vs. $71,74 \pm 7,99$ mmHg; $p < 0,001$) en los sujetos con SM respecto a aquellos sin SM. En el grupo con SM, 31 individuos (52,5%) estaban en tratamiento con algún fármaco antihipertensivo frente al grupo sin SM en el que sólo 2 de ellos (10,5%) recibieron terapia hipotensora (Tabla 5).

1.2. Parámetros lipídicos.

Respecto a los perfiles lipídicos analizados no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de colesterol total y de colesterol en LDL entre los sujetos con SM y los sujetos sin SM (Tabla 5). Sin embargo, en los valores de **colesterol HDL** se observaron niveles significativamente inferiores en los sujetos con SM ($46,07 \pm 11,67$ vs. $58,05 \pm 15,08$ mg/dl; $p < 0,001$). De éstos, 14 (23,7%) estaban en tratamiento con estatinas.

En las concentraciones plasmáticas de **TG** ($190,78 \pm 109,91$ vs. $91,10 \pm 50,81$ mg/dl; $p < 0,001$), se observó un aumento significativo en los sujetos con SM con respecto a los sujetos sin SM. Muy pocos sujetos de este grupo con SM estaban en tratamiento hipolipemiante (6 sujetos; 10,17%), y de éstos tan sólo 1 individuo (1,70%) tenía un control óptimo de los niveles de TG.

1.3. Parámetros del metabolismo hidrocarbonado/resistencia insulínica.

Tanto en los niveles de glucemia basal (en ayunas), como el valor de la HbA1c se observó un aumento significativo en los sujetos con SM (glucosa basal: $105,06 \pm 19,41$ vs. $95,61 \pm 9,06$ mg/dl; $p=0,006$; HbA1c: $5,82 \pm 0,71$ vs. $5,44 \pm 0,29$; $p<0,001$). También se observó un aumento significativo en los niveles de insulina y en los valores del índice HOMA (insulina basal: $12,10 \pm 13,29$ vs $6,32 \pm 4,30$ mU/l; $p=0,006$; HOMA basal: $3,50 \pm 4,3$ vs. $1,34 \pm 0,72$; $p<0,001$). En el grupo con SM hubo 10 sujetos (16,95%) que recibieron terapia antidiabética (Tabla 5).

1.4. Estimación de RCV mediante escalas.

El RCV estimado a 10 años según las escalas de riesgo SCORE y ASCVD fue significativamente superior en los sujetos con SM respecto a los sujetos sin SM (SCORE: $1,08 \pm 1,07$ vs. $0,10 \pm 0,31$; $p<0,001$; ASCVD: 5,94% vs. 1,07%; $p<0,001$).

Cuando se estimó el riesgo a 30 años, calculado mediante la escala de Lifetime risk (50,08% vs. 33,11%; $p<0,001$), de igual forma el riesgo fue mayor en el grupo de individuos con SM (Tabla 5).

Tabla 5. Principales parámetros clínicos, analíticos y de estimación de RCV a 10 y 30 años. Los valores se expresan como la media \pm desviación estándar o como el número de sujetos, n (%), en sujetos con y sin síndrome metabólico.

	Con SM (n=59)	Sin SM (n=19)	p valor
Parámetros clínicos			
Perímetro abdominal (cm)	108,42 \pm 13,16	89,32 \pm 11,84	0,001
PA sistólica (mmHg)	135,51 \pm 20,01	115,79 \pm 12,05	0,001
PA diastólica (mmHg)	86,10 \pm 12,07	71,74 \pm 7,99	0,001
Terapia hipotensora, n (%)	31 (52,5%)	2 (10,5%)	0,003
Parámetros lipídicos			
Colesterol total (mg/dl)	209,59 \pm 43,49	198,95 \pm 35,36	0,336
Colesterol LDL (mg/dl)	128,88 \pm 39,68	121,21 \pm 26,33	0,434
Colesterol HDL (mg/dl)	46,07 \pm 11,67	58,05 \pm 15,08	0,001
Triglicéridos (mg/dl)	190,78 \pm 109,91	91,10 \pm 50,81	0,001
Terapia hipolipemiente, n (%)	20 (33,9%)	0 (0,0%)	0,045
Parámetros de metabolismo hidrocarbonado/resistencia insulínica			
Glucosa basal (mg/dl)	105,06 \pm 19,41	95,61 \pm 9,06	0,006
HbA1c (%)	5,82 \pm 0,71	5,44 \pm 0,29	0,001
Insulina (mU/l)	12,10 \pm 13,29	6,32 \pm 4,30	0,006
HOMA basal	3,50 \pm 4,3	1,34 \pm 0,72	0,001
Terapia antidiabética, n (%)	10 (17%)	0 (0,0%)	0,208
Estimación de RCV a 10 (SCORE y ASCVD) y 30 años (Lifetime risk)			
SCORE	1,08 \pm 1,07	0,10 \pm 0,31	0,001
ASCVD (%)	5,94 \pm 4,71	1,07 \pm 1,06	0,001
Lifetime risk (%)	50,08 \pm 12,55	33,11 \pm 14,70	0,001

ASCVD: atherosclerotic cardiovascular disease (enfermedad cardiovascular aterosclerótica); HbA1c: hemoglobina glicosilada; HDL: lipoproteínas de alta densidad; HOMA: homeostasis model assessment; LDL: lipoproteínas de baja densidad; PA: presión arterial; RCV: riesgo cardiovascular; SM: síndrome metabólico.

1.5. Datos de ECV subclínica.

La tabla 6 y la figura 11 muestran los valores de los parámetros asociados con ECV subclínica en función de la presencia de SM.

Lesión aterosclerótica carotídea subclínica.

El valor medio del **GIMc** fue significativamente superior en los sujetos con SM respecto al grupo de sujetos sin SM ($1,10 \pm 0,57$ vs. $0,75 \pm 0,32$ mm; $p=0,002$) (Tabla 6 y Figura 11).

En el grupo de SM, 43 sujetos de 59 (72,9%) mostraron lesión aterosclerótica subclínica, manifestada por un valor de GIMc superior al límite establecido como patológico ($>0,9$ mm) y en 15 de ellos (25,4%) se encontró **presencia de placa** aterosclerótica carotídea. En los sujetos sin SM, en ninguno se encontró presencia de placa y sólo 5 (26,3%) mostraron valores de GIMc $> 0,9$ mm.

Cuando se analizó la relación del GIMc y la presencia/ausencia de SM se documentó una asociación significativa entre GIMc patológico y la presencia de SM (Odds Ratio [OR]= 7,52; IC 95%: 2,33-24,27; $p<0,001$).

Lesión aterosclerótica coronaria subclínica.

Se realizó la determinación del score calcio coronario (SCC) en 35 sujetos. Los sujetos con SM presentaron significativamente valores medios más elevados de SCC que los sujetos sin SM ($69,33 \pm 134,16$ vs. $5,25 \pm 8,06$; $p=0,015$) (Tabla 6 y Figura 11). De entre los sujetos con SM, 19 (63,3%) mostraron la presencia de calcificación coronaria. Sin embargo, 2 de 5 individuos (40%) sin SM también mostraron presencia de calcificación coronaria. Al analizar sus características clínicas se trata de dos sujetos que a pesar de no reunir todos los criterios de SM si mostraron presencia de glucemia basal alterada.

Presencia de hipertrofia ventricular izquierda.

Como medida de enfermedad cardiaca se determinó también la presencia de HVI en todos los sujetos incluidos en el estudio. La HVI fue menos frecuente como marcador de ECV subclínica ya que se manifestó con una prevalencia del 37,3% en sujetos con SM y en ningún caso en sujetos sin SM (Tabla 6).

Detección de enfermedad renal

Como medida precoz de enfermedad renal se determinaron la TFG y la presencia de microalbuminuria (Tabla 6).

Los sujetos con SM mostraron una filtración glomerular, estimada mediante la fórmula MDRD, de $91,06 \pm 17,72$ vs. $99,23 \pm 18,62$ ml/min; $p=0,123$. No hubo diferencias en los valores medios de FG entre los sujetos con y sin SM y sólo 3 de ellos (5,1%) mostraron cifras de FG en la categoría G3a (filtrado glomerular ligera/moderadamente disminuido). El resto de sujetos con alteración del FG, 21 (35,6%) estaban en la categoría G2 (filtrado glomerular ligeramente disminuido).

Por otro lado, tampoco hubo diferencias en los valores medios de CAC entre los sujetos con y sin SM y sólo 3 de ellos (5,1%) mostraron cifras de microalbuminuria.

Tabla 6. Parámetros de enfermedad cardiovascular subclínica. Los valores se expresan como la media \pm desviación estándar o número de sujetos, n (%) en sujetos con y sin síndrome metabólico.¹ El SCC se realizó en 35 individuos (en 30 sujetos con SM y en 5 sujetos sin SM).

	Con SM (n=59)	Sin SM (n=19)	p valor
Presencia de aterosclerosis carotidea subclínica			
Valor GIMc (mm)	1,10 \pm 0,57	0,75 \pm 0,32	0,002
GIMc > 0,9 mm	43 (72,9%)	5 (26,3%)	0,001
Presencia de placa	15 (25,4%)	0 (0%)	0,016
Calcificación coronaria ¹ (aterosclerosis coronaria subclínica)			
Valor SCC	69,33 \pm 134,16	5,25 \pm 8,06	0,015
Presencia de calcificación	19 (63,3%)	2 (40%)	0,886
Hipertrofia ventricular izquierda			
HVI \geq 11 mm	22 (37,3%)	0 (0%)	0,001
Presencia de lesión renal			
TFG (ml/min)	91,06 \pm 17,72	99,23 \pm 18,62	0,123
Valor CAC (mg/g)	5,58 \pm 9,08	3,07 \pm 2,96	0,074
CAC > 30 (mg/g)	3 (5,1%)	0(0,0%)	0,752

CAC: cociente albúmina/creatinina; GIMc: grosor íntima-media carotideo; HVI: hipertrofia ventricular izquierda; SCC: score calcio coronario; SM: síndrome metabólico.

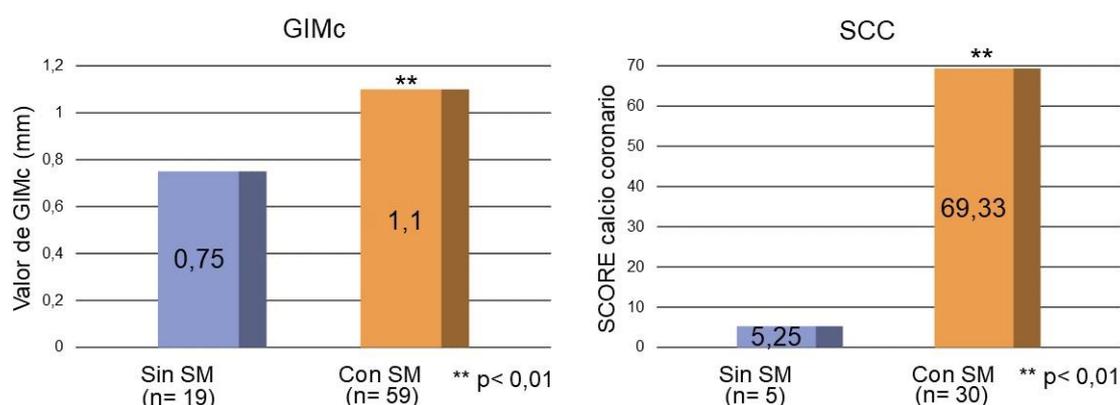


Figura 11. Valores medios de GIMc y SCC en los sujetos según la presencia de SM.

1.6. Parámetros moleculares.

Se analizaron las concentraciones plasmáticas de 17 moléculas con potencial papel etiopatogénico y fisiopatológico en el desarrollo de aterosclerosis, según la presencia de SM (Tabla 7).

Tabla 7. Concentraciones plasmáticas de hormonas metabólicas y adipocitocinas, parámetros inflamatorios y factores endoteliales en función de la presencia de SM. Los valores se expresan como la media \pm desviación estándar en sujetos con y sin síndrome metabólico.

	Con SM (n=59)	Sin SM (n=19)	p valor
Hormonas metabólicas/adipocitocinas			
Adiponectina ($\mu\text{g/ml}$)	4,26 \pm 2,76	4,53 \pm 2,08	0,653
Adipsina ($\mu\text{g/ml}$)	0,89 \pm 0,34	0,72 \pm 0,19	0,122
Leptina (ng/ml)	7,79 \pm 6,99	7,27 \pm 6,34	0,763
Resistina (ng/ml)	3,39 \pm 1,25	3,24 \pm 1,18	0,648
Visfatina (ng/ml)	3,48 \pm 5,71	2,43 \pm 2,33	0,282
Omentina (ng/ml)	13,00 \pm 10,10	17,03 \pm 10,97	0,050
Ghrelin (pg/ml)	725,81 \pm 310,47	739,66 \pm 358,05	0,881
Citocinas inflamatorias			
IL-1 β (pg/ml)	0,91 \pm 1,55	0,97 \pm 1,40	0,871
IL-6 (pg/ml)	4,32 \pm 5,20	5,86 \pm 7,39	0,577
IL-8 (pg/ml)	10,28 \pm 12,27	9,01 \pm 8,47	0,619
IL-18 (pg/ml)	140,97 \pm 211,66	99,65 \pm 58,18	0,181
MCP-1 (pg/ml)	71,16 \pm 39,68	66,04 \pm 35,62	0,600
TNF- α (pg/ml)	8,39 \pm 9,52	9,77 \pm 8,49	0,628
Factores endoteliales			
ICAM-1 (ng/ml)	186,70 \pm 65,88	158,38 \pm 48,04	0,016
VCAM-1 (ng/ml)	288,30 \pm 59,34	256,69 \pm 54,96	0,050
VEGF (pg/ml)	46,04 \pm 44,60	29,85 \pm 28,79	0,073
PAI-1 (ng/ml)	14,76 \pm 2,44	8,05 \pm 2,89	0,001

ICAM-1: Molécula de adhesión intercelular; IL: interleuquina; MCP-1: Proteína quimiotáctica de monocitos 1; PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno 1; TNF- α : Factor de necrosis tumoral α ; VCAM-1: molécula de adhesión celular vascular; VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular.

Hormonas metabólicas y adipocitocinas.

Las concentraciones plasmáticas de omentina fueron significativamente menores en los sujetos con SM respecto a los sujetos sin SM ($13,0 \pm 10,10$ vs. $17,03 \pm 10,97$ ng/ml; $p=0,05$). Sin embargo, en el resto de hormonas y adipocitocinas estudiadas no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla 7).

Citocinas inflamatorias.

En relación a las concentraciones plasmáticas de las citocinas analizadas, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los sujetos con SM y los sujetos sin SM (Tabla 7).

Factores endoteliales.

En las moléculas de adhesión vascular endotelial tanto las concentraciones plasmáticas de ICAM-1 ($186,7 \pm 65,88$ vs. $158,3 \pm 48,04$ ng/ml; $p=0,016$) e VCAM-1 ($288,3 \pm 59,34$ vs. $256,6 \pm 54,96$ ng/ml; $p=0,05$) fueron significativamente superiores en los sujetos con SM.

Del mismo modo, el inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) los valores observados también fueron significativamente superiores en los sujetos con SM ($14,76 \pm 2,44$ vs $8,05 \pm 2,89$ ng/ml; $p<0,001$).

Por el contrario, en las concentraciones plasmáticas de VEGF no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (Tabla 7).

1.7 Relación entre las concentraciones plasmáticas de los parámetros moleculares y el RCV estimado.

Se estudió si existe relación entre las concentraciones plasmáticas de cada uno de los parámetros estudiados en el apartado anterior, con el RCV estimado a 10 años mediante las escalas SCORE y ASCVD, y a 30 años con la escala Lifetime risk.

En la figura 12 se muestran los resultados estadísticamente significativos. Los niveles de ICAM-1 ($r=0,30$; $p=0,008$), VCAM-1 ($r=0,25$; $p=0,025$) y PAI-1 ($r=0,33$; $p=0,003$) mostraron correlación positiva con el RCV estimado mediante la escala ASCVD (estimación a 10 años). Por su parte, la omentina mostró una correlación negativa significativa con el RCV estimado a 10 años ($r=-0,27$; $p=0,023$) (figura 12).

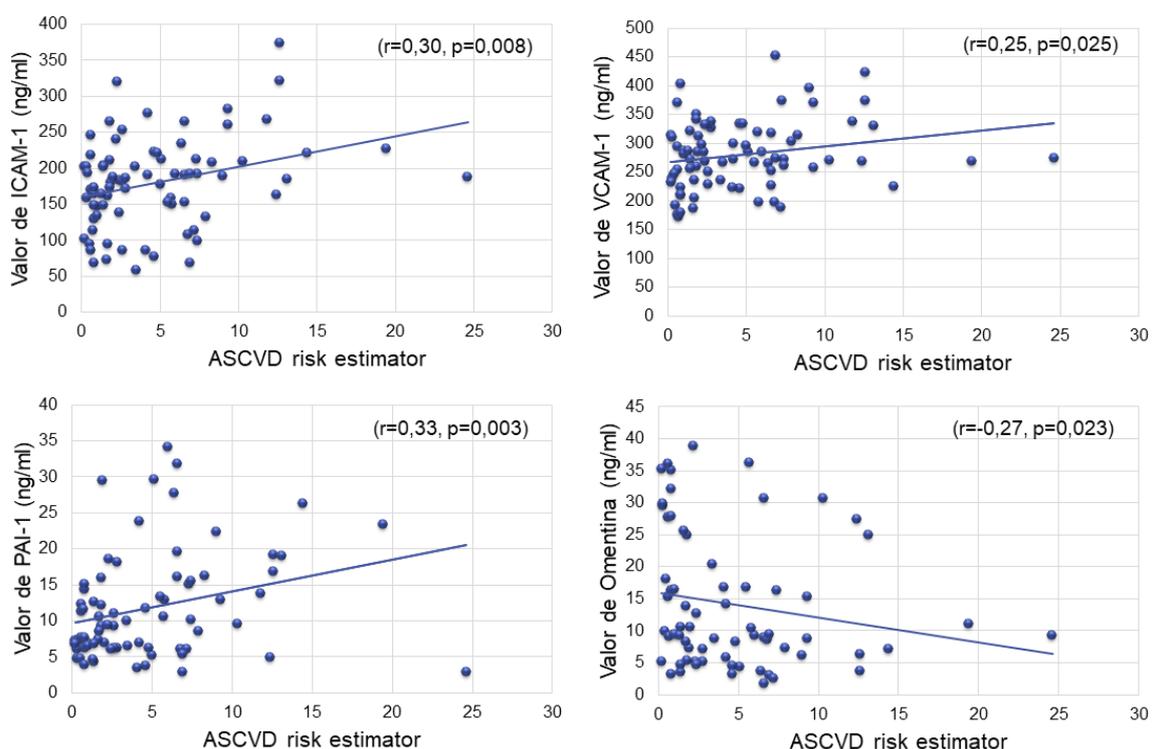


Figura 12. Correlaciones estadísticamente significativas entre los niveles plasmáticos de hormonas metabólicas/adipocitocinas, factores endoteliales y estimación de RCV mediante la escala ASCVD.

2. Caracterización según la presencia de lesión aterosclerótica carotídea subclínica.

En este apartado se analizó la relación de cada factor de riesgo con la presencia o no de LACS, considerando ésta como una elevación de GIMc $> 0,9$ mm y/o la presencia de placa, definida por una prominencia focalizada $> 50\%$ respecto del GIM adyacente, o un espesor $> 1,2$ mm o engrosamiento difuso del GIMc $> 1,5$ mm (Tabla 8).

De los 78 sujetos estudiados, 55 (70,5%) presentaban LACS frente a 23 individuos (29,5%) que no presentaban LACS. Los sujetos con lesión aterosclerótica carotídea tuvieron una edad media de $42,63 \pm 8,47$ años frente a $49,00 \pm 7,84$ ($p=0,002$) de los que no presentaban LACS y el 70,91% fueron hombres frente a un 39%; $p=0,050$.

2.1. Parámetros clínicos.

Se objetivó un aumento significativo de perímetro abdominal ($107,06 \pm 12,88$ vs. $98,50 \pm 17,28$ cm; $p= 0,015$) en sujetos con LACS frente a los sujetos sin lesión carotídea. En relación a la presión arterial se observó un aumento significativo en el valor de PAS ($134,38 \pm 17,94$ vs. $124,83 \pm 22,46$ mmHg; $p= 0,042$) en los sujetos con LACS frente a los sujetos sin LACS.

2.2. Parámetros lipídicos.

Se observaron niveles significativamente aumentados de colesterol total ($216,31 \pm 41,35$ vs. $192,10 \pm 38,35$ mg/dl; $p= 0,011$) en los sujetos con LACS. Del mismo modo, cuando se estudió el colesterol en sus fracciones, observamos niveles significativamente aumentados de cLDL ($133,48 \pm 39,68$ vs. $116,67 \pm 29,61$ mg/dl; $p= 0,021$), y niveles significativamente disminuidos de cHDL ($46,17 \pm 11,82$ vs. $53,40 \pm 15,02$ mg/dl; $p= 0,049$) en los sujetos con LACS frente a sujetos con sin LACS.

En relación a los triglicéridos se observaron niveles significativamente aumentados de TG ($198,08 \pm 112,71$ vs. $115,97 \pm 76,22$ mg/dl; $p < 0,001$) en los sujetos con presencia de LACS frente a los sujetos sin LACS (Tabla 8).

Cuando analizamos los sujetos en función de si estaban en tratamiento con hipolipemiantes (estatinas o fibratos) frente a los sujetos sin tratamiento no encontramos diferencias estadísticamente significativas con respecto a los resultados anteriormente descritos.

2.3. Parámetros del metabolismo hidrocarbonado/resistencia insulínica.

Se observaron niveles de HOMA basal ($3,61 \pm 4,83$ vs. $2,08 \pm 1,32$; $p=0,048$) y HbA1c ($5,86 \pm 0,75$ vs. $5,51 \pm 0,39$; $p=0,008$) significativamente elevados en sujetos con LACS (Tabla 8), al igual que las concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina, si bien en ambos parámetros la diferencia no llegó a ser estadísticamente significativa.

Tabla 8. Parámetros demográficos, clínicos, lipídicos y del metabolismo hidrocarbonado y resistencia insulínica en relación con la presencia de lesión aterosclerótica carotídea subclínica. Valores expresados como la media \pm desviación estándar o como número de sujetos (%) en sujetos con y sin síndrome metabólico.

	Con LACS (n=55)	Sin LACS (n=23)	p valor
Edad (años)	42,63 \pm 8,47	49,00 \pm 7,84	0,002
Sexo masculino, n (%)	39 (70,91%)	9 (39,13%)	0,050
Parámetros clínicos			
Perímetro abdominal (cm)	107,06 \pm 12,88	98,50 \pm 17,28	0,015
PA sistólica (mmHg)	134,38 \pm 17,94	124,83 \pm 22,46	0,042
PA diastólica (mmHg)	84,33 \pm 10,99	79,83 \pm 15,00	0,161
Terapia hipotensora, n (%)	26 (47,27%)	7 (30,43%)	0,010
Parámetros lipídicos			
Colesterol total (mg/dl)	216,31 \pm 41,35	192,10 \pm 38,35	0,011
Colesterol LDL (mg/dl)	133,48 \pm 39,68	116,67 \pm 29,61	0,021
Colesterol HDL (mg/dl)	46,17 \pm 11,82	53,40 \pm 15,02	0,049
Triglicéridos (mg/dl)	198,08 \pm 112,71	115,97 \pm 76,22	0,001
Terapia hipolipemiente, n (%)	17 (30,91%)	3 (13,04%)	0,226
Parámetros de metabolismo hidrocarbonado/ resistencia insulínica			
Glucosa basal (mg/dl)	105,66 \pm 20,88	98,47 \pm 10,97	0,052
Insulina (mU/l)	12,30 \pm 14,74	8,46 \pm 5,22	0,113
HOMA basal	3,61 \pm 4,83	2,08 \pm 1,32	0,048
HbA1c (%)	5,86 \pm 0,75	5,51 \pm 0,39	0,008
Terapia antidiabética, n (%)	9 (16,36%)	1 (4,35%)	0,143

HbA1c: hemoglobina glicosilada; HDL: lipoproteínas de alta densidad; HOMA: homeostasis model assessment; LACS: Lesión carotídea subclínica; LDL: lipoproteínas de baja densidad; PA: presión arterial.

2.4. Relación de los FRCV con la presencia de LACS.

Para estudiar la asociación entre los FRCV medidos y la presencia de LACS, se correlacionó la medida del GIMc con cada uno de los FRCV tradicionales. Se observó una correlación positiva y estadísticamente significativa entre el GIMc y perímetro abdominal ($r=0,294$; $p=0,009$), PAS ($r=0,295$; $p=0,009$), cLDL ($r=0,254$; $p=0,025$) y TG ($r=0,347$; $p=0,002$). También se observó una correlación negativa estadísticamente significativa entre el GIMc y las concentraciones plasmáticas de cHDL ($r= -0,281$; $p=0,013$) (Tabla 9).

Tabla 9. Correlaciones entre los FRCV tradicionales y el valor del GIMc.

	GIMc	
	r	p valor
Parámetros clínicos		
Perímetro abdominal (cm)	0,294	0,009
PA sistólica (mmHg)	0,295	0,009
PA diastólica (mmHg)	0,178	0,120
Parámetros lipídicos		
Colesterol total (mg/dl)	0,196	0,086
Colesterol LDL (mg/dl)	0,254	0,025
Colesterol HDL (mg/dl)	-0,281	0,013
Triglicéridos (mg/dl)	0,347	0,002
Parámetros de metabolismo hidrocarbonado		
Glucosa basal (mg/dl)	0,114	0,323

GIMc: Grosor íntima-media carotideo; HDL: lipoproteínas de alta densidad; LDL: lipoproteínas de baja densidad; PA: presión arterial.

2.5. Parámetros moleculares en función de la presencia de lesión aterosclerótica carotídea subclínica.

Se analizaron las 17 moléculas con potencial papel etiopatogénico y fisiopatológico en el desarrollo de la aterosclerosis descritas en el apartado 2.5 (*Moléculas implicadas en el proceso fisiopatológico de la ECV*). La tabla 10 muestra las concentraciones plasmáticas de hormonas metabólicas y adipocitocinas, parámetros inflamatorios y factores asociados a disfunción endotelial, en función de la presencia de enfermedad carotídea subclínica.

Hormonas metabólicas y adipocitocinas.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las hormonas metabólicas y adipocitocinas estudiadas (adiponectina, adiposina, leptina, resistina, visfatina, ghrelina y omentina) entre sujetos con LACS o sujetos sin LACS (Tabla 10).

Citocinas inflamatorias

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de sujetos en ninguna de las citocinas analizadas (Tabla 10).

Factores endoteliales

Los valores de ICAM-1 ($199,31 \pm 63,21$ vs. $148,57 \pm 48,95$ ng/ml; $p=0,001$), VCAM-1 ($294,28 \pm 60,40$ vs. $258,71 \pm 51,89$ ng/ml; $p=0,007$) y PAI-1 ($15,43 \pm 12,85$ v.s $9,45 \pm 6,86$ ng/ml; $p=0,009$) fueron significativamente superiores en los sujetos con LACS respecto a los sujetos sin enfermedad. Comparando el cuarto con el primer cuartil de las concentraciones plasmáticas de factores endoteliales, se detectó una asociación significativa entre la enfermedad carotídea subclínica y los niveles séricos de ICAM-1 (Odds Ratio [OR]: 14,57; IC 95 % 2,56-82,73, $p<0,001$), VCAM-1 (OR: 7,33; IC 95%: 1,58-33,96, $p=0,007$) y PAI-1 (OR: 7,80; IC 95%: 1,04-22,10, $p=0,036$).

Tabla 10. Concentraciones plasmáticas de adipocitocinas, parámetros inflamatorios y factores endoteliales en función de la presencia lesión aterosclerótica carotídea subclínica. Valores expresados como la media \pm desviación estándar en sujetos con y sin presencia de lesión aterosclerótica carotídea subclínica.

	Con LACS (n=55)	SIN LACS (n=23)	p valor
Hormonas metabólicas y adipocitocinas			
Adiponectina ($\mu\text{g/ml}$)	4,16 \pm 2,71	4,57 \pm 2,41	0,663
Adipsina ($\mu\text{g/ml}$)	0,83 \pm 0,20	0,86 \pm 0,44	0,217
Leptina (ng/ml)	6,99 \pm 4,64	8,73 \pm 9,27	0,825
Resistina (ng/ml)	3,37 \pm 1,25	3,34 \pm 1,22	0,887
Visfatina (ng/ml)	3,52 \pm 5,96	2,70 \pm 3,05	0,173
Omentina (ng/ml)	13,29 \pm 10,45	15,26 \pm 10,43	0,848
Ghrelin (pg/ml)	700 \pm 291	775 \pm 362	0,874
Parámetros inflamatorios			
IL-1 β (pg/ml)	0,71 \pm 1,43	1,27 \pm 1,58	0,121
IL-6 (pg/ml)	3,10 \pm 2,98	7,06 \pm 7,86	0,092
IL-8 (pg/ml)	9,06 \pm 10,19	11,46 \pm 13,25	0,406
IL-18 (pg/ml)	130,44 \pm 129,87	131,65 \pm 255,37	0,981
MCP-1 (pg/ml)	72,36 \pm 34,43	66,01 \pm 40,27	0,510
TNF- α (pg/ml)	6,87 \pm 7,77	12,57 \pm 10,91	0,066
Factores endoteliales			
ICAM-1 (ng/ml)	199,31 \pm 63,21	148,57 \pm 48,95	0,001
VCAM-1 (ng/ml)	294,28 \pm 60,40	258,71 \pm 51,89	0,007
VEGF (pg/ml)	39,26 \pm 34,57	46,41 \pm 51,24	0,467
PAI-1 (ng/ml)	15,43 \pm 12,85	9,45 \pm 6,86	0,009

ICAM-1: Molécula de adhesión intercelular; IL: interleuquina; MCP-1: Proteína quimiotáctica de monocitos 1; PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno 1; TNF- α : Factor de necrosis tumoral α ; VCAM-1: molécula de adhesión celular vascular; VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular.

2.6. Relación de los parámetros moleculares con la presencia de LACS.

Cuando se correlacionó la medida del GIMc, como medida indicativa de la presencia de LACS, con las concentraciones plasmáticas de hormonas metabólicas, adipocitocinas, parámetros inflamatorios y factores endoteliales (Tabla 11), únicamente se observó una correlación positiva y estadísticamente significativa con las concentraciones plasmáticas de ICAM-1 ($r=0,36$; $p<0,001$) y VCAM-1 ($r=0,34$; $p=0,002$) (Figura 13).

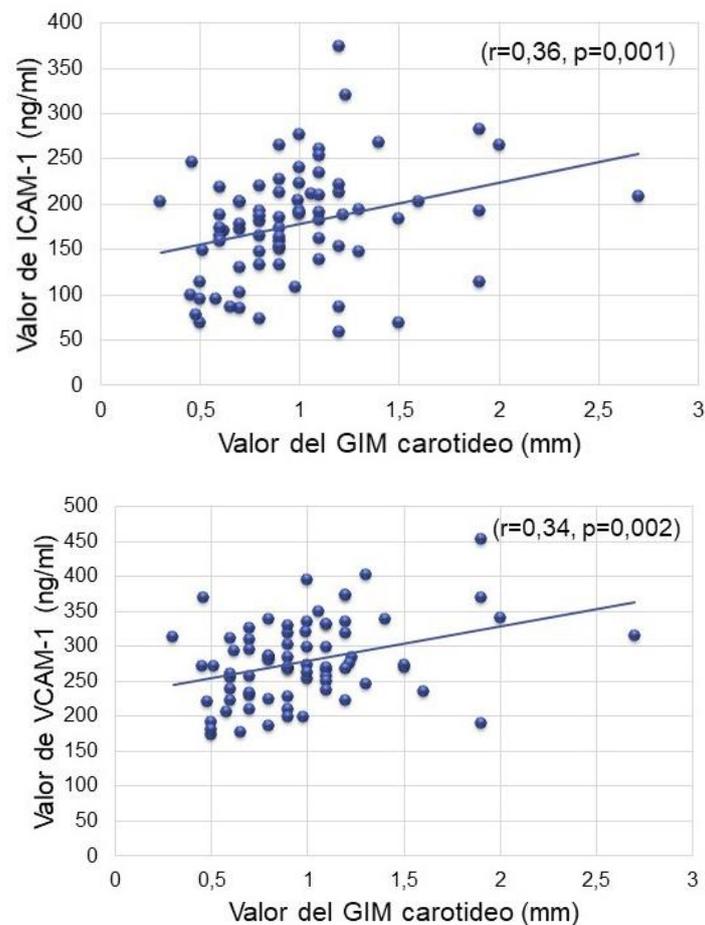


Figura 13. Correlaciones significativas entre las concentraciones plasmáticas de ICAM-1 y VCAM-1 con el valor de GIMc.

Tabla 11. Correlaciones entre el valor del GIM carotideo y marcadores plasmáticos.

	GIMc	
	r	p valor
Hormonas metabólicas y adipocitocinas		
Adiponectina (µg/ml)	-0,16	0,162
Adipsina (µg/ml)	0,10	0,406
Leptina (ng/ml)	0,01	0,960
Resistina (ng/ml)	-0,08	0,461
Visfatina (ng/ml)	0,08	0,536
Ghrelina (pg/ml)	-0,10	0,405
Omentina (ng/ml)	-0,14	0,270
Citocinas inflamatorias		
IL-1β (pg/ml)	-0,16	0,153
IL-6 (pg/mL)	-0,34	0,051
IL-8 (pg/ml)	-0,02	0,833
IL-18 (pg/mL)	0,21	0,066
MCP-1 (pg/ml)	-0,01	0,923
TNF-α (pg/ml)	-0,23	0,098
Factores endoteliales		
ICAM-1 (ng/ml)	0,36	0,001
VCAM-1 (ng/ml)	0,34	0,002
VEGF (pg/ml)	-0,127	0,274
PAI-1 (ng/ml)	0,182	0,113

ICAM-1: Molécula de adhesión intercelular; MCP-1: Proteína quimiotáctica de monocitos 1; PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno 1; TNF-α: Factor de necrosis tumoral α; VCAM-1: molécula de adhesión celular vascular; VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular.

3. Correlación entre parámetros moleculares plasmáticos y volumen de placa aterosclerótica carotídea cuantificados mediante ultrasonido vascular tridimensional/3DVUS.

En 49 sujetos se amplió el estudio con la realización de una ecografía vascular tridimensional 3DVUS con el objetivo de establecer asociaciones entre la severidad de la enfermedad subclínica y la concentración de las moléculas plasmáticas analizadas.

En 36 (73,4%) de ellos se observó presencia de LACS, definida por un aumento del GIMc y/o por la presencia de placa, 26 (72,2%) tenía presencia de placa aterosclerótica y 10 (27,8%) GIMc aumentado. De los 26 sujetos con placa carotídea, se realizó un estudio de correlación entre el volumen de placa carotídea y los 17 marcadores plasmáticos analizados. De todos los parámetros estudiados, el factor endotelial ICAM-1 fue el único donde se observó una correlación positiva ($r=0,405$; $p=0,045$) con el volumen de placa carotídea aterosclerótica (Tabla 12).

Tabla 12. Correlaciones entre el volumen de placa aterosclerótica carotídea y marcadores plasmáticos.

	Volumen de placa	
	r	p valor
Hormonas metabólicas y adipocitocinas		
Adiponectina (µg/ml)	0,13	0,527
Adipsina (µg/ml)	-0,24	0,248
Leptina (ng/ml)	0,19	0,359
Resistina (ng/ml)	-0,06	0,791
Visfatina (ng/ml)	-0,01	0,982
Ghrelina (pg/ml)	0,19	0,361
Omentina (ng/ml)	0,07	0,762
Citocinas inflamatorias		
IL-1β (pg/ml)	-0,14	0,509
IL-6 (pg/mL)	-0,46	0,177
IL-8 (pg/ml)	0,27	0,183
IL-18 (pg/mL)	0,04	0,852
MCP-1 (pg/ml)	0,02	0,926
TNF-α (pg/ml)	0,05	0,926
Factores endoteliales		
ICAM-1 (ng/ml)	0,405	0,045
VCAM-1 (ng/ml)	-0,20	0,345
VEGF (pg/ml)	-0,19	0,366
PAI-1 (ng/ml)	0,11	0,598

ICAM-1: Molécula de adhesión intercelular; IL: interleuquinas; MCP-1: Proteína quimiotáctica de monocitos 1; PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno 1; TNF-α: Factor de necrosis tumoral α; VCAM-1: molécula de adhesión celular vascular; VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular.

Discusión

Discusión

El concepto de SM es de utilidad clínica para identificar sujetos con mayor RCV, pero engloba una población muy heterogénea con diferente RCV real (298,299,302,307,308). Por ello, es necesario desarrollar herramientas clínicas que permitan identificar con mejor precisión sujetos con SM y elevado riesgo de presentar ECV clínica.

En este contexto, la documentación de ECV subclínica es de gran utilidad dado que permite identificar individuos en los que el proceso aterosclerótico ya muestra desarrollo estructural como nexo y paso intermedio entre los factores patogénicos de RCV presentes en el SM y la aparición de una fisiopatología clínica (82,84,86,311,313,314). Así, y de acuerdo con estudios previos, en nuestra cohorte de sujetos con SM se ha empleado como principales parámetros de aterosclerosis subclínica la documentación de GIMc elevado ($> 0,9$ mm) y/o de placa carotídea, mediante ecografía vascular 2D (86,316,323), añadiéndose además la determinación de volumen de placa carotídea mediante ecografía vascular 3D en aquellos sujetos con enfermedad carotídea subclínica documentada por ecografía 2D, para así poder establecer asociaciones entre la severidad de la enfermedad subclínica y el perfil molecular analizado.

No obstante, la identificación de lesión CV subclínica requiere una infraestructura y personal altamente especializado, por lo que la identificación de biomarcadores plasmáticos asociados con ECV subclínica aplicables de manera rutinaria podría ser de gran utilidad clínica y coste-eficiente. En este sentido, el presente estudio aporta datos relevantes que podrían ayudar a optimizar la estratificación de RCV en sujetos asintomáticos con criterios clínicos de SM.

Es de destacar que la población estudiada incluyó sujetos con SM no fumadores y con una edad media de 48 años. El hecho de excluir sujetos fumadores y limitar la edad de inclusión a sujetos menores de 60 años, hace que nuestra cohorte de sujetos con SM sea más homogénea, eliminando los principales determinantes de aterosclerosis no relacionados con el mecanismo de la resistencia a la insulina, como son el tabaquismo y la edad avanzada.

A pesar de esta edad relativamente joven, se detectó alta prevalencia de enfermedad aterosclerótica subclínica precoz y, por tanto, los bio-marcadores empleados resultan de especial interés en la evaluación precoz del RCV de sujetos con SM.

Implicaciones de la presencia de síndrome metabólico

Componentes de SM.

El perímetro abdominal elevado y la PA elevada fueron los componentes más frecuentes. El aumento de perímetro abdominal es criterio principal de SM (298,299) y uno de los factores más importantes en el desarrollo de ECV por el papel patogénico de la grasa visceral o central en el proceso inflamatorio arteriosclerótico (126,130,326). En este sentido, se estima que solo con modificar la dieta, podría reducirse la mortalidad por ECV (41,130,131).

En los parámetros relacionados con disglucosis, se observó que hasta el 54,23% de los sujetos con SM presentaba criterios de prediabetes, indicativos de resistencia insulínica, uno de los pilares fundamentales en la fisiopatología del SM (299,327).

ECV subclínica.

La aterosclerosis carotídea subclínica y la aterosclerosis coronaria subclínica fueron los marcadores que más se relacionaron con el SM.

Respecto a la afectación de las arterias carótidas, los valores promedio del GIMc fueron significativamente superiores en sujetos con SM, con asociación significativa entre el GIMc patológico ($>0,9\text{mm}$) y la presencia de SM (OR=7,52). En el estudio de las arterias coronarias también presentaron medias superiores de calcificación coronaria los sujetos con SM.

Además, la presencia de HVI también fue superior en los sujetos con SM, puesto que ninguno de los sujetos sin SM mostró HVI. La escasa presencia de HVI en nuestros sujetos podría explicarse porque la HVI es un marcador menos precoz de daño cardiovascular.

Perfil molecular

Factores endoteliales

Las concentraciones plasmáticas de **ICAM-1** y **VCAM-1** fueron significativamente superiores en sujetos con SM en consonancia con numerosos estudios previos en los que se ha relacionado DM o dislipemia aterogénica con aumento significativo de los niveles plasmáticos de ICAM-1 y VCAM-1 (328–330).

También documentamos niveles elevados de **PAI-1 en los sujetos con SM**. Está bien documentada la asociación entre niveles elevados de PAI-1 y SM, de forma que incluso algunos autores lo consideran un componente del SM (331,332). El incremento de PAI-1 se asocia con FRCV como la obesidad y la DM (168,295,327,331,332). La pérdida de peso y el ejercicio pueden reducir los niveles circulantes de PAI-1 en estos sujetos (333,334). La resistencia insulínica desempeña un papel doble sobre el PAI-1. Por un lado, los niveles elevados de insulina tienen efecto directo sobre la expresión de PAI-1 (295,331), por otro lado el aumento de TG, niveles bajos de HDL y concentraciones elevadas de cLDL y Lp(a), relacionados con la hiperinsulinemia, también van a tener como resultado la elevación de los niveles de PAI-1 (294,296,335). Esta doble acción hará inclinar la balanza hemostática hacia el lado de la trombosis (331,335,336). La expresión de PAI-1 está influenciada por múltiples moléculas, los estrógenos, óxido nítrico, y factores natriuréticos, también fármacos como las estatinas e IECAS pueden disminuir los niveles de PAI-1 (335,337).

En la correlación con las escalas de predicción de RCV a 10 y 30 años, las concentraciones plasmáticas de ICAM-1, VCAM-1 y PAI-1 fueron las que mostraron una significación estadísticamente positiva.

Adipocitocinas.

Nuestra población de sujetos con SM presentó concentraciones plasmáticas disminuidas de **omentina**, asociándose significativamente con mayor RCV estimado según la escala ASCVD.

Existen pocos estudios que valoren la utilidad clínica de los niveles de omentina en sujetos con SM. Mientras que Kilic DC y col. no encontraron diferencias en los niveles de omentina entre los pacientes con SM no diabéticos y pacientes controles (338), el estudio de Jiala I y col. sí mostraron disminuida la concentración de omentina en pacientes con SM (339)

La omentina tiene acciones fisiológicas tanto metabólicas como cardiovasculares. Su concentración disminuye en sujetos obesos, con sobrepeso y con diabetes mellitus tipo 2 (182,188,340). Este hallazgo se relaciona con los niveles elevados de insulina de estos sujetos, que pueden influir negativamente en la secreción de la omentina (191,340). En otros trabajos se ha estudiado específicamente los niveles de omentina en pacientes diabéticos, observándose concentraciones bajas de omentina en pacientes con DM tipo 1 y tipo 2, lo que demuestra así el papel de la omentina en la resistencia a la insulina (340,341). La fosforilación de la AKT y la activación de AMPK por la omentina son pasos muy importantes para la captación de glucosa por los miocitos, reducir la gluconeogénesis en los hepatocitos, inhibir la lipogénesis en el adipocito, e inhibir a las enzimas involucradas en la síntesis del colesterol y ácidos grasos (182,186). Como resultado, la omentina tiene un efecto positivo en la disminución de la resistencia a la insulina y en la disminución de síntesis de triglicéridos y colesterol (190,196,198,341). Además, diversas observaciones han mostrado que cuando los sujetos pierden peso hay un aumento en los niveles de omentina (182,188), así como una relación positiva entre la utilización de fármacos sensibilizadores a la insulina y el aumento de los niveles plasmáticos de omentina (182,340).

Además, diversos estudios han demostrado una asociación entre la disminución de los niveles de omentina y la ECV, especialmente con la arterioesclerosis coronaria (198,342). Se ha sugerido que esta relación se debe a que, en

condiciones fisiológicas, la omentina ejerce en las células endoteliales una acción vasodilatadora y supresora de la expresión de ICAM-1, disminuyendo la quimiotaxis de neutrófilos y monocitos (343), inhibiendo o retrasando así, el comienzo del proceso aterosclerótico. De esta manera, la disminución de la concentración de omentina parece estar implicada en el desarrollo de enfermedad coronaria, correlacionándose los niveles bajos de omentina con una disminución de la vasodilatación coronaria dependiente de la sintasa de óxido nítrico endotelial, disfunción de la actividad de la insulina e inflamación (344). De hecho, se ha relacionado niveles bajos de omentina con una mayor prevalencia de EC (188,198,199), de tal forma que se propone a la omentina como un nuevo marcador para la EC (198).

Respecto al resto de adipocitocinas y hormonas metabólicas estudiadas (**adiponectina, adiposina, ghrelina, leptina, resistina, y visfatina**), no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre sujetos con SM y sujetos sin SM, a pesar de que la alteración de alguna de estas moléculas se haya asociado con FRCV tradicionales (145,167,208,327,345,346). En nuestra cohorte de sujetos hay pocos sujetos con DM aunque si hay un número importante de sujetos con glucemia basal alterada. Sabemos que algunas adipocitocinas como la leptina están fuerte relacionadas con la resistencia insulínica (153,155), lo mismo ocurre con la resistina (165,167) y la visfatina (175,178). Es posible que la omentina sea más sensible ante la presencia de disfunción metabólica precoz como en la prediabetes o por el contrario su disminución se vea más afectada por otros componentes del SM (182,187,347).

Citocinas inflamatorias

El hecho de que ninguno de los parámetros inflamatorios estudiados presentara diferencias estadísticamente significativas en los sujetos con SM frente a sujetos sin SM podría explicarse por el papel menos claro de dichos parámetros en el desarrollo de la resistencia insulínica y el resto de componentes fisiopatológicos del SM.

Implicaciones de la presencia de lesión aterosclerótica carotídea subclínica

Componentes de SM

La obesidad abdominal se asoció con GIMc aumentado ($> 0,9$ mm), con una correlación positiva entre los valores de perímetro abdominal y los valores de GIMc. El sobrepeso y la obesidad se asocian con un deterioro en la integridad del sistema arterial, influyendo en la menor elasticidad de las arterias. Otros estudios han relacionado también el aumento de peso con un mayor GIMc (130,314) y parece que el estado inflamatorio asociado a la obesidad central tendría un papel relevante en el daño vascular (41,122,123).

Como en otros estudios, encontramos relación entre aumento del GIMc y los valores de **PA** sistólica (86,348–350), de **cLDL** (53,351,352), y de **triglicéridos** (353,354), y disminución en los valores de **cHDL** (85,116,117,352,355).

También, observamos una asociación estadísticamente significativa entre los niveles elevados del índice **HOMA** (marcador de resistencia insulínica) y GIMc elevado. Este hallazgo refuerza la importancia de la insulino-resistencia en el desarrollo de aterosclerosis (93,110,319). Mientras que los niveles elevados de **glucemia e insulina basales** (aunque fueron superiores en los sujetos con GIMc aumentado) no mostraron diferencias estadísticamente significativas, los valores de HbA1c elevados sí se asociaron con GIMc alterado. Este hecho resalta el valor de los niveles de **HbA1c** al aportar información retrospectiva (adicional al valor aislado de glucemia basal) del comportamiento glucémico en las últimas 4-8 semanas. Mientras que es incuestionable el papel de la DM en el desarrollo de ECV (con casi el doble de riesgo de presentar ECV (47,50,106) y con estudios que relacionan la DM con aumento del GIMc (108,356,357), también se conoce que la prediabetes aumenta el riesgo de complicaciones macrovasculares (49). En este sentido, hay que resaltar que el 50% de nuestra población presentaba datos de prediabetes (ya fuera por glucemia basal alterada y/o niveles de HbA1c entre 5,7-6,5%) y que estos estados prediabéticos, detectados fundamentalmente mediante la elevación de HbA1, son suficientes para iniciar el desarrollo de aterosclerosis, reflejado en un aumento del GIMc.

Perfil molecular

Factores endoteliales.

Las concentraciones plasmáticas de **ICAM-1** y **VCAM-1** se correlacionaron de forma positiva y estadísticamente significativa con el valor del GIMc medido por ecografía 2D.

Estas moléculas de adhesión celular son los principales factores endoteliales solubles implicados en la fisiopatología de la enfermedad aterosclerótica descritos en la literatura (269,358,359). Se trata de formas solubles circulantes de moléculas homónimas que se expresan de manera constitutiva o inducible sobre la superficie de diferentes tipos celulares para facilitar la adhesión y migración de leucocitos con la ayuda de las integrinas LFA-1 y VLA-4. Estas moléculas están implicadas en el reclutamiento de leucocitos y en la migración transendotelial al subendotelio (360), uno de los primeros pasos en el desarrollo de la aterosclerosis. En concreto, la VCAM-1 media la adhesión de linfocitos y monocitos en el endotelio vascular (269), en un proceso mediado también por otras citoquinas inflamatorias como son el TNF- α , IL-1 β e IL-4 (272,273). Por su parte, la ICAM-1 también interviene en el reclutamiento de leucocitos, granulocitos y macrófagos, y parece tener una retroalimentación positiva manteniendo un ambiente proinflamatorio (266,269,361). La activación de ICAM-1 también es inducida por citoquinas inflamatorias como TNF- α e IL-1 β , y es expresada en el endotelio, macrófagos y linfocitos (265–267,361). Así pues, las concentraciones plasmáticas elevadas de ICAM-1 y VCAM-1 se consideran una evidencia clínica de inflamación de la pared vascular y de la progresión de numerosas entidades clínicas, incluida la enfermedad aterosclerótica y la progresión de aterosclerosis (269,358,359), la aparición de manifestaciones clínicas en pacientes con SM (329), la resistencia a la insulina, la enfermedad coronaria e incluso con la mortalidad CV (266,362,363). Así pues, se han visto concentraciones elevadas en el endotelio de sujetos con enfermedades inflamatorias (266,364,365), presumiblemente por del desprendimiento o rotura proteolítica de las células endoteliales (366), aunque el mecanismo no está del todo claro.

En un estudio prospectivo a 6 años de 855 sujetos con aterosclerosis carotídea, se identificaron las moléculas ICAM-1 y VCAM-1 como predictores fuertes e independientes de mortalidad cardiovascular y mortalidad todas las causas (269). En un estudio de pacientes con IAM previo se observan concentraciones superiores de VCAM-1 en los pacientes con IAM y fue un indicador predictivo de riesgo de muerte durante el seguimiento de estos pacientes (367).

La bibliografía demuestra una relación entre ICAM-1 y VCAM-1 en el proceso de la aterosclerosis y se han observado consistentemente dentro de la placa aterosclerótica (269,368). También varios estudios correlacionan específicamente la aterosclerosis coronaria subclínica medida por el GIMc con niveles elevados de VCAM-1 e ICAM-1 (269,358).

Otros estudios han relacionado las concentraciones plasmáticas de VCAM-1 e ICAM-1 como marcadores moleculares de aterosclerosis y predictores de enfermedad coronaria, aunque con resultados contradictorios. En los valores de VCAM-1 no han encontrado una relación significativa con el aumento del GIMc, ni la incidencia de EC. Sin embargo, valores elevados de ICAM-1 sí se relacionaron significativamente con aumento del GIMc y la incidencia de EC, por tanto concluyeron que ICAM-1 pueden servir como marcador molecular de aterosclerosis y predictores de EC (268,359). La fuerte expresión de ICAM-1 se ha asociado con lesiones ateroscleróticas (268,358,363). Estos resultados refuerzan la incuestionable participación e implicación de la ICAM-1 en el desarrollo de la lesión vascular aterosclerótica desde estadios precoces.

No obstante, apenas hay datos acerca de la utilidad de estas moléculas como marcadores de riesgo en individuos con SM y su relación con la ECV subclínica (329) por lo que los hallazgos de nuestro estudio alertan de forma casi pionera sobre el valor clínico de ICAM-1 y VCAM-1 en el diagnóstico precoz de lesión orgánica subclínica en un grupo de sujetos (asintomáticos, con criterios clínicos de SM y no fumadores) donde no se ha estudiado específicamente hasta la fecha.

En nuestro estudio también se observaron unas concentraciones plasmáticas mayores de **PAI-1** en los sujetos con lesión aterosclerótica carotídea subclínica respecto a aquellos sujetos que no mostraron lesión, si bien en este caso dichas concentraciones plasmáticas no se correlacionaron de forma estadísticamente significativa con el valor del GIMc.

Hay diversos factores, entre los que se encuentran parámetros inflamatorios, que aumentan la síntesis de PAI-1, como son el TNF- α , IL-6, IL-8, PCR, también VEGF, glucosa, insulina, cLDL, TG, angiotensina y aldosterona (295,335,336). Al igual que VCAM-1 e ICAM-1, PAI-1 también tiene un papel fundamental en la inflamación y estimula la migración de monocitos, macrófagos, neutrófilos y linfocitos (369,370). Se ha visto un aumento de PAI-1 en las proximidades de las placas de ateroma y niveles elevados confieren a la placa gran contenido fibrótico, por lo que contribuye a que la placa sea más vulnerable a la ruptura (371–373). Así pues, PAI-1 se asocia con complicaciones trombóticas en caso de ruptura de la placa (370,371), exacerba la aterotrombosis por su efecto sobre el sistema fibrinolítico (336,372), y actúa inhibiendo la resolución del trombo al inhibir al factor activador del plasminógeno (336).

En sujetos sin FRCV, es decir, sin hipertensión, diabetes o dislipemia, y no fumadores, se han observado concentraciones bajas de PAI-1, así como de otros biomarcadores como PCR u homocisteína. Tener, por tanto, niveles óptimos de estos marcadores se asocia con un menor riesgo de tener enfermedad aterosclerótica subclínica (374). Por el contrario, en pacientes diabéticos las concentraciones elevadas de PAI-1 son un marcador de aterosclerosis precoz, incluso en la población joven se ha observado un aumento significativo del GIMc en edades tempranas (375). En un estudio prospectivo de 581 pacientes con patología de arterias coronarias se relacionó el aumento de PAI-1 en estos pacientes con una mayor incidencia de muerte por SCA o muerte por todas las causas (376). También se asocia a recurrencia del ictus, en pacientes con ictus previo y enfermedad aterosclerótica intracraneal establecida (377).

Como ocurre con ICAM-1 y VCAM-1, apenas está descrita la asociación entre PAI-1 y ECV subclínica en sujetos no fumadores con SM. Por ello, nuestros datos aportan una evidencia novedosa sobre este marcador como posible indicador de un perfil de mayor RCV en SM, al demostrar su estrecha asociación con enfermedad carotídea subclínica en sujetos con SM. La ausencia de una correlación estadísticamente significativa entre los niveles de PAI-1 y valores del GIMc, nos hace pensar que la asociación entre el daño aterosclerótico subclínico es menos intensa que con ICAM-1 y VCAM-1.

Respecto a las concentraciones plasmáticas de **VEGF** no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los sujetos con GIMc normal y los sujetos con un GIMc aumentado, ni tampoco se observó correlación entre las concentraciones plasmáticas y el valor del GIMc.

VEFG también se relaciona con la inflamación vascular, remodelado vascular e infiltración de macrófagos en la íntima, por lo tanto ejerce un papel importante en el desarrollo de lesiones ateroscleróticas (286). Aunque parece tener una relación estrecha con la aterosclerosis de arterias coronarias (378), y en pacientes con síndrome metabólico se ha encontrado una relación significativa entre niveles de VEGF y la presencia de GIMc (379), en varones, se ha observado una correlación débil entre VEGF y la presencia de GIMc, que deja de ser significativa cuando se ajusta a factores de riesgo como la edad (380). En otros estudios parece difícil hacer una asociación directa entre VEGF y la presencia de aumento de GIMc, por lo que el papel del VEGF está aún por dilucidar.

Adipocitocinas.

En nuestro estudio no encontramos asociación entre niveles de adipocitocinas y la presencia de lesión aterosclerótica carotídea subclínica, determinada mediante la medida del GIMc y/o presencia de placa.

En relación a la **omentina**, si bien hemos visto que la disminución en sus concentraciones plasmáticas correlaciona con un mayor RCV estimado a 10 años, cuando se determinaron sus concentraciones plasmáticas en los sujetos con GIMc patológico, no se observaron diferencias estadísticamente significativas respecto a los sujetos sin lesión aterosclerótica. El papel de la omentina en la aparición de un aumento del GIMc es controvertido. Mientras que algunos estudios relacionan la asociación entre niveles bajos de omentina y aterosclerosis carotídea medido mediante GIMc (381,382), otros estudios no encuentran asociación significativa (383,384).

Tampoco se observaron niveles disminuidos de **adiponectina** en sujetos con GIMc aumentado, aunque otras observaciones sí parecen mostrar que tener niveles disminuidos de adiponectina puede estar en relación con la presencia de enfermedad aterosclerótica (141,143,347,385,386).

Igualmente pasó con la **adipsina** cuyo papel en el desarrollo de arteriosclerosis es controvertido, con apenas estudios que relacionen la adipsina y el aumento del GIMc y el RCV (387).

Del mismo modo, los niveles de **ghrelina, leptina, resistina y visfatina** no se asociaron con aumento del GIMc.

Dado que ninguna de las adipocitocinas evaluadas en nuestra serie mostró relación significativa con la enfermedad CV subclínica, se podría sugerir que las adipocitocinas en general parecen mostrar menor capacidad de identificar daño aterosclerótico precoz con respecto a los factores relacionados con disfunción endotelial. Una explicación podría ser que los niveles plasmáticos de adipocitocinas están más relacionados con la presencia de factores de RCV que con el desarrollo y la progresión de la aterosclerosis (182,327). De esta manera, nuestros datos aportan una visión diferente remarcando el papel protagonista de los factores endoteliales (ICAM-1, VCAM-1 y PAI-1) como los marcadores más precoces de enfermedad aterosclerótica, por encima de otras moléculas también implicadas como las adipocitocinas.

Citocinas inflamatorias

En nuestro estudio no se observó ninguna diferencia significativa entre los marcadores de inflamación y la presencia de aumento de GIMc. Quizá una de las explicaciones -como algunos estudios han observado- es que los niveles de citocinas inflamatorias solo están significativamente elevados en aterosclerosis avanzada y no en aterosclerosis temprana (388,389). La mayoría de nuestros sujetos estudiados fueron valorados en fases precoces de la enfermedad aterosclerótica y por tanto este puede ser el motivo por el cual no se hayan encontrado elevaciones significativas en las citocinas inflamatorias.

Perfil molecular y volumen de placa aterosclerótica carotídea

Un parámetro novedoso aportado en nuestro estudio es el empleo de la estimación de volumen de placa mediante ultrasonido vascular tridimensional 3DVUS. Los avances en técnicas de imagen han aportado el 3DVUS, de gran ayuda en la evaluación del volumen de placa carotídea, grado de estenosis, y morfología de la placa (390). Su incorporación nos permite obtener datos directos sobre el volumen y área, con mayor fiabilidad y sensibilidad que los métodos de ultrasonidos convencionales (322), así como una mayor detección de las placas pequeñas, muy características de la aterosclerosis temprana (391). Por lo tanto, esta técnica se propone como un método preciso y reproducible para la detección y cuantificación de la carga real de aterosclerosis (312,391) y la incorporación del volumen de placa en el estudio de la aterosclerosis carotídea es especialmente importante porque se considera un factor fuertemente predictivo de eventos cardiovasculares (315).

En la mayoría de sujetos con documentación por ultrasonido bidimensional de lesión carotídea (aumento del GIMc y/o presencia de placa) se completó el estudio mediante técnicas avanzadas de imagen, como la ecografía carotídea 3DVUS, encontrándose una correlación positiva entre las concentraciones plasmáticas de ICAM-1 y el volumen de placa.

Dado que la asociación de ICAM- 1 con daño aterosclerótico se vio reforzada por su correlación con el volumen de aterosclerosis carotídea por ecocardiografía

3D, esto parece indicar que esta molécula está fuertemente asociada con la aterosclerosis precoz. Además, esta asociación presenta aún más valor considerando que el volumen de placa por ecografía vascular 3D se propone como un método preciso y reproducible para la detección y cuantificación de la carga real de aterosclerosis (312,391).

Limitaciones

La principal limitación de nuestro trabajo es que se trata de un estudio observacional con un número bajo de sujetos incluidos y una distribución asimétrica por sexos.

En definitiva, nuestro estudio aporta valiosa información sobre el valor clínico de un panel molecular sencillo de biomarcadores plasmáticos (especialmente ICAM-1, pero también VCAM-1 y PAI-1) en la identificación temprana de sujetos asintomáticos, no fumadores y jóvenes (por debajo de 50 años) con SM y presencia de enfermedad aterosclerótica subclínica, cuyo riesgo de desarrollar eventos cardiovasculares está significativamente elevado y que precisan por tanto implementar medidas de prevención primaria más efectivas.

Conclusiones

Conclusiones

1. Los sujetos con SM presentan una mayor prevalencia de lesión cardiovascular subclínica, específicamente aterosclerosis carotídea y calcificación coronaria.
2. Las concentraciones plasmáticas elevadas de ICAM-1, VCAM-1 y PAI-1, (moléculas relacionadas con la disfunción endotelial) y disminuidas de omentina (molécula relacionada disfunción adipocitaria) se relacionan con la presencia de SM.
3. Las concentraciones plasmáticas de ICAM-1, VCAM-1 y PAI-1 muestran una correlación positiva con el RVC estimado mediante la escala ASCVD (estimación a 10 años). Por su parte, la omentina muestra una correlación negativa con el RCV estimado a 10 años.
4. Las concentraciones plasmáticas de ICAM-1 y VCAM-1 se correlacionan con la presencia de lesión aterosclerótica carotídea subclínica, evaluada mediante ecografía carotídea subclínica 2D.
5. Las concentraciones plasmáticas de ICAM-1 presentan además una correlación positiva con la severidad de dicha enfermedad aterosclerótica, evaluada mediante ecografía 3D.

Conclusión Final

La elevación de las concentraciones plasmáticas de ICAM-1 y VCAM-1 se asocia a la presencia de lesión aterosclerótica carotídea subclínica, de modo que constituyen un punto óptimo de partida para diseñar un perfil sérico molecular sencillo y específico que permita alertar sobre el riesgo de aterosclerosis subclínica en individuos con SM, identificando aquellos sujetos con mayor riesgo de presentar eventos CV y en los que es preciso implementar medidas de prevención CV primaria más efectivas con objetivos de control más ambiciosos.

Bibliografía

BIBLIOGRAFÍA

1. Organización Mundial de la Salud. Enfermedades cardiovasculares: ¿Qué son las enfermedades cardiovasculares? Who [Internet]. 2016;1(1):4.
2. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J*. 2016;37(29):2315–81.
3. OMS. Las 10 principales causas de defunción. Cent Prensa OMS. 2018.
4. Townsend N, Nichols M, Scarborough P, et al. Cardiovascular disease in Europe - Epidemiological update 2016. *Eur Heart J*. 2016;36(40):2696–705.
5. Instituto Nacional de Estadística. Defunciones según la causa de muerte, año 2016. INE [Internet]. 2017;1:8.
6. Dawber TR, Meadors GF, Moore FE, et al. Epidemiological approaches to heart disease: the Framingham Study. *Am J Public Health*. 1951 Mar;41(3):279–81.
7. Kannel WB, Dawber TR, Kagan A, et al. Factors of risk in the development of coronary heart disease--six year follow-up experience. The Framingham Study. *Ann Intern Med*. 1961;55(1):33–50.
8. Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: The SCORE project. *Eur Heart J*. 2003;24(11):987–1003.
9. Wald NJ, Law MR. A strategy to reduce cardiovascular disease by more than 80%. *Br Med J*. 2003 Jun 28;326(7404):1419–23.
10. Perk J, De Backer G, Gohlke H, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). *Eur Heart J*. 2012 Jul 13;33(13):1635–701.
11. Jousilahti P, Vartiainen E, Tuomilehto J, et al. Sex, age, cardiovascular risk factors, and coronary heart disease: A prospective follow-up study of 14 786 middle-aged men and women in Finland. *Circulation*. 1999 Mar 9;99(9):1165–72.
12. Bairey Merz CN, Andersen H, Sprague E, et al. Knowledge, Attitudes, and Beliefs Regarding Cardiovascular Disease in Women: The Women's Heart Alliance. *J Am Coll Cardiol*. 2017 Jul 11;70(2):123–32.
13. Maas AHEM, Van Der Schouw YT, Regitz-Zagrosek V, et al. Red alert for women's heart: The urgent need for more research and knowledge on cardiovascular disease in women. *Eur Heart J*. 2011 Jun;32(11):1362–8.
14. Garcia M, Mulvagh SL, Merz CNB, et al. Cardiovascular disease in women: Clinical perspectives. *Circ Res*. 2016 Apr 15;118(8):1273–93.
15. Morgan CL, Jenkins-Jones S, Currie CJ, et al. Evaluation of adverse outcome in young women with polycystic ovary syndrome versus matched, reference controls: A retrospective, observational study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Sep;97(9):3251–60.

16. Engeland A, Bjørge T, Daltveit AK, et al. Risk of diabetes after gestational diabetes and preeclampsia. A registry-based study of 230,000 women in Norway. *Eur J Epidemiol*. 2011 Feb;26(2):157–63.
17. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, et al. Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2009;373(9677):1773–9.
18. Furusyo N, Ai M, Okazaki M, et al. Serum cholesterol and triglyceride reference ranges of twenty lipoprotein subclasses for healthy Japanese men and women. *Atherosclerosis*. 2013 Dec;231(2):238–45.
19. El Khoudary SR, Hutchins PM, Matthews KA, et al. Cholesterol efflux capacity and subclasses of HDL particles in healthy women transitioning through menopause. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016 Sep 1;101(9):3419–28.
20. Heit JA, Spencer FA, White RH, et al. The epidemiology of venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis*. 2016 Jan 1;41(1):3–14.
21. Kamel H, Navi BB, Sriram N, et al. Risk of a thrombotic event after the 6-week postpartum period. *N Engl J Med*. 2014;370(14):1307–15.
22. Banerjee A. A review of family history of cardiovascular disease: Risk factor and research tool. *Int J Clin Pract*. 2012 Jun;66(6):536–43.
23. Bachmann JM, Willis BL, Ayers CR, et al. Association between family history and coronary heart disease death across long-term follow-up in men: The cooper center longitudinal study. *Circulation*. 2012 Jun 26;125(25):3092–8.
24. Goff DC, Lloyd-Jones DM, Bennett G, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: A report of the American college of cardiology/American heart association task force on practice guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2014 Jul 1;63(25 PART B):2935–59.
25. Mega JL, Stitzel NO, Smith JG, et al. Genetic risk, coronary heart disease events, and the clinical benefit of statin therapy: An analysis of primary and secondary prevention trials. *Lancet*. 2015 Jun 6;385(9984):2264–71.
26. Singleton A, Erby LH, Foisie K V., et al. Informed choice in direct-to-consumer genetic testing (DTCGT) websites: A content analysis of benefits, risks, and limitations. *J Genet Couns*. 2012 Jun;21(3):433–9.
27. Guay SP, Brisson D, Lamarche B, et al. DNA methylation variations at CETP and LPL gene promoter loci: New molecular biomarkers associated with blood lipid profile variability. *Atherosclerosis*. 2013 Jun;228(2):413–20.
28. Baccarelli A, Wright R, Bollati V, et al. Ischemic heart disease and stroke in relation to blood DNA methylation. *Epidemiology*. 2010 Nov;21(6):819–28.
29. Yusuf PS, Hawken S, Ôunpuu S, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): Case-control study. *Lancet*. 2004 Sep 11;364(9438):937–52.
30. Stringhini S, Sabia S, Shipley M, et al. Association of socioeconomic position with health behaviors and mortality. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2010 Mar 24;303(12):1159–66.

31. Chandola T, Britton A, Brunner E, et al. Work stress and coronary heart disease: what are the mechanisms? *Eur Heart J*. 2008;29(5):640–8.
32. Lichtman JH, Froelicher ES, Blumenthal JA, et al. Depression as a risk factor for poor prognosis among patients with acute coronary syndrome: Systematic review and recommendations: A scientific statement from the American heart association. *Circulation*. 2014 Mar 25;129(12):1350–69.
33. Doll R, Peto R, Boreham J, et al. Mortality in relation to smoking: 50 Years' observations on male British doctors. *Br Med J*. 2004 Jun 26;328(7455):1519–28.
34. Prescott E, Hippe M, Schnohr P, et al. Smoking and risk of myocardial infarction in women and men: Longitudinal population study. *Br Med J*. 1998 Apr 4;316(7137):1043–7.
35. Kotseva K, Wood D, De Backer G, et al. EUROASPIRE III: A survey on the lifestyle, risk factors and use of cardioprotective drug therapies in coronary patients from 22 European countries. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2009;16(2):121–37.
36. Mucha L, Stephenson J, Morandi N, et al. Meta-analysis of disease risk associated with smoking, by gender and intensity of smoking. *Gend Med*. 2006 Dec;3(4):279–91.
37. Mozaffarian D, Afshin A, Benowitz NL, et al. Population approaches to improve diet, physical activity, and smoking habits: A scientific statement from the American heart association. *Circulation*. 2012 Sep 18;126(12):1514–63.
38. Lee J, Cooke JP, et al. The role of nicotine in the pathogenesis of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2011 Apr;215(2):281–3.
39. Bischoff SC, Boirie Y, Cederholm T, et al. Towards a multidisciplinary approach to understand and manage obesity and related diseases. *Clin Nutr*. 2017 Aug 1;36(4):917–38.
40. De Gonzalez AB, Hartge P, Cerhan JR, et al. Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults. *N Engl J Med*. 2010 Dec 2;363(23):2211–9.
41. Di Angelantonio E, Bhupathiraju SN, Wormser D, et al. Body-mass index and all-cause mortality: individual-participant-data meta-analysis of 239 prospective studies in four continents. *Lancet*. 2016 Aug 20;388(10046):776–86.
42. Wormser D, Kaptoge S, Di Angelantonio E, et al. Separate and combined associations of body-mass index and abdominal adiposity with cardiovascular disease: Collaborative analysis of 58 prospective studies. *Lancet*. 2011;377(9771):1085–95.
43. Williams B, Mancia G, Spiering W, et al. 2018 practice guidelines for the management of arterial hypertension of the European society of cardiology and the European society of hypertension ESC/ESH task force for the management of arterial hypertension. *J Hypertens*. 2018;36(12):2284–309.
44. World Health Organization. A global brief on Hypertension - World Health Day 2013. *World Heal Organ*. 2013;1–40.
45. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;380(9859):2224–60.

46. World Health Organization. Global Report on Diabetes. Isbn. 2016;1(1):3.
47. Sarwar N, Gao P, Kondapally Seshasai SR, et al. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: A collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet*. 2010;375(9733):2215–22.
48. Tonelli M, Muntner P, Lloyd A, et al. Risk of coronary events in people with chronic kidney disease compared with those with diabetes: A population-level cohort study. *Lancet*. 2012;380(9844):807–14.
49. Rydén L, Grant PJ, Anker SD, et al. ESC guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. *Eur Heart J*. 2013 Oct 14;34(39):3035–87.
50. Orchard TJ, Nathan DM, Zinman B, et al. Association between 7 years of intensive treatment of type 1 diabetes and long-Term mortality. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2015 Jan 6;313(1):45–53.
51. Zinman B, Wanner C, Lachin JM, et al. Empagliflozin, cardiovascular outcomes, and mortality in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2015;373(22):2117–28.
52. Emdin CA, Rahimi K, Neal B, et al. Blood pressure lowering in type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2015 Feb 10;313(6):603–15.
53. Catapano AL, Graham I, De Backer G, et al. 2016 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias. *Eur Heart J*. 2016;37(39):2999–3058.
54. Guallar-Castillón P, Gil-Montero M, León-Muñoz LM, et al. Magnitude and management of hypercholesterolemia in the adult population of Spain, 2008-2010: The ENRICA study. *Rev Esp Cardiol*. 2012;65(6):551–8.
55. Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarenco P, et al. Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: Evidence and guidance for management. *Eur Heart J*. 2011 Jun;32(11):1345–61.
56. Mihaylova B, Emberson J, Blackwell L, et al. The effects of lowering LDL cholesterol with statin therapy in people at low risk of vascular disease: Meta-analysis of individual data from 27 randomised trials. *Lancet*. 2012 Aug 1;380(9841):581–90.
57. Fulcher J, O'Connell R, Voysey M, et al. Efficacy and safety of LDL-lowering therapy among men and women: Meta-analysis of individual data from 174 000 participants in 27 randomised trials. *Lancet*. 2015;385(9976):1397–405.
58. Danesh J, Erqou S, Walker M, et al. The emerging risk factors collaboration: Analysis of individual data on lipid, inflammatory and other markers in over 1.1 million participants in 104 prospective studies of cardiovascular diseases. *Eur J Epidemiol*. 2007;22(12):839–69.
59. Do R, Willer CJ, Schmidt EM, et al. Common variants associated with plasma triglycerides and risk for coronary artery disease. *Nat Genet*. 2013 Nov;45(11):1345–53.
60. Jørgensen AB, Frikke-Schmidt R, West AS, et al. Genetically elevated non-fasting triglycerides and calculated remnant cholesterol as causal risk factors for myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2013 Jun 21;34(24):1826–33.
61. Nordestgaard BG, Varbo A. Triglycerides and cardiovascular disease. *Lancet*. 2014;384(9943):626–35.

62. Hegele RA, Ginsberg HN, Chapman MJ, et al. The polygenic nature of hypertriglyceridaemia: Implications for definition, diagnosis, and management. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014;2(8):655–66.
63. Taylor F, Huffman MD, Macedo AF, et al. Statins for the primary prevention of cardiovascular disease. *Cochrane database Syst Rev.* 2013;(1).
64. Lloyd-Jones DM, Huffman MD, Karmali KN, et al. Estimating Longitudinal Risks and Benefits from Cardiovascular Preventive Therapies among Medicare Patients: The Million Hearts Longitudinal ASCVD Risk Assessment Tool: A Special Report from the American Heart Association and American College of Cardiology. *Circulation.* 2017;135(13):e793–813.
65. Last JM. A dictionary of epidemiology. *Int J Epidemiol.* 1986;15(2):277.
66. Artinian NT, Fletcher GF, Mozaffarian D, et al. Interventions to promote physical activity and dietary lifestyle changes for cardiovascular risk factor reduction in adults: A scientific statement from the American heart association. *Circulation.* 2010;122(4):406–41.
67. Stead LF, Buitrago D, Preciado N, et al. Physician advice for smoking cessation. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;2017(12).
68. Chow CK, Jolly S, Rao-Melacini P, et al. Association of diet, exercise, and smoking modification with risk of early cardiovascular events after acute coronary syndromes. *Circulation.* 2010;121(6):750–8.
69. Cahill K, Lindson-Hawley N, Thomas KH, et al. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;(5).
70. Schwingshackl L, Missbach B, Dias S, et al. Impact of different training modalities on glycaemic control and blood lipids in patients with type 2 diabetes: A systematic review and network meta-analysis. *Diabetologia.* 2014;57(9):1789–97.
71. Tarn DM, Heritage J, Paterniti DA, et al. Physician communication when prescribing new medications. *Arch Intern Med.* 2006;166(17):1855–62.
72. Mamudu HM, Paul TK, Veeranki SP, et al. The effects of coronary artery calcium screening on behavioral modification, risk perception, and medication adherence among asymptomatic adults: A systematic review. *Atherosclerosis.* 2014;236(2):338–50.
73. Gehi A, Haas D, Pipkin S, et al. Depression and medication adherence in outpatients with coronary heart disease: Findings from the heart and soul study. *Arch Intern Med.* 2005;165(21):2508–13.
74. Doshi JA, Zhu J, Lee BY, et al. Impact of a prescription copayment increase on lipid-lowering medication adherence in veterans. *Circulation.* 2009;119(3):390–7.
75. Dzau V, Braunwald E. Resolved and unresolved issues in the prevention and treatment of coronary artery disease: A workshop consensus statement. *Am Heart J.* 1991;121(4 PART 1):1244–63.
76. Dzau VJ, Antman EM, Black HR, et al. The cardiovascular disease continuum validated: Clinical evidence of improved patient outcomes: Part I: Pathophysiology and clinical trial evidence (risk factors through stable coronary artery disease). *Circulation.* 2006;114(25):2850–70.

77. Dzau VJ, Antman EM, Black HR, et al. The cardiovascular disease continuum validated: Clinical evidence of improved patient outcomes: Part II: Clinical trial evidence (acute coronary syndromes through renal disease) and future directions. *Circulation*. 2006;114(25):2871–91.
78. O'Rourke MF, Safar ME, Dzau V. The Cardiovascular Continuum extended: Aging effects on the aorta and microvasculature. *Vasc Med*. 2010;15(6):461–8.
79. Knoops KTB, De Groot LCPGM, Kromhout D, et al. Mediterranean diet, lifestyle factors, and 10-year mortality in elderly European men and women: The HALE project. *J Am Med Assoc*. 2004;292(12):1433–9.
80. Haskell WL, Alderman EL, Fair JM, et al. Effects of intensive multiple risk factor reduction on coronary atherosclerosis and clinical cardiac events in men and women with coronary artery disease: The Stanford Coronary Risk Intervention Project (SCRIP). *Circulation*. 1994;89(3):975–90.
81. Neal B, MacMahon S, Chapman N, et al. Effects of ACE inhibitors, calcium antagonists, and other blood-pressure-lowering drugs: Results of prospectively designed overviews of randomised trials. *Lancet*. 2000;356(9246):1955–64.
82. Effeo VS, McClendon EE, Rodriguez CJ, et al. Diabetes status modifies the association between carotid intima-media thickness and incident heart failure: The Atherosclerosis Risk in Communities study. *Diabetes Res Clin Pract*. 2017;128:58–66.
83. Khera A V., Cuchel M, De La Llera-Moya M, et al. Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis. *N Engl J Med*. 2011 Jan 13;364(2):127–35.
84. Inaba Y, Chen JA, Bergmann SR. Carotid plaque, compared with carotid intima-media thickness, more accurately predicts coronary artery disease events: A meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2012;220(1):128–33.
85. Mutharasan RK, Thaxton CS, Berry J, et al. HDL efflux capacity, HDL particle size, & high-risk carotid atherosclerosis in a cohort of asymptomatic older adults: The Chicago Healthy Aging Study. *J Lipid Res*. 2017;58(3):600–6.
86. Nezu T, Hosomi N, Aoki S, et al. Carotid Intima-media thickness for atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb*. 2016;23(1):18–31.
87. Lorell BH, Carabello BA. Left ventricular hypertrophy: Pathogenesis, detection, and prognosis. *Circulation*. 2000;102(4):470–9.
88. Stewart MH, Lavie CJ, Shah S, et al. Prognostic Implications of Left Ventricular Hypertrophy. *Prog Cardiovasc Dis*. 2018;61(5–6):446–55.
89. Gorostidi M, Santamaría R, Alcázar R, et al. Documento de la sociedad española de nefrología sobre las guías KDIGO para la evaluación y el tratamiento de la enfermedad renal crónica. *Nefrología*. 2014;34(3):302–16.
90. González AO, de Francisco A, Gayoso P, et al. Prevalence of chronic renal disease in Spain: Results of the EPIRCE study. *Nefrología*. 2010;30(1):78–86.
91. Andrassy KM. Comments on “KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease.” *Kidney Int*. 2013;3(1):5–14.
92. Li H, Horke S, Förstermann U, et al. Vascular oxidative stress, nitric oxide and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2014 Nov 1;237(1):208–19.

93. Vanhoutte PM, Shimokawa H, Feletou M, et al. Endothelial dysfunction and vascular disease – a 30th anniversary update. *Acta Physiol.* 2017 Jan 1;219(1):22–96.
94. Husain K. Inflammation, oxidative stress and renin angiotensin system in atherosclerosis. *World J Biol Chem.* 2015;6(3):209.
95. Van Thiel BS, Van Der Pluijm I, Te Riet L, et al. The renin-angiotensin system and its involvement in vascular disease. *Eur J Pharmacol.* 2015;763:3–14.
96. Madhur MS, Lob HE, McCann LA, et al. Interleukin 17 promotes angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. *Hypertension.* 2010;55(2):500–7.
97. Marvar PJ, Thabet SR, Guzik TJ, et al. Central and peripheral mechanisms of T-lymphocyte activation and vascular inflammation produced by angiotensin II-induced hypertension. *Circ Res.* 2010;107(2):263–70.
98. Cavalcante JL, Lima JAC, Redheuil A, et al. Aortic stiffness: Current understanding and future directions. *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(14):1511–22.
99. Wang D, Warner GM, Yin P, et al. Inhibition of p38 MAPK attenuates renal atrophy and fibrosis in a murine renal artery stenosis model. *Am J Physiol - Ren Physiol.* 2013;304(7):938–47.
100. Paravicini TM, Montezano AC, Yusuf H, et al. Activation of vascular p38MAPK by mechanical stretch is independent of c-Src and NADPH oxidase: Influence of hypertension and angiotensin II. *J Am Soc Hypertens.* 2012;6(3):169–78.
101. Cheng JJ, Wung BS, Chao YJ, et al. Cyclic strain enhances adhesion of monocytes to endothelial cells by increasing intercellular adhesion molecule-1 expression. *Hypertension.* 1996;28(3):386–91.
102. Ramasamy R, Yan SF, Schmidt AM. Receptor for AGE (RAGE): Signaling mechanisms in the pathogenesis of diabetes and its complications. *Ann N Y Acad Sci.* 2011;1243(1):88–102.
103. Soaita I, Yin W, Rubenstein DA. Glycated albumin modifies platelet adhesion and aggregation responses. *Platelets.* 2017 Oct 3;28(7):682–90.
104. Ajjan RA, Gamlen T, Standeven KF, et al. Diabetes is associated with posttranslational modifications in plasminogen resulting in reduced plasmin generation and enzyme-specific activity. *Blood.* 2013;122(1):134–42.
105. Bodiga VL, Eda SR, Bodiga S, et al. Advanced glycation end products: Role in pathology of diabetic cardiomyopathy. *Heart Fail Rev.* 2014;19(1):49–63.
106. Jia G, Hill MA, Sowers JR, et al. Diabetic cardiomyopathy: An update of mechanisms contributing to this clinical entity. *Circ Res.* 2018;122(4):624–38.
107. Forbes JM, Yee LTL, Thallas V, et al. Advanced glycation end product-interventions reduce diabetes-accelerated atherosclerosis. *Diabetes.* 2004;53(7):1813–23.
108. Grauen Larsen H, Marinkovic G, Nilsson PM, et al. High Plasma sRAGE (Soluble Receptor for Advanced Glycation End Products) Is Associated With Slower Carotid Intima-Media Thickness Progression and Lower Risk for First-Time Coronary Events and Mortality. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019;39(5):925–33.

109. Ott C, Jacobs K, Haucke E, et al. Role of advanced glycation end products in cellular signaling. *Redox Biol.* 2014;2(1):411–29.
110. Gimbrone MA, García-Cardeña G. Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circ Res.* 2016 Feb 19;118(4):620–36.
111. Rapp JH, Lespine A, Hamilton RL, et al. Triglyceride-rich lipoproteins isolated by selected-affinity anti- apolipoprotein B immunosorption from human atherosclerotic plaque. *Arterioscler Thromb.* 1994;14(11):1767–74.
112. Zheng XY, Liu L. Remnant-like lipoprotein particles impair endothelial function: Direct and indirect effects on nitric oxide synthase. *J Lipid Res.* 2007;48(8):1673–80.
113. Tabas I, Bornfeldt KE. Macrophage Phenotype and Function in Different Stages of Atherosclerosis. *Circ Res.* 2016 Feb 19;118(4):653–67.
114. Sambola A, Osende J, Hathcock J, et al. Role of risk factors in the modulation of tissue factor activity and blood thrombogenicity. *Circulation.* 2003;107(7):973–7.
115. Kohler HP, Grant PJ. Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2000;342(24):1792–801.
116. Mineo C, Deguchi H, Griffin JH, et al. Endothelial and antithrombotic actions of HDL. *Circ Res.* 2006 Jun;98(11):1352–64.
117. Rosenson RS, Brewer HB, Chapman MJ, et al. HDL measures, particle heterogeneity, proposed nomenclature, and relation to atherosclerotic cardiovascular events. *Clin Chem.* 2011;57(3):392–410.
118. Rohatgi A, Khera A, Berry JD, et al. HDL cholesterol efflux capacity and incident cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2014;371(25):2383–93.
119. Tchernof A, Després JP. Pathophysiology of human visceral obesity: An update. *Physiol Rev.* 2013;93(1):359–404.
120. Choe SS, Huh JY, Hwang IJ, et al. Adipose tissue remodeling: Its role in energy metabolism and metabolic disorders. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2016;7:30.
121. Giordano A, Murano I, Mondini E, et al. Obese adipocytes show ultrastructural features of stressed cells and die of pyroptosis. *J Lipid Res.* 2013;54(9):2423–36.
122. Pasarica M, Sereda OR, Redman LM, et al. Reduced adipose tissue oxygenation in human obesity evidence for rarefaction, macrophage chemotaxis, and inflammation without an angiogenic response. *Diabetes.* 2009 Mar;58(3):718–25.
123. Gealekman O, Guseva N, Hartigan C, et al. Depot-specific differences and insufficient subcutaneous adipose tissue angiogenesis in human obesity. *Circulation.* 2011;123(2):186–94.
124. Mancini SJ, White AD, Bijland S, et al. Activation of AMP-activated protein kinase rapidly suppresses multiple pro-inflammatory pathways in adipocytes including IL-1 receptor-associated kinase-4 phosphorylation. *Mol Cell Endocrinol.* 2017;440:44–56.
125. Khodabandehloo H, Gorgani-Firuzjaee S, Panahi G, et al. Molecular and cellular mechanisms linking inflammation to insulin resistance and β -cell dysfunction. *Transl Res.* 2016;167(1):228–56.
126. Rohla M, Weiss TW. Adipose tissue, inflammation and atherosclerosis. *Clin Lipidol.* 2014;9(1):71–81.

127. Mclaughlin T, Ackerman SE, Shen L, et al. Role of innate and adaptive immunity in obesity-associated metabolic disease. *J Clin Invest*. 2017;127(1):5–13.
128. Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, et al. CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med*. 2009;15(8):914–20.
129. Apostolopoulos V, de Courten MPJ, Stojanovska L, et al. The complex immunological and inflammatory network of adipose tissue in obesity. *Mol Nutr Food Res*. 2016;60(1):43–57.
130. Kardassis D, Schönander M, Sjöström L, et al. Carotid artery remodelling in relation to body fat distribution, inflammation and sustained weight loss in obesity. *J Intern Med*. 2014;275(5):534–43.
131. Nicoletti G, Giugliano G, Pontillo A, et al. Effect of a multidisciplinary program of weight reduction on endothelial functions in obese women. *J Endocrinol Invest*. 2003;26(3):RC5-RC8.
132. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*. 2003;423(6941):762–9.
133. Okada-Iwabu M, Yamauchi T, Iwabu M, et al. A small-molecule AdipoR agonist for type 2 diabetes and short life in obesity. *Nature*. 2013;503(7477):493–9.
134. Kharroubi I, Rasschaert J, Eizirik DL, et al. Expression of adiponectin receptors in pancreatic β cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;312(4):1118–22.
135. Liu Y, Palanivel R, Rai E, et al. Adiponectin stimulates autophagy and reduces oxidative stress to enhance insulin sensitivity during high-fat diet feeding in Mice. *Diabetes*. 2015;64(1):36–48.
136. Maeda N, Shimomura I, Kishida K, et al. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med*. 2002;8(7):731–7.
137. Hong S Bin, Lee JJ, Kim SH, et al. The effects of adiponectin and inflammatory cytokines on diabetic vascular complications in obese and non-obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2016;111:58–65.
138. Li S, Shin HJ, Ding EL, et al. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2009;302(2):179–88.
139. Achari AE, Jain SK. Adiponectin, a therapeutic target for obesity, diabetes, and endothelial dysfunction. *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2017. 18(6):1321.
140. Fisman EZ, Tenenbaum A. Adiponectin: A manifold therapeutic target for metabolic syndrome, diabetes, and coronary disease? *Cardiovasc Diabetol*. 2014;13(1):103.
141. Katsiki N, Mantzoros C, Mikhailidis DP. Adiponectin, lipids and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 2017;28(4):347–54.
142. Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, et al. Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation*. 2003;107(5):671–4.

143. Barseghian A, Gawande D, Bajaj M. Adiponectin and vulnerable atherosclerotic plaques. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(7):761–70.
144. Flier JS, Cook KS, Usher P, et al. Severely impaired adiponin expression in genetic and acquired obesity. *Science*. 1987;237(4813):405–8.
145. Legakis I, Mantzouridis T, Bouboulis G, et al. Reciprocal changes of serum adiponin and visfatin levels in patients with type 2 diabetes after an overnight fast. *Arch Endocrinol Metab*. 2016;60(1):76–8.
146. Lo JC, Ljubicic S, Leibiger B, et al. Adiponin is an adipokine that improves β cell function in diabetes. *Cell*. 2014;158(1):41–53.
147. White RT, Damm D, Hancock N, et al. Human adiponin is identical to complement factor D and is expressed at high levels in adipose tissue. *J Biol Chem*. 1992;267(13):9210–3.
148. Shu CJ, Benoist C, Mathis D, et al. The immune system's involvement in obesity-driven type 2 diabetes. *Semin Immunol*. 2012;24(6):436–42.
149. Lim J, Iyer A, Suen JY, et al. C5aR and C3aR antagonists each inhibit diet-induced obesity, metabolic dysfunction, and adipocyte and macrophage signaling. *FASEB J*. 2013;27(2):822–31.
150. Zhang F, Basinski MB, Beals JM, et al. Crystal structure of the obese protein leptin-E100. *Nature*. 1997;387(6629):206–9.
151. Le Beyec J, Pelletier AL, Arapis K, et al. Overexpression of gastric leptin precedes adipocyte leptin during high-fat diet and is linked to 5HT-containing enterochromaffin cells. *Int J Obes*. 2014;38(10):1357–64.
152. Xue B, Yu Y, Zhang Z, et al. Leptin mediates high-fat diet sensitization of angiotensin II-elicited hypertension by upregulating the brain renin-angiotensin system and inflammation. *Hypertension*. 2016;67(5):970–6.
153. Pandit R, Beerens S, Adan RAH. Role of leptin in energy expenditure: The hypothalamic perspective. *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol*. 2017;312(6):R938–47.
154. Park SH, Ryu SY, Yu WJ, et al. Leptin promotes K ATP channel trafficking by AMPK signaling in pancreatic β -cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(31):12673–8.
155. Park HK, Ahima RS. Physiology of leptin: energy homeostasis, neuroendocrine function and metabolism. *Metabolism*. 2015;64(1):24–34.
156. Beltowski J. Leptin and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2006;189(1):47–60.
157. Caquineau C, Douglas AJ, Leng G. Effects of cholecystokinin in the supraoptic nucleus and paraventricular nucleus are negatively modulated by leptin in 24-h fasted lean male rats. *J Neuroendocrinol*. 2010;22(5):446–52.
158. Dardeno TA, Chou SH, Moon HS, et al. Leptin in human physiology and therapeutics. *Front Neuroendocrinol*. 2010;31(3):377–93.
159. Amitani M, Asakawa A, Amitani H, et al. The role of leptin in the control of insulin-glucose axis. *Front Neurosci*. 2013;7(1):5.

160. Kazumi T, Kawaguchi A, Hirano T, et al. Serum adiponectin is associated with high-density lipoprotein cholesterol, triglycerides, and low-density lipoprotein particle size in young healthy men. *Metabolism*. 2004;53(5):589–93.
161. Wolf G, Hamann A, Han DC, et al. Leptin stimulates proliferation and TGF- β expression in renal glomerular endothelial cells: Potential role in glomerulosclerosis. *Kidney Int*. 1999;56(3):860–72.
162. Allison MB, Myers MG. Connecting leptin signaling to biological function. *J Endocrinol*. 2014;223(1):T25–35.
163. Nakata M, Yada T, Soejima N, et al. Leptin promotes aggregation of human platelets via the long form of its receptor. *Diabetes*. 1999;48(2):426–9.
164. Morgan ES, Wilson E, Melody T, et al. An observational study of haemostatic changes, leptin and soluble endoglin during pregnancy in women with different BMIs. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2017;28(1):50–5.
165. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001;409(6818):307–12.
166. Pang SS, Le YY. Role of resistin in inflammation and inflammation-related diseases. *Cell Mol Immunol*. 2006;3(1):29–34.
167. Benomar Y, Gertler A, De Lacy P, et al. Central resistin overexposure induces insulin resistance through toll-like receptor 4. *Diabetes*. 2013;62(1):102–44.
168. Utzschneider KM, Carr DB, Tong J, et al. Resistin is not associated with insulin sensitivity or the metabolic syndrome in humans. *Diabetologia*. 2005;48(11):2330–3.
169. Norata GD, Ongari M, Garlaschelli K, et al. Plasma resistin levels correlate with determinants of the metabolic syndrome. *Eur J Endocrinol*. 2007;156(2):279–84.
170. Kunnari A, Ukkola O, Päivänsalo M, et al. High plasma resistin level is associated with enhanced highly sensitive C-reactive protein and leukocytes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(7):2755–60.
171. Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML, et al. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation*. 2005;111(7):932–9.
172. Yazıcı D, Yavuz D, Öğünç AV, et al. Serum adipokine levels in type 1 diabetic patients: Association with carotid intima media thickness. *Metab Syndr Relat Disord*. 2012;10(1):26–31.
173. Samal B, Sun Y, Stearns G, et al. Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor. *Mol Cell Biol*. 1994;14(2):1431–7.
174. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, et al. Visfatin: A protein secreted by visceral fat that Mimics the effects of insulin. *Science*. 2005;307(5708):426–30.
175. Brown JEP, Onyango DJ, Ramanjaneya M, et al. Visfatin regulates insulin secretion, insulin receptor signalling and mRNA expression of diabetes-related genes in mouse pancreatic β -cells. *J Mol Endocrinol*. 2010;44(3):171–8.
176. Sethi JK, Vidal-Puig A. Visfatin: The missing link between intra-abdominal obesity and diabetes? *Trends Mol Med*. 2005;11(8):344–7.

177. Hammarstedt A, Pihlajamäki J, Sopasakis VR, et al. Visfatin is an adipokine, but it is not regulated by thiazolidinediones. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(3):1181–4.
178. Chen MP, Chung FM, Chang DM, et al. Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(1):295–9.
179. Varma V, Yao-Borengasser A, Rasouli N, et al. Human visfatin expression: Relationship to insulin sensitivity, intramyocellular lipids, and inflammation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(2):666–72.
180. Liu SW, Qiao S Bin, Yuan JS, et al. Association of plasma visfatin levels with inflammation, atherosclerosis and acute coronary syndromes (ACS) in humans. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009;71(2):202–7.
181. Bessa SS, Hamdy SM, El-Sheikh RG. Serum visfatin as a non-traditional biomarker of endothelial dysfunction in chronic kidney disease: An Egyptian study. *Eur J Intern Med.* 2010;21(6):530–5.
182. Watanabe T, Watanabe-Kominato K, Takahashi Y, et al. Adipose tissue-derived omentin-1 function and regulation. *Compr Physiol.* 2017;7(3):765–81.
183. Yang RZ, Lee MJ, Hu H, et al. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: Possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol - Endocrinol Metab.* 2006;290(6):E1253–61.
184. Muoio DM, Newgard CB. Mechanisms of disease: Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and β -cell failure in type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008;9(3):193–205.
185. Lis I, Pilarski L, Bogdanski P. Omentin a newly discovered adipocytokine in insulin resistance pathogenesis. *Pol Merkur Lek organ Pol Tow Lek.* 2015;39(229):56–60.
186. Hardie DG. Minireview: The AMP-Activated Protein Kinase Cascade: The Key Sensor of Cellular Energy Status. *Endocrinology.* 2003;144(12):5179–83.
187. Auguet T, Quintero Y, Riesco D, et al. New adipokines vaspin and omentin. Circulating levels and gene expression in adipose tissue from morbidly obese women. *BMC Med Genet.* 2011;12(1):60.
188. Zhou JY, Chan L, Zhou SW. Omentin: linking metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Curr Vasc Pharmacol.* 2014;12(1):136–43.
189. Yamawaki H, Kuramoto J, Kameshima S, et al. Omentin, a novel adipocytokine inhibits TNF-induced vascular inflammation in human endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011;408(2):339–43.
190. Watanabe K, Watanabe R, Konii H, et al. Counteractive effects of Omentin-1 against atherogenesis. *Cardiovasc Res.* 2016;110(1):118–28.
191. Pan HY, Guo L, Li Q. Changes of serum omentin-1 levels in normal subjects and in patients with impaired glucose regulation and with newly diagnosed and untreated type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010;88(1):29–33.
192. Kim JA, Montagnani M, Kwang KK, et al. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: Molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation.* 2006;113(15):1888–904.

193. Zhong X, Li X, Liu F, et al. Omentin inhibits TNF- α -induced expression of adhesion molecules in endothelial cells via ERK/NF- κ B pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;425(2):401–6.
194. Zhong X, Zhang HY, Tan H, et al. Association of serum omentin-1 levels with coronary artery disease. *Acta Pharmacol Sin*. 2011;32(7):873–8.
195. Kazama K, Usui T, Okada M, et al. Omentin plays an anti-inflammatory role through inhibition of TNF- α -induced superoxide production in vascular smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol*. 2012;686(1–3):116–23.
196. Hiramatsu-Ito M, Shibata R, Ohashi K, et al. Omentin attenuates atherosclerotic lesion formation in Apolipoprotein E-deficient mice. *Cardiovasc Res*. 2016;110(1):107–17.
197. Onur I, Oz F, Yildiz S, et al. A decreased serum omentin-1 level may be an independent risk factor for peripheral arterial disease. *Int Angiol*. 2014;33(5):455–60.
198. Shibata R, Ouchi N, Kikuchi R, et al. Circulating omentin is associated with coronary artery disease in men. *Atherosclerosis*. 2011 Dec;219(2):811–4.
199. Saely CH, Leherer A, Muendlein A, et al. High plasma omentin predicts cardiovascular events independently from the presence and extent of angiographically determined atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2016;244:38–43.
200. Kanamoto N, Akamizu T, Tagami T, et al. Genomic structure and characterization of the 5'-flanking region of the human ghrelin gene. *Endocrinology*. 2004 Sep;145(9):4144–53.
201. Date Y, Kojima M, Hosoda H, et al. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology*. 2000;141(11):4255–61.
202. Lilleness BM, Frishman WH. Ghrelin and the cardiovascular system. Vol. 24, *Cardiology in Review*. Lippincott Williams and Wilkins; 2016. 24(6), 288-297.
203. Al Massadi O, López M, Tschöp M, et al. Current Understanding of the Hypothalamic Ghrelin Pathways Inducing Appetite and Adiposity. *Trends Neurosci*. 2017;40(3):167–80.
204. Méquinion M, Langlet F, Zgheib S, et al. Ghrelin: Central and peripheral implications in anorexia nervosa. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013;4:15.
205. Castañeda TR, Tong J, Datta R, et al. Ghrelin in the regulation of body weight and metabolism. *Front Neuroendocrinol*. 2010;31(1):44–60.
206. Nagaya N, Uematsu M, Kojima M, et al. Elevated circulating level of ghrelin in cachexia associated with chronic heart failure: Relationships between ghrelin and anabolic/catabolic factors. *Circulation*. 2001;104(17):2034–8.
207. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, et al. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(12):5992–5.
208. Zigman JM, Bouret SG, Andrews ZB, et al. Obesity Impairs the Action of the Neuroendocrine Ghrelin System. *Trends Endocrinol Metab*. 2016;27(1):54–63.
209. English PJ, Ghatei MA, Malik IA, et al. Food fails to suppress ghrelin levels in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(6):2984–7.

210. Sainsbury A, Cooney GJ, Herzog H, et al. Hypothalamic regulation of energy homeostasis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2002;16(4):623–37.
211. Netea MG, Nold-Petry CA, Nold MF, et al. Differential requirement for the activation of the inflammasome for processing and release of IL-1 β in monocytes and macrophages. *Blood.* 2009;113(10):2324–35.
212. Korhonen R, Lahti A, Kankaanranta H, et al. Nitric oxide production and signaling in inflammation. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2005;4(4):471–9.
213. Zhao Y, Vanhoutte PM, Leung SWS. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *J Pharmacol Sci.* 2015;129(2):83–94.
214. Martinon F, Pétrilli V, Mayor A, et al. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature.* 2006;440(7081):237–41.
215. Krishnan SM, Sobey CG, Latz E, et al. IL-1 β and IL-18: Inflammatory markers or mediators of hypertension? *Br J Pharmacol.* 2014;171(24):5589–602.
216. Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature.* 2000; 407:233-241
217. Fava C, Montagnana M. Atherosclerosis is an inflammatory disease which lacks a common anti-inflammatory therapy: How human genetics can help to this issue. A narrative review. *Front Pharmacol.* 2018;9:55.
218. Biffl WL, Moore EE, Moore FA, et al. Interleukin-6 in the injured patient: Marker of injury or mediator of inflammation? *Ann Surg.* 1996;224(5):647–64.
219. Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, et al. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: Is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis.* 2000;148(2):209–14.
220. Wernstedt I, Eriksson AL, Berndtsson A, et al. A common polymorphism in the interleukin-6 gene promoter is associated with overweight. *Int J Obes.* 2004;28(10):1272–9.
221. Ridker PM. From C-Reactive Protein to Interleukin-6 to Interleukin-1: Moving Upstream to Identify Novel Targets for Atheroprotection. *Circ Res.* 2016;118(1):145–56.
222. Hansson GK. Mechanisms of disease: Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2005;352(16):1685–95.
223. Niu W, Liu Y, Qi Y, et al. Association of interleukin-6 circulating levels with coronary artery disease: A meta-analysis implementing mendelian randomization approach. *Int J Cardiol.* 2012;157(2):243–52.
224. Sarwar N, Butterworth AS, Freitag DF, et al. Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: A collaborative meta-analysis of 82 studies. *Lancet.* 2012;379(9822):1205–13.
225. Modi WS, Dean M, Seuanez HN, et al. Monocyte-derived neutrophil chemotactic factor (MDNCF/IL-8) resides in a gene cluster along with several other members of the platelet factor 4 gene superfamily. *Hum Genet.* 1990;84(2):185–7.
226. Baggiolini M. Chemokines in pathology and medicine. *J Intern Med.* 2001;250(2):91–104.
227. de Oliveira S, Reyes-Aldasoro CC, Candel S, et al. Cxcl8 (IL-8) Mediates Neutrophil Recruitment and Behavior in the Zebrafish Inflammatory Response. *J Immunol.* 2013;190(8):4349–59.

228. Azar Sharabiani MT, Vermeulen R, Scoccianti C, et al. Immunologic profile of excessive body weight. *Biomarkers*. 2011;16(3):243–51.
229. Weber C, Noels H. Atherosclerosis: Current pathogenesis and therapeutic options. *Nat Med*. 2011;17(11):1410–22.
230. Zerneck A, Weber C. Chemokines in atherosclerosis: Proceedings resumed. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34(4):742–50.
231. Bi X, Song J, Gao J, et al. Activation of liver X receptor attenuates lysophosphatidylcholine-induced IL-8 expression in endothelial cells via the NF- κ B pathway and SUMOylation. *J Cell Mol Med*. 2016;20(12):2249–58.
232. Gerszten RE, Garcia-Zepeda EA, Lim YC, et al. MCP-1 and IL-8 trigger firm adhesion of monocytes to vascular endothelium under flow conditions. *Nature*. 1999;398(6729):718–25.
233. Xing D, Li P, Gong K, et al. Endothelial cells overexpressing interleukin-8 receptors reduce inflammatory and neointimal responses to arterial injury. *Circulation*. 2012;125(12):1533–41.
234. Nolan KF, Greaves DR, Waldmann H. The human interleukin 18 gene IL18 maps to 11q22.2-q22.3, closely linked to the DRD2 gene locus and distinct from mapped IDDM loci. *Genomics*. 1998;51(1):161–3.
235. Okamura H, Tsutsui H, Komatsu T, et al. Cloning of a new cytokine that induces IFN- γ production by T cells. *Nature*. 1995;378(6552):88–91.
236. Fenini G, Contassot E, French LE. Potential of IL-1, IL-18 and inflammasome inhibition for the treatment of inflammatory skin diseases. *Front Pharmacol*. 2017;8:278.
237. Li X, Du N, Zhang Q, et al. MicroRNA-30d regulates cardiomyocyte pyroptosis by directly targeting foxo3a in diabetic cardiomyopathy. *Cell Death Dis*. 2014;5(10):e1479.
238. Collino M, Benetti E, Rogazzo M, et al. Reversal of the deleterious effects of chronic dietary HFCS-55 intake by PPAR- δ agonism correlates with impaired NLRP3 inflammasome activation. *Biochem Pharmacol*. 2013;85(2):257–64.
239. L'homme L, Esser N, Riva L, et al. Unsaturated fatty acids prevent activation of NLRP3 inflammasome in human monocytes/macrophages. *J Lipid Res*. 2013;54(11):2998–3008.
240. Li X, Zhang C, Chen W, et al. Protective effect of neutralizing anti-IL-18 α monoclonal antibody on a mouse model of acute graft-versus-host disease. *Oncol Rep*. 2015;34(4):2031–9.
241. Aso Y, Okumura KI, Takebayashi K, et al. Relationships of plasma interleukin-18 concentrations to hyperhomocysteinemia and carotid intima-media wall thickness in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2003;26(9):2622–7.
242. Zhang Y, Feng H, Wei Z. Association between IL-18 and carotid intima-media thickness in patients with type II diabetic nephropathy. *Med Sci Monit*. 2017;23:470–8.
243. O'Brien LC, Mezzaroma E, Van Tassel BW, et al. Interleukin-18 as a therapeutic target in acute myocardial infarction and heart failure. *Mol Med*. 2014;20(1):221–9.
244. Toldo S, Mezzaroma E, O'Brien L, et al. Interleukin-18 mediates interleukin-1-induced cardiac dysfunction. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol*. 2014;306(7):1025–31.

245. Mehrabian M, Sparkes RS, Mohandas T, et al. Localization of monocyte chemotactic protein-1 gene (SCYA2) to human chromosome 17q11.2-q21.1. *Genomics*. 1991;9(1):200–3.
246. Lin J, Kakkar V, Lu X. Impact of MCP -1 in Atherosclerosis. *Curr Pharm Des*. 2014;20(28):4580–8.
247. Deo R, Khera A, McGuire DK, et al. Association among plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1, traditional cardiovascular risk factors, and subclinical atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44(9):1812–8.
248. Tan C, Liu Y, Li W, et al. Associations of matrix metalloproteinase-9 and monocyte chemoattractant protein-1 concentrations with carotid atherosclerosis, based on measurements of plaque and intima-media thickness. *Atherosclerosis*. 2014;232(1):199–203.
249. Furukawa Y, Matsumori A, Ohashi N, et al. Anti-monocyte chemoattractant protein-1/monocyte chemotactic and activating factor antibody inhibits neointimal hyperplasia in injured rat carotid arteries. *Circ Res*. 1999;84(3):306–14.
250. Liu ZH, Chen LL, Deng XL, et al. Methylation status of CpG sites in the MCP-1 promoter is correlated to serum MCP-1 in type 2 diabetes. *J Endocrinol Invest*. 2012;35(6):585–9.
251. Reddy S, Amutha A, Rajalakshmi R, et al. Association of increased levels of MCP-1 and cathepsin-D in young onset type 2 diabetes patients (T2DM-Y) with severity of diabetic retinopathy. *J Diabetes Complications*. 2017;31(5):804–9.
252. Sell H, Dietze-Schroeder D, Kaiser U, et al. Monocyte chemotactic protein-1 is a potential player in the negative cross-talk between adipose tissue and skeletal muscle. *Endocrinology*. 2006;147(5):2458–67.
253. Chandrakala AN, Sukul D, Selvarajan K, et al. Induction of brain natriuretic peptide and monocyte chemotactic Protein-1 gene expression by oxidized low-density lipoprotein: Relevance to ischemic heart failure. *Am J Physiol - Cell Physiol*. 2012;302(1):C165–77.
254. Nedwin GE, Naylor SL, Sakaguchi AY, et al. Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: Structure, homology and chromosomal localization. *Nucleic Acids Res*. 1985;13(17):6361–73.
255. Xu H, Teoman Uysal K, David Becherer J, et al. Altered tumor necrosis factor- α (TNF- α) processing in adipocytes and increased expression of transmembrane TNF- α in obesity. *Diabetes*. 2002;51(6):1876–83.
256. Tanti JF, Ceppo F, Jager J, et al. Implication of inflammatory signaling pathways in obesity-induced insulin resistance. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013;3:181.
257. Bhagat K, Vallance P. Inflammatory cytokines impair endothelium-dependent dilatation in human veins in vivo. *Circulation*. 1997;96(9):3042–7.
258. Hotamisligil GS. Inflammatory pathways and insulin action. *Int J Obes*. 2003;27(S3):S53–5.
259. Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, et al. Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2000;343(16):1139–47.

260. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer M, et al. Elevation of tumor necrosis factor- α and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation*. 2000;101(18):2149–53.
261. Liu Z, Lu F, Pan H, et al. Correlation of peripheral Th17 cells and Th17-associated cytokines to the severity of carotid artery plaque and its clinical implication. *Atherosclerosis*. 2012;221(1):232–41.
262. Bella J, Kolatkar PR, Marlor CW, et al. The structure of the two amino-terminal domains of human intercellular adhesion molecule-1 suggests how it functions as a rhinovirus receptor. *Virus Res*. 1999;62(2):107–17.
263. Fujimoto E, Nakamura Y, Payson R, et al. Isolation and mapping of a polymorphic DNA sequence (pEFD70.3) on chromosome 18 [D18S23]. *Nucleic Acids Res*. 1988;16(10):4748.
264. Katz FE, Parkar M, Stanley K, et al. Chromosome mapping of cell membrane antigens expressed on activated B cells. *Eur J Immunol*. 1985;15(1):103–6.
265. Sumagin R, Kuebel JM, Sarelis IH, et al. Leukocyte rolling and adhesion both contribute to regulation of microvascular permeability to albumin via ligation of ICAM-1. *Am J Physiol - Cell Physiol*. 2011;301(4):804–13.
266. Dragoni S, Hudson N, Kenny B-A, et al. Endothelial MAPKs Direct ICAM-1 Signaling to Divergent Inflammatory Functions. *J Immunol*. 2017;198(10):4074–85.
267. Woodfin A, Beyrau M, Voisin MB, et al. ICAM-1-expressing neutrophils exhibit enhanced effector functions in murine models of endotoxemia. *Blood*. 2016 Feb 18;127(7):898–907.
268. Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, et al. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: The Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Circulation*. 1997;96(12):4219–25.
269. Hoke M, Winter MP, Wagner O, et al. The impact of selectins on mortality in stable carotid atherosclerosis. *Thromb Haemost*. 2015;114(3):632–8.
270. Rautou PE, Leroyer AS, Ramkhalawon B, et al. Microparticles from human atherosclerotic plaques promote endothelial ICAM-1-dependent monocyte adhesion and transendothelial migration. *Circ Res*. 2011 Feb;108(3):335–43.
271. Cybulsky MI, Fries JW, Williams AJ, et al. Gene structure, chromosomal location, and basis for alternative mRNA splicing of the human VCAM1 gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88(17):7859–63.
272. Lee IT, Shih RH, Lin CC, et al. Role of TLR4/NADPH oxidase/ROS-activated p38 MAPK in VCAM-1 expression induced by lipopolysaccharide in human renal mesangial cells. *Cell Commun Signal*. 2012;10(1):33.
273. Lin CC, Yang CC, Wang CY, et al. NADPH oxidase/ROS-dependent VCAM-1 induction on TNF- α -challenged human cardiac fibroblasts enhances monocyte adhesion. *Front Pharmacol*. 2016;6:310.
274. Van Der Loos CM, Meijer-Jorna LB, Broekmans MEC, et al. Anti-human vascular endothelial growth factor (VEGF) antibody selection for immunohistochemical staining of proliferating blood vessels. *J Histochem Cytochem*. 2010;58(2):109–18.

275. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J, et al. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*. 2003;9(6):669–76.
276. Claffey KP, Wilkison WO, Spiegelman BM. Vascular endothelial growth factor. Regulation by cell differentiation and activated second messenger pathways. *J Biol Chem*. 1992;267(23):16317–22.
277. Mick GJ, Wang X, McCormick K. White adipocyte vascular endothelial growth factor: Regulation by insulin. *Endocrinology*. 2002;143(3):948–53.
278. Miyazawa-Hoshimoto S, Takahashi K, Bujo H, et al. Elevated serum vascular endothelial growth factor is associated with visceral fat accumulation in human obese subjects. *Diabetologia*. 2003;46(11):1483–8.
279. Ji KT, Qian L, Nan JL, et al. Ox-LDL induces dysfunction of endothelial progenitor cells via activation of NF- κ B. *Biomed Res Int*. 2015.
280. Xu J, Lu X, Shi GP. Vasa vasorum in atherosclerosis and clinical significance. *Int J Mol Sci*. 2015;16(5):11574–608.
281. Holm PW, Slart RHJA, Zeebregts CJ, et al. Atherosclerotic plaque development and instability: A dual role for VEGF. *Ann Med*. 2009;41(4):257–64.
282. Moreno PR, Purushothaman M, Purushothaman KR. Plaque neovascularization: Defense mechanisms, betrayal, or a war in progress. *Ann N Y Acad Sci*. 2012;1254(1):7–17.
283. Ho-Tin-Noé B, Michel JB. Initiation of Angiogenesis in Atherosclerosis: Smooth Muscle Cells as Mediators of the Angiogenic Response to Atheroma Formation. *Trends Cardiovasc Med*. 2011;21(7):183–7.
284. Traktuev DO, Merfeld-Clauss S, Li J, et al. A population of multipotent CD34-positive adipose stromal cells share pericyte and mesenchymal surface markers, reside in a periendothelial location, and stabilize endothelial networks. *Circ Res*. 2008;102(1):77–85.
285. Zhao Q, Ishibashi M, Hiasa KI, et al. Essential role of vascular endothelial growth factor in angiotensin II-induced vascular inflammation and remodeling. *Hypertension*. 2004;44(3):264–70.
286. Pelisek J, Well G, Reeps C, et al. Neovascularization and angiogenic factors in advanced human carotid artery stenosis. *Circ J*. 2012;76(5):1274–82.
287. Pannekoek H, Veerman H, Lambers H, et al. Endothelial plasminogen activator inhibitor (PAI): a new member of the Serpin gene family. *EMBO J*. 1986;5(10):2539–44.
288. Ginsburg D, Zeheb R, Yang AY, et al. cDNA cloning of human plasminogen activator-inhibitor from endothelial cells. *J Clin Invest*. 1986;78(6):1673–80.
289. Loskutoff DJ, Sawdey M, Keeton M, et al. Regulation of PAI-1 gene expression in vivo. *Thromb Haemost*. 1993;69(1):135–7.
290. Tsantes AE, Nikolopoulos GK, Bagos PG, et al. The effect of the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism on the thrombotic risk. *Thromb Res*. 2008;122(6):736–42.
291. Blokhin IO, Lentz SR. Mechanisms of thrombosis in obesity. *Curr Opin Hematol*. 2013;20(5):437–44.

292. Yasar Yildiz S, Kuru P, Toksoy Oner E, et al. Functional stability of plasminogen activator inhibitor-1. *Sci World J*. 2014.
293. Van De Craen B, Declerck PJ, Gils A. The Biochemistry, Physiology and Pathological roles of PAI-1 and the requirements for PAI-1 inhibition in vivo. *Thromb Res*. 2012;130(4):576–85.
294. Karasek D, Vaverkova H, Cibickova L, et al. Apolipoprotein B vs non–high-density lipoprotein cholesterol: Association with endothelial hemostatic markers and carotid intima-media thickness. *J Clin Lipidol*. 2017;11(2):442–9.
295. Raiko JRH, Oikonen M, Wendelin-Saarenhovi M, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 associates with cardiovascular risk factors in healthy young adults in the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Atherosclerosis*. 2012;224(1):208–12.
296. Wang L, Rockwood J, Zak D, et al. Simvastatin reduces circulating plasminogen activator inhibitor 1 activity in volunteers with the metabolic syndrome. *Metab Syndr Relat Disord*. 2008;6(2):149–52.
297. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988;37(12):1595–607.
298. Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; National heart, lung, and blood institute; American heart association; World heart federation; International. *Circulation*. 2009;120(16):1640–5.
299. Grundy SM. Metabolic syndrome update. *Trends Cardiovasc Med*. 2016;26(4):364–73.
300. Alberti KGMM, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*. 1998;15(7):539–53.
301. Cleeman JI. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III). *J Am Med Assoc*. 2001;285(19):2486–97.
302. Fernández-Bergés D, Cabrera De León A, Sanz H, et al. Metabolic syndrome in Spain: Prevalence and coronary risk associated with harmonized definition and who proposal. DARIOS study. *Rev Esp Cardiol*. 2012;65(3):241–8.
303. Reaven GM. The metabolic syndrome: Time to get off the merry-go-round? *J Intern Med*. 2011 Feb;269(2):127–36.
304. Kahn R. Metabolic syndrome: Is it a syndrome? Does it matter? *Circulation*. 2007;115(13):1806–10.
305. Rani V, Deep G, Singh RK, et al. Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies. *Life Sci*. 2016;148:183–93.
306. Fuentes E, Fuentes F, Vilahur G, et al. Mechanisms of chronic state of inflammation as mediators that link obese adipose tissue and metabolic syndrome. *Mediators Inflamm*. 2013.

307. Gami AS, Witt BJ, Howard DE, et al. Metabolic Syndrome and Risk of Incident Cardiovascular Events and Death. A Systematic Review and Meta-Analysis of Longitudinal Studies. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49(4):403–14.
308. Hanna-Maaria L, David E L, Timo A L, et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *J Am Med Assoc*. 2002;288(21):2709–16.
309. Marrugat J, Vila J, Baena-Díez JM, et al. Validez relativa de la estimación del riesgo cardiovascular a 10 años en una cohorte poblacional del estudio REGICOR. *Rev Esp Cardiol*. 2011;64(5):385–94.
310. Khot UN, Khot MB, Bajzer CT, et al. Prevalence of Conventional Risk Factors in Patients with Coronary Heart Disease. *J Am Med Assoc*. 2003;290(7):898–904.
311. Baber U, Mehran R, Sartori S, et al. Prevalence, impact, and predictive value of detecting subclinical coronary and carotid atherosclerosis in asymptomatic adults: The bioimage study. *J Am Coll Cardiol*. 2015;65(11):1065–74.
312. López-Melgar B, Fernández-Friera L, Oliva B, et al. Subclinical Atherosclerosis Burden by 3D Ultrasound in Mid-Life: The PESA Study. *J Am Coll Cardiol*. 2017;70(3):301–13.
313. Herrington W, Lacey B, Sherliker P, et al. Epidemiology of Atherosclerosis and the Potential to Reduce the Global Burden of Atherothrombotic Disease. *Circ Res*. 2016;118(4):535–46.
314. Haberka M, Gasior Z. Carotid extra-media thickness in obesity and metabolic syndrome: A novel index of perivascular adipose tissue. Extra-media thickness in obesity and metabolic syndrome. *Atherosclerosis*. 2015;239(1):169–77.
315. de Bruijne M. Three-dimensional carotid ultrasound plaque texture predicts vascular events. *Stroke*. 2014;45(9):2695–701.
316. Stein JH, Korcarz CE, et al. Use of Carotid Ultrasound to Identify Subclinical Vascular Disease and Evaluate Cardiovascular Disease Risk: A Consensus Statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force Endorsed by the Society for Vascular. *J Am Soc Echocardiogr*. 2008;21(2):93–111.
317. World Health Organization. OMS. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Heal Organ - Tech Rep Ser. 2000.
318. O'Brien E, Waeber B, Parati G, et al. Blood pressure measuring devices: Recommendations of the European Society of Hypertension. *Br Med J*. 2001;322(7285):531–6.
319. Janczura M, Kotula-Horowitz K, Iwaniec T, et al. Association of insulin resistance, as determined by homeostasis model assessment (HOMA), with metabolic syndrome among middle-aged subjects. *Atherosclerosis*. 2016;252:e135.
320. Den Ruijter HM, Peters SAE, Anderson TJ, et al. Common carotid intima-media thickness measurements in cardiovascular risk prediction: A meta-analysis. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2012;308(8):796–803.
321. Kalashyan H, Shuaib A, Gibson PH, et al. Single sweep three-dimensional carotid ultrasound: Reproducibility in plaque and artery volume measurements. *Atherosclerosis*. 2014;232(2):397–402.

322. Almuhanha K, Hossain MM, Zhao L, et al. Carotid plaque morphometric assessment with three-dimensional ultrasound imaging. *J Vasc Surg.* 2015;61(3):690–7.
323. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, et al. Mannheim intima-media thickness consensus. *Cerebrovasc Dis.* 2004;18(4):346–9.
324. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: An update from the American society of echocardiography and the European association of cardiovascular imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2015;16(3):233–71.
325. McClelland RL, Chung H, Detrano R, et al. Distribution of coronary artery calcium by race, gender, and age: Results from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Circulation.* 2006;113(1):30–7.
326. Keihani S, Hosseinpanah F, Barzin M, et al. Abdominal obesity phenotypes and risk of cardiovascular disease in a decade of follow-up: The Tehran Lipid and Glucose Study. *Atherosclerosis.* 2015;238(2):256–63.
327. Srikanthan K, Feyh A, Visweshwar H, et al. Systematic review of metabolic syndrome biomarkers: A panel for early detection, management, and risk stratification in the West Virginian population. *Int J Med Sci.* 2016;13(1):25–38.
328. Targuer G, Bonadonna RC, Alberiche M, et al. Relation between soluble adhesion molecules and insulin sensitivity in type 2 diabetic individuals: Role of adipose tissue. *Diabetes Care.* 2001;24(11):1961–6.
329. Gómez Rosso L, Benítez MB, Fornari MC, et al. Alterations in cell adhesion molecules and other biomarkers of cardiovascular disease in patients with metabolic syndrome. *Atherosclerosis.* 2008;199(2):415–23.
330. Odegaard AO, Jacobs DR, Sanchez OA, et al. Oxidative stress, inflammation, endothelial dysfunction and incidence of type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol.* 2016;15(1):51.
331. Alessi MC, Juhan-Vague I. PAI-1 and the metabolic syndrome: Links, causes, and consequences. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(10):2200–7.
332. Mertens I, Verrijken A, Michiels JJ, et al. Among inflammation and coagulation markers, PAI-1 is a true component of the metabolic syndrome. *Int J Obes.* 2006 Aug 7;30(8):1308–14.
333. Lira FS, Rosa JC, Lima-Silva AE, et al. Sedentary subjects have higher PAI-1 and lipoproteins levels than highly trained athletes. *Diabetol Metab Syndr.* 2010;2(1):7.
334. Caria CRP, Olivera CC, Gotardo EMF, et al. Adipose tissue inflammation and remodeling during weight cycling in mice. *Inflamm Res.* 2015;64(2):S153
335. Song C, Burgess S, Eicher JD, et al. Causal effect of plasminogen activator inhibitor type 1 on coronary heart disease. *J Am Heart Assoc.* 2017;6(6):e004918.
336. Vaughan DE. PAI-1 and atherothrombosis. *J Thromb Haemost.* 2005;3(8):1879–83.
337. Iglesias-Osma MC, Torres MA, García-Barrado MJ, et al. Adipocytokines: Implications in the prognosis and drug treatment of cardiovascular diseases. *Rev Clin Esp.* 2008;208(5):239–46.

338. Kilic. Plasma Omentin-1 Levels Are Similar in Nondiabetic Metabolic Syndrome Patients and Healthy Subjects. *J Endocrinol Metab.* 2011;1(4):182–7.
339. Jialal I, Devaraj S, Kaur H, et al. Increased chemerin and decreased omentin-1 in both adipose tissue and plasma in nascent metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(3):E514–7.
340. Yan P, Li L, Yang M, et al. Effects of the long-acting human glucagon-like peptide-1 analog liraglutide on plasma omentin-1 levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011;92(3):368–74.
341. Lesná J, Tichá A, Hyšpler R, et al. Omentin-1 plasma levels and cholesterol metabolism in obese patients with diabetes mellitus type 1: Impact of weight reduction. *Nutr Diabetes.* 2015;5(11):183.
342. Onur I, Oz F, Yildiz S, et al. Serum omentin 1 level is associated with coronary artery disease and its severity in postmenopausal women. *Angiology.* 2014;65(10):896–900.
343. Yamawaki H, Tsubaki N, Mukohda M, et al. Omentin, a novel adipokine, induces vasodilation in rat isolated blood vessels. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;393(4):668–72.
344. Maruyama S, Shibata R, Kikuchi R, et al. Fat-derived factor omentin stimulates endothelial cell function and ischemia-induced revascularization via endothelial nitric oxide synthase-dependent mechanism. *J Biol Chem.* 2012;287(1):408–17.
345. Kaur J. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol Res Pract.* 2014.
346. Havel PJ. Update on Adipocyte Hormones. *Diabetes.* 2014;53:143–51
347. Hui E, Xu A, Chow WS, et al. Hypoadiponectinemia as an independent predictor for the progression of carotid atherosclerosis: A 5-year prospective study. *Metab Syndr Relat Disord.* 2014;12(10):517–22.
348. Ferreira JP, Girerd N, Bozec E, et al. Intima-media thickness is linearly and continuously associated with systolic blood pressure in a population-based cohort (STANISLAS cohort study). *J Am Heart Assoc.* 2016;5(6):003529.
349. Salonen R, Salonen JT. Carotid atherosclerosis in relation to systolic and diastolic blood pressure: Kuopio ischaemic heart disease risk factor study. *Ann Med.* 1991;23(1):23–7.
350. Juhola J, Magnussen CG, Berenson GS, et al. Combined effects of child and adult elevated blood pressure on subclinical atherosclerosis: The international childhood cardiovascular cohort consortium. *Circulation.* 2013;128(3):217–24.
351. Nyssönen K, Kurl S, Karppi J, et al. LDL oxidative modification and carotid atherosclerosis: Results of a multicenter study. *Atherosclerosis.* 2012;225(1):231–6.
352. Carmena R, Duriez P, Fruchart JC, et al. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. *Circulation.* 2004 Jun 15;109(23 SUPPL.):III-2-III-7.
353. Batluk J, Leonards CO, Grittner U, et al. Triglycerides and carotid intima-media thickness in ischemic stroke patients. *Atherosclerosis.* 2015;243(1):186–91.

354. Sarwar N, Danesh J, Eiriksdottir G, et al. Triglycerides and the risk of coronary heart disease: 10 158 Incident cases among 262 525 participants in 29 Western prospective studies. *Circulation*. 2007 Jan;115(4):450–8.
355. MacKey RH, Greenland P, Goff DC, et al. High-density lipoprotein cholesterol and particle concentrations, carotid atherosclerosis, and coronary events: MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). *J Am Coll Cardiol*. 2012;60(6):508–16.
356. Sun YP, Cai YY, Li HM, et al. Increased carotid intima-media thickness (CIMT) levels in patients with type 1 diabetes mellitus (T1DM): A meta-analysis. *J Diabetes Complications*. 2015;29(5):724–30.
357. Nathan DM, Lachin J, Cleary P, et al. Intensive diabetes therapy and carotid intima-media thickness in type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 2003;348(23):2294–303.
358. Kondo K, Kitagawa K, Nagai Y, et al. Associations of soluble intercellular adhesion molecule-1 with carotid atherosclerosis progression. *Atherosclerosis*. 2005;179(1):155–60.
359. Luc G, Arveiler D, Evans A, et al. Circulating soluble adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 and incident coronary heart disease: The PRIME Study. *Atherosclerosis*. 2003;170(1):169–76.
360. Blankenberg S, Barbaux S, Tiret L. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2003;170(2):191–203.
361. Ren G, Zhao X, Zhang L, et al. Inflammatory Cytokine-Induced Intercellular Adhesion Molecule-1 and Vascular Cell Adhesion Molecule-1 in Mesenchymal Stem Cells Are Critical for Immunosuppression. *J Immunol*. 2010;184(5):2321–8.
362. O'Brien KD, McDonald TO, Chait A, et al. Neovascular expression of E-selectin, intercellular adhesion molecule-1, and vascular cell adhesion molecule-1 in human atherosclerosis and their relation to intimal leukocyte content. *Circulation*. 1996;93(4):672–82.
363. Poston RN, Haskard DO, Coucher JR, et al. Expression of intercellular adhesion molecule-1 in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol*. 1992;140(3):665–73.
364. Habas K, Shang L. Alterations in intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) in human endothelial cells. *Tissue Cell*. 2018;54(1):139–43.
365. Vogel ME, Idelman G, Konaniah ES, et al. Bilirubin prevents atherosclerotic lesion formation in low-density lipoprotein receptor-deficient mice by inhibiting endothelial VCAM-1 and ICAM-1 signaling. *J Am Heart Assoc*. 2017;6(4):e004820.
366. Nakashima Y, Raines EW, Plump AS, et al. Upregulation of VCAM-1 and ICAM-1 at atherosclerosis-prone sites on the endothelium in the apoE-deficient mouse. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18(5):842–51.
367. Lisowska A, Siergiejko E, Tycińska A, et al. SVCAM-1 concentration and carotid IMT values in patients with acute myocardial infarction - Atherosclerotic markers of the presence, progress and prognosis. *Adv Med Sci*. 2015;60(1):101–6.
368. Davies MJ, Gordon JL, Gearing AJH, et al. The expression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PECAM, and E-selectin in human atherosclerosis. *J Pathol*. 1993;171(3):223–9.

369. Arndt PG, Young SK, Worthen GS. Regulation of Lipopolysaccharide-Induced Lung Inflammation by Plasminogen Activator Inhibitor-1 through a JNK-Mediated Pathway. *J Immunol.* 2005;175(6):4049–59.
370. Lupu F, Bergonzelli GE, Heim DA, et al. Localization and production of plasminogen activator inhibitor-1 in human healthy and atherosclerotic arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1993;13(7):1090–100.
371. Pandolfi A, Cetrullo D, Polishuck R, et al. Plasminogen activator inhibitor type 1 is increased in the arterial wall of type II diabetic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(8):1378–82.
372. Eren M, Painter CA, Atkinson JB, et al. Age-dependent spontaneous coronary arterial thrombosis in transgenic mice that express a stable form of human plasminogen activator inhibitor-1. *Circulation.* 2002;106(4):491–6.
373. Rabieian R, Boshtam M, Zareei M, et al. Plasminogen Activator Inhibitor Type-1 as a Regulator of Fibrosis. *J Cell Biochem.* 2018;119(1):17–27.
374. Xanthakis V, Enserro DM, Murabito JM, et al. Ideal cardiovascular health associations with biomarkers and subclinical disease and impact on incidence of cardiovascular disease in the framingham offspring study. *Circulation.* 2014;130(19):1676–83.
375. Adly AAM, Elbarbary NS, Ismail EAR, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in children and adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus: Relation to diabetic micro-vascular complications and carotid intima media thickness. *J Diabetes Complications.* 2014;28(3):340–7.
376. Battes LC, Akkerhuis KM, Cheng JM, et al. Circulating acute phase proteins in relation to extent and composition of coronary atherosclerosis and cardiovascular outcome: Results from the ATHEROREMO-IVUS study. *Int J Cardiol.* 2014;177(3):847–53.
377. Massot A, Giralt D, Penalba A, et al. Predictive value of ankle-brachial index and PAI-1 in symptomatic intracranial atherosclerotic disease recurrence. *Atherosclerosis.* 2014;233(1):186–9.
378. Inoue M, Itoh H, Ueda M, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human coronary atherosclerotic lesions: Possible pathophysiological significance of VEGF in progression of atherosclerosis. *Circulation.* 1998;98(20):2108–16.
379. Erman H, Gelisgen R, Cengiz M, et al. The association of vascular endothelial growth factor, metalloproteinases and their tissue inhibitors with cardiovascular risk factors in the metabolic syndrome. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016;20(6):1015–22.
380. Sandhofer A, Tatarczyk T, Kirchmair R, et al. Are plasma VEGF and its soluble receptor sFlt-1 atherogenic risk factors? Cross-sectional data from the SAPHIR study. *Atherosclerosis.* 2009;206(1):265–9.
381. Shibata R, Takahashi R, Kataoka Y, et al. Association of a fat-derived plasma protein omentin with carotid artery intima-media thickness in apparently healthy men. *Hypertens Res.* 2011;34(12):1309–12.
382. Xu T, Zuo P, Cao L, et al. Omentin-1 is associated with carotid plaque instability among ischemic stroke patients. *J Atheroscler Thromb.* 2018;25(6):505–11.

383. Sengul E, Duygulu G, Dindar S, et al. Serum omentin-1, inflammation and carotid atherosclerosis in patients with non-diabetic chronic kidney disease. *Ren Fail.* 2013;35(8):1089–93.
384. Kadoglou NPE, Lambadiari V, Gastounioti A et al. The relationship of novel adipokines, RBP4 and omentin-1, with carotid atherosclerosis severity and vulnerability. *Atherosclerosis.* 2014;235(2):606–12.
385. Yoon JH, Kim SK, Choi HJ, et al. Adiponectin Provides Additional Information to Conventional Cardiovascular Risk Factors for Assessing the Risk of Atherosclerosis in Both Genders. *PLoS One.* 2013;8(10):e75535.
386. Gardener H, Sjoberg C, Crisby M, et al. Adiponectin and carotid intima-media thickness in the Northern Manhattan Study. *Stroke.* 2012;43(4):1123–5.
387. GURSOY Calan O, Calan M, Yesil Senses P, et al. Increased adiponin is associated with carotid intima media thickness and metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2016;85(6):910–7.
388. Hansson GK. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(12):1876–90.
389. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32(9):2045–51.
390. Makris GC, Lavidia A, Griffin M, et al. Three-dimensional ultrasound imaging for the evaluation of carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2011;219(2):377–83.
391. López-Melgar B, Fernández-Friera L, Sánchez-González J, et al. Accurate quantification of atherosclerotic plaque volume by 3D vascular ultrasound using the volumetric linear array method. *Atherosclerosis.* 2016;248:230–7.

Anexos

Anexo 1.**HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE (Recogida de muestras de sangre).**

Unidad de Riesgo Cardiovascular

Servicio de Medicina Interna

Hospital Universitario Madrid Montepíncipe

Apreciado/a Sr/a.

Si usted participa en el estudio “Identificación de perfiles moleculares como marcadores de riesgo cardiovascular en pacientes con Síndrome Metabólico”, se tomarán muestras de su sangre para realizar investigación molecular. Estas muestras se analizarán y almacenarán en Instituto de Medicina Molecular Aplicada (IMMA) de la Universidad San Pablo CEU que colabora estrechamente en el estudio con el Hospital Universitario HM Montepíncipe.

Uno de los principales objetivos del estudio será analizar parámetros moleculares en relación con el síndrome metabólico. Estas moléculas están implicadas en el funcionamiento del organismo y su metabolismo. Debido a la estrecha relación con el síndrome metabólico, estas moléculas pueden aportar importante información pronóstica y predecir así que pacientes requieren una acción terapéutica más enérgica para evitar el desarrollo y/o progresión de eventos cardiovasculares.

Las muestras de sangre que usted aporte se almacenarán hasta que se agoten o por un máximo de 10 años tras el fin del estudio. Si queda algo de muestra tras el periodo de almacenamientos se destruirá.

Su consentimiento para la recogida de muestras de sangre, su análisis y su posterior almacenamiento es totalmente voluntario. Usted puede rechazar participar en esta prueba y esto no supone pérdida alguna en la asistencia sanitaria que usted va a recibir.

Si usted acepta participar, usted podrá tener acceso a los resultados de los análisis de su muestra.

El análisis de sus muestras puede contribuir a la creación de nuevas pruebas de laboratorio, nuevas medicinas o nuevos dispositivos con valor comercial para el promotor. Usted no recibirá ninguna compensación o derecho comercial o beneficio económico que pueda resultar de los productos, procedimientos o dispositivos que se desarrollen por el estudio de su muestra ni cualquier información o dato que derive de esa investigación.

La información personal sobre sus muestras se manejará de forma confidencial y siguiendo los requerimientos de las leyes vigentes de protección de datos.

Preguntas / Información

Si desea hacer alguna pregunta o aclarar algún tema relacionado con el estudio, o si precisa ayuda por cualquier problema de salud relacionado con este estudio, por favor, no dude en ponerse en contacto con:

Dr. _____

Centro/Hospital: _____

Dirección: _____

Teléfono: _____

Fax: _____

Anexo 2.

Modelo de Consentimiento Informado para el paciente

Identificación de perfiles moleculares como marcadores de riesgo cardiovascular en pacientes con Síndrome Metabólico

Yo,

.....

(nombre completo del paciente)

- He leído la hoja de información que se me ha entregado.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio.
- He recibido suficiente información sobre el estudio.
- Acepto voluntariamente la recogida de muestras para su almacenamiento y proporcionar información médica necesaria.
 - Autorizo a que el médico o promotor use información sobre las muestras según se ha indicado en la hoja de información.
 - He hablado con:

.....

(nombre del Investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria y que los datos recogidos se incorporarán a una base de datos informatizada sin mi nombre para evaluar la investigación (en dicha base de datos los pacientes serán identificados por un número de código que será desconocido para el investigador, con el fin de que los datos no puedan asociarse a una persona identificada o identificable)

Comprendo que puedo retirarme del estudio (y por tanto rechazar y revocar este consentimiento):

- 1º Cuando quiera.
- 2º Sin tener que dar explicaciones.
- 3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Fecha ___/___/___

día mes año

Firma del participante

Fecha ___/___/___

día mes año

Firma del investigador

Según la Ley 5/2018 de 27 de julio, el consentimiento para el tratamiento de sus datos personales y para su cesión es revocable. Vd. puede ejercer el derecho de acceso, rectificación y cancelación dirigiéndose al investigador, el cual lo pondrá en conocimiento del promotor

Anexo 3



INFORME DEL CEIm de HM Hospitales

La Dra. Almudena Lage, Secretaria del Comité Ético de Investigación con medicamentos de HM Hospitales

CERTIFICA

Que el Comité HM Hospitales, ha evaluado en su reunión del 17 de octubre de 2018, Acta nº 144, la propuesta del Dr. Roberto Ortiz Regalón, para que se realice el proyecto titulado:

Identificación de perfiles moleculares como marcadores de riesgo cardiovascular en pacientes con Síndrome Metabólico (SM)

Código CEIm HM Hospitales: 18.09.1304-GHM
Memoria Científico-Técnica de la Tesis_versión 1.0_ SEP 2018

Y habiendo valorado el proyecto desde un punto de vista ético y metodológico, emite un **DICTAMEN FAVORABLE** para que se realice el proyecto en el servicio de Medicina Interna, del Hospital Universitario HM Montepíncipe, siendo el Investigador principal el Dr. Roberto Ortiz Regalón

Que el CEIm de HM Hospitales, tanto en su composición como en sus procedimientos, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con la legislación vigente que regula su funcionamiento

Composición del comité

Dr. Alfonso Moreno González, Especialista en Farmacología Clínica
Dr. Santiago Ruiz de Aguiar, especialista en Farmacología Clínica.
Dra. Almudena Lage Moreda, Licenciada en Medicina y Cirugía
D^a Raquel Alcántara Partido, Licenciada en Farmacia
Dra. María José Ferreiro, especialista en Neumología.
Dr. José Felipe Varona, especialista en Medicina Interna
Dr. Eduardo García Rico, especialista en Oncología
Dr. Miguel Ángel Reina, especialista en Anestesiología y Reanimación.
Dr. Iñigo Álvaro Martínez Gil, Especialista en Medicina Intensiva
D. Juan Carpio, Diplomado en Enfermería.
Dra. Elena Sevillano, Especialista en Oncología
Dr. Cesar G. Muñoz Sánchez-Miguel, Especialista en Oncología,
Dña. Sonsoles Hernández, especialista en Farmacia Hospitalaria.
Dña. María Ortiz, especialista en Farmacia Hospitalaria
Dña. María Teresa Espina Castrillo, Licenciada en Derecho, Dpto. Jurídico de HM Hospitales y vicepresidenta del CEAS de HM Hospitales
D. Ignacio García Gómez. Licenciado en Derecho
D^a Ofelia de Lorenzo, Licenciada en Derecho
D^a Gema Jiménez Jiménez. Licenciada en Derecho. HM Hospitales.
D. Álvaro Fernández Ferreiro. Farmacéutico de Atención Primaria

Que en dicha reunión del Comité Ético de Investigación Clínica se cumplió el quórum preceptivo legalmente.

Que en caso de evaluar algún proyecto en el que un miembro es investigador/colaborador, éste se ausenta de la reunión durante la discusión del mismo.

Lo que firmo en Madrid, a 24 de octubre de 2018.



Fdo. Dra. Almudena Lage
Secretaría CEIm HM Hospitales

CEIm HM Hospitales



ORIGINAL ARTICLE

Soluble ICAM 1 and VCAM 1 Blood Levels Alert on Subclinical Atherosclerosis in Non Smokers with Asymptomatic Metabolic Syndrome

Jose F. Varona,^{a,b} Roberto Ortiz-Regalón,^a Isabel Sánchez-Vera,^b Beatriz López-Melgar,^{c,d} Ciria García-Durango,^b Jose María Castellano Vázquez,^{c,d} Jorge Solís,^c Leticia Fernández-Friera,^{c,d} and Fernando Vidal-Vanaclocha^c

^aDepartamento de Medicina Interna, Hospital Universitario HM Montepríncipe, Grupo HM Hospitales, Madrid, Spain

^bFacultad de Medicina, Universidad San Pablo-CEU, CEU Universities, Madrid, Spain

^cCentro Integral de Enfermedades Cardiovasculares (CIEC), Hospital Universitario HM Montepríncipe, Grupo HM Hospitales, Madrid, Spain

^dCentro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid, Spain

^eGeorge Washington Univ School of Medicine and Health Sciences, Washington DC, USA

Received for publication January 21, 2019; accepted May 13, 2019 (ARCMED_2019_70).

Available online xxx

Background. Metabolic syndrome (MetS) is a heterogeneous clinical entity associated with insulin resistance, low-grade proinflammatory balance and impaired endothelial function, accelerating atherosclerosis. Atherosclerotic lesions worsen with age, smoking and co-morbidities, making it difficult to accurately diagnose the cardiovascular disease (CVD) risk.

Aim. We investigate the association between subclinical atherosclerosis and the presence of blood parameters related to adipocyte and vascular endothelial cell dysfunction, in non-smokers with MetS, under 60 and without previous CVD events.

Methods. Seventy-eight asymptomatic individuals (average 46.5 years, 69% male; 59 MetS and 19 controls) were studied prospectively. Subclinical CVD was defined by the presence of carotid plaque and/or carotid intima-media thickness (CIMT) > 0.9 in 2/3D ultrasound-studies, left ventricular hypertrophy (LVH) or high coronary calcium score (CCS). Multiplex immunoassay by Luminex xMAP was performed to measure plasma levels of adipokines and endothelial cell-derived molecules.

Results. Compared with controls, MetS patients had higher prevalence of carotid plaque (25 vs. 0%, $p = 0.01$), CIMT > 0.9 (73 vs. 26%, $p = 0.001$) and higher CCS (69 vs. 5, $p = 0.01$), which were associated with a remarkable decrease in plasma Omentin levels and increase in sICAM-1, sVCAM-1 and PAI-1 ($p < 0.05$). There was a statistically significant association between CIMT and sICAM-1 (OR: 14.57, 95% CI: 2.56–82.73, $p < 0.001$), sVCAM-1 (OR: 7.33, 95% CI: 1.58–33.96, $p = 0.007$) and PAI-1 (OR: 7.80, 95% CI: 1.04–22.10, $p = 0.036$) in patients with carotid plaque and/or CIMT > 0.9. Positive correlation between plaque volume and sICAM-1 levels was also detected ($r = 0.40$, $p = 0.045$).

Conclusions. We demonstrated that the increase of sICAM-1, sVCAM-1 and PAI-1, together with decrease of omentin-1 led to a proinflammatory imbalance pointing to the presence of subclinical atherosclerosis, and improving CVD risk stratification in non-smoking patients at early stage MetS beyond traditional scores. © 2019 IMSS. Published by Elsevier Inc.

Key Words: Metabolic syndrome, Atherosclerosis, Soluble ICAM-1, Soluble VCAM-1, PAI-1, Omentin-1.

Address reprint requests to: Jose F. Varona, Hospital Universitario HM Montepríncipe (Medicina Interna), Grupo HM Hospitales, Avenida

Montepríncipe 25, Madrid 28660, Spain; Phone: (+34) 699511091; FAX: 913513467; E-mail: jfvarona@hmhospitales.com

Introduction

Early identification of individuals at high risk for cardiovascular disease (CVD) is still challenging and, not surprisingly, a high percentage (up to 40%) of patients with cardiovascular events had been classified as low or intermediate CVD risk (1–5). These observations highlight the importance of refining the assessment of CVD risk beyond the traditional focus to a more individualized approach.

The concept of metabolic syndrome (MetS) has been used for decades to identify individuals whose CVD risk is associated to a common pathophysiological background (6,7). However, individuals with very heterogeneous pathophysiological disorders and different CVD risk are grouped together under the harmonized diagnostic criteria of MetS. Part of the problem is the confusing pathogenesis and pathophysiology of MetS, which has even questioned the MetS per se (8–10) despite the large amount of people who fulfill the diagnostic criteria of MetS (11).

Low-grade inflammation and impaired endothelial cell function underlie the earliest stage of the atherosclerosis process and molecular mediators of adipocyte dysfunction, insulin resistance, and dyslipidemia are at same time involved in the pathogenesis of atherosclerosis and its thrombotic complications (12–14). However, whether these molecular mediators can take part of the screening strategy for subjects routinely classified with low to medium CVD risk (such as non-smoking patients with MetS and no previous clinical CVD) is yet to be defined (15). In fact, such mediators are not used and non-invasive imaging to identify subclinical atherosclerotic damage (16–19) is currently preferred as per the latest clinical guidelines.

The present study was designed to determine the association of various adipokines (adiponectin, adipisin, ghrelin, leptin, omentin, resistin and visfatin) and soluble molecules associated with the proinflammatory phenotype of the vascular endothelium (sICAM-1, sVCAM-1, PAI-1 and VEGF) with the presence of early asymptomatic atherosclerosis in a homogeneous cohort of non-smoking individuals, less than 60 years with MetS.

Material and Methods

Study Population

A cohort of 78 patients referred to the CVD Risk Unit/Internal Medicine Service of the HM-Montepíncipe University Hospital was included in this observational and prospective study. Eligible patients were participants free of clinical CVD and all of them accepted routine health status checkup at the CVD Risk Unit during 2014–16 period. All participants were non-smokers younger than 60 years of age in order to control for the effect of smoking and advanced age on the presence of atherosclerosis.

Confidentiality and Ethics

Patients' data collected during the study were documented and anonymized. The data generated during the study were handled according to Spanish Law 5/1999 and corresponding to European norms. The study was conducted according to the standards of the International Guidelines for Ethical Review of Epidemiological Studies (Council for International Organizations of Medical Sciences-CIOMS-Geneva, 1991). The study was reviewed and approved (10.03.099-GHM) by the Committee for Ethics and Clinical Trials of the Center.

Clinical Assessment of Metabolic Syndrome (MetS)

The diagnosis of MetS was made following the harmonized criteria currently accepted (7) which includes the following CVD risk factors, grouped according to MetS components: a) Abdominal obesity (abdominal perimeter >88 cm in women, >102 cm in men); b) high blood pressure (BP) levels (systolic/diastolic BP > 130/85 mmHg) or hypotensive therapy; c) dysglucosia (basal glycemia >100 mg/dL) or hypoglycaemic therapy; and d) atherogenic dyslipidemia, considering its 2 components: low levels of high density lipoproteins (HDL cholesterol) (<40 mg/dL in men and 50 mg/dL in women) and high levels of triglycerides (>150 mg/dL); or lipid-lowering therapy. MetS diagnosis was based on the presence of 3 or more of these components.

Blood pressure was measured up to three times on the same day in a sitting position. Serum total cholesterol was measured enzymatically using the Cholesterol High Performance reagent (Roche Diagnostics). High density-lipoprotein (HDL) cholesterol was measured using a direct HDL reagent (Roche Diagnostics). Low density-lipoprotein LDL cholesterol was calculated by using the Friedwald formula, considering the triglyceride levels. High cholesterol was defined as a serum total cholesterol >200 mg/dL, recorded diagnosis or medication use. HbA1c was assessed using High performance Liquid Chromatography (HPLC). Homeostasis model assessment-insulin resistance (HOMA-IR) was used to estimate steady state β -cell function and insulin resistance (IR) from basal (fasting) glucose (mg/dL) and insulin or C-peptide concentrations.

To estimate the CVD risk, the SCORE scales calibrated for Spain (20), the ASCVD scale of the AHA/ACC for the 10 year risk estimate (21) and the Lifetime-risk scale for the 30 year estimate were used (21).

Assessment of Subclinical CVD Risk

Subclinical CVD disease was assessed by determining subclinical carotid atherosclerotic disease using both, the carotid intima-media thickness (CIMT) measurement and/or the detection of any carotid atherosclerotic plaque, left

ventricular hypertrophy (LVH) and urinary albumin-to-creatinine ratio (UACR) in mg/g.

Carotid intima-media thickness (CIMT) by Doppler ultrasonography was assessed by 2D vascular ultrasounds using a Philips ultrasound instrument equipped with a 12 MHz linear probe. Longitudinal images of the common carotid were taken with electrocardiographic synchronization, and measurements were made in systole at the level of the posterior wall in the distal common portion of both carotids at one centimeter from their bifurcation using the QLAB semiautomatic measurement software (Philips Health Care, Andover, MA, USA). Pathological CIMT was defined as >0.9 mm (22). The 2D-vascular ultrasound protocol also included the acquisition of multiple axial and longitudinal views of the right and left carotid arteries for evaluating the presence of atherosclerotic plaques. Atherosclerotic plaque was defined according to the Mannheim criteria as a focal protrusion in the lumen of the arterial vessel with a thickness $>50\%$ of the adjacent IMT, or a diffuse thickening of the CIMT >1.5 mm (23). We defined the presence of subclinical carotid atherosclerotic disease if a pathological CIMT was present and/or any carotid atherosclerotic plaque was found.

Carotid plaque volume was determined by 3D-vascular ultrasound ($n = 49$). 3D-vascular ultrasound was performed on a Philips Epiq ultrasound machine equipped with the volumetric linear probe VL 13-5 2D/3D (Philips Health Care, Andover, MA, USA) which performs an automatic axial scan with a volumetric reconstruction of a segment about 6 cm (acquisition of 30°) of the studied blood vessel. The analysis was carried out with the Vascular Plaque Quantification (VPQ) semiautomatic software part of QLAB 10.5.

There is currently no standard definition of atherosclerosis plaque using 3DVUS, and subclinical carotid atherosclerotic disease was therefore defined using the above defined criteria for 2DVUS. All the image analyses were carried out in a blind way regarding clinical and analytical data.

Coronary calcium score (CCS) was carried out on 35 participants using a computerized axial tomography equipment of 160 detectors (Aquilion, Toshiba Medical Systems Corp.) with a non-contrast protocol of low radiation dose and with ECG synchronization and the analysis was performed following the Agatston method, by calculating the percentiles of normality adjusted for age and sex according to MESA study (24).

UACR was measured in a random sample of the morning urine to determine the presence of microalbuminuria, establishing a UACR level >30 mg/g (25) as a pathological level. Presence of LVH was determined with the help of echocardiography as a septal thickness ≥ 11 mm defined in a parasternal view of the long axis of the heart (26).

Laboratory Determination of Plasma Molecules

Blood samples were collected in Vacutainer 5 mL tubes with EDTA, centrifuged at 2,500 rpm, 4°C for 10 min, and resulting plasma stored at -40°C . Plasma level of adipokines (adiponectin, adiponectin, ghrelin, leptin, omentin-1, resistin and visfatin), soluble endothelial cell adhesion molecules (soluble intercellular adhesion molecule-1 [sICAM-1] and soluble vascular cell adhesion molecule-1 [sVCAM-1]) and other endothelial cell-related factors (vascular endothelial growth factor [VEGF] and plasminogen activator inhibitor-1 [PAI-1]) was determined by multiplex immunoassay analysis (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) with the help of the Lumines[®] xMAP[™] analytical system (xMAP technology, Austin, TX).

Statistical Analysis of the Data

The results were expressed as the mean \pm standard deviation (SD) for the quantitative variables and number and percentage for the qualitative variables. Its distribution was determined by the Kolmogorov-Smirnov statistical test, subsequently applying parametric or non-parametric tests whether or not they followed a normal distribution. Comparisons among groups were carried out using the T-Student and χ^2 tests for independent samples, having quantitative and qualitative variables respectively, or their nonparametric equivalents, as appropriate. Odds ratio association measures were used for qualitative variables and Pearson correlation coefficients for quantitative variables. A p -value <0.05 was considered statistically significant. The analysis was performed using the SPSS 20.0 program software (SPSS Institute, France).

Results

Clinical and Laboratory Identification of Subjects with MetS and Asymptomatic CVD

A homogeneous population of 78 non-smoking Caucasian subjects with regard to their age (46.5 year old on average) and absence of CVD events or early CVD family histories was recruited on the basis of inclusion/exclusion criteria listed in Materials and Methods. In addition, the clinical profile of subjects at baseline was similar in order to minimize confounding effects of medications and lifestyle factors in the present study. As shown in Table 1, two subgroups were defined: MetS patients, including 59 patients with 3 or more MetS components, with an average age of 48 ± 8 years and being 22% female; and control patients, including 19 patients having from 0–2 MetS components, an average age of 41 ± 8 years and being 58% female. Table 2 summaries clinical parameters, blood lab test and CVD risk in the 2 groups of subjects, with statistically significant changes in their average blood levels of

Table 1. Demographic and clinical features of the enrolled subjects sorted by metabolic syndrome components

	With MetS	Without MetS	<i>p</i>
	(<i>n</i> = 59)	(<i>n</i> = 19)	
Age (years)	48.47 ± 7.94	40.58 ± 8.08	0.001
Number of Males (%)	46 (78%)	8 (42%)	0.003
High waist circumference, <i>n</i> (%) (≥102 cm for men, ≥88 cm for women)	51 (86.4%)	5 (26.3%)	0.001
High BP, <i>n</i> (%) (SBP ≥ 130 and/or DBP ≥ 85 mm Hg)	50 (84.7%)	2 (10.5%)	0.001
Low HDL blood level, <i>n</i> (%) (<40 mg/dL for men, <50 mg/dL for women)	34 (57.6%)	1 (5.3%)	0.001
High TG blood level, <i>n</i> (%) (≥150 mg/dL)	42 (71.2%)	2 (10.5%)	0.001
High fasting blood glucose, <i>n</i> (%) (≥100 mg/dL)	45 (76.3%)	7 (36.8%)	0.002
No MetS Components	0 (0.0%)	7 (36.8%)	
1–2 MetS Components	0 (0.0%)	12 (63.2%)	
≥3 MetS Components	59 (100%)	0 (0.0%)	

MetS, metabolic syndrome; BP, blood pressure; TG, triglyceride. Normally distributed data are presented as means ± standard deviation (SD) categorical data are presented as the number (percentage).

HDL cholesterol, Triglycerides, glucose and HbA1c; and consistent with previous works, patients with and without MetS were further defined by their statistically significant

Table 2. Clinical, laboratory parameters and CVD risk estimation in subjects with and without MetS

	With MetS	Without MetS	<i>p</i>
	(<i>n</i> = 59)	(<i>n</i> = 19)	
WC (cm)	108.42 ± 13.16	89.32 ± 11.84	0.001
SBP, mmHg	135.51 ± 20.01	115.79 ± 12.05	0.001
DBP, mmHg	86.10 ± 12.07	71.74 ± 7.99	0.001
High BP Therapy, <i>n</i> (%)	31 (52.5%)	2 (10.5%)	0.003
Cholesterol (mg/dL)	209.59 ± 43.49	198.95 ± 35.36	0.336
LDL-C (mg/dL)	128.88 ± 39.68	121.21 ± 26.33	0.434
HDL-C (mg/dL)	46.07 ± 11.67	58.05 ± 15.08	0.001
TG (mg/dL)	190.78 ± 109.91	91.10 ± 50.81	0.001
Lipid-lowering drugs, <i>n</i> (%)	20 (33.9%)	0 (0.0%)	0.045
Glucose (mg/dL)	105.06 ± 19.41	95.61 ± 9.06	0.006
Insulin (uU/mL)	12.10 ± 13.29	6.32 ± 4.30	0.006
HOMA-IR	3.50 ± 4.3	1.34 ± 0.72	0.001
HbA1c (%)	5.82 ± 0.71	5.44 ± 0.29	0.001
Antidiabetic drugs, <i>n</i> (%)	10 (17%)	0 (0.0%)	0.208
SCORE	1.08 ± 1.07	0.10 ± 0.31	0.001
ASCVD (%)	5.94 ± 4.71	1.07 ± 1.06	0.001
Life Time Risk (%)	50.08 ± 12.55	33.11 ± 14.70	0.001

MetS, metabolic syndrome; WC, waist circumference; SBP; systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; TG, triglyceride; ASCVD: atherosclerotic cardiovascular disease; HbA1c: glycated hemoglobin A1c; HOMA-IR: homeostasis model assessment-insulin resistance; LDL-C: low density lipoprotein Cholesterol; HDL: high.

changes in the calculated CVD risk indices (Score, ASCVD and 30 year-Lifetime risk).

Not surprisingly, 72.9% of MetS patients had subclinical carotid vascular disease (SCD), as defined by CIMT >0.9 mm and/or carotid atherosclerotic plaque (Table 3). Moreover, average CIMT significantly changed between patients with and without MetS, and there was a strong association between pathological CIMT and MetS status (Odds Ratio = 7.52, 95% CI: 2.33–24.27, *p* = 0.001). Furthermore, while 60% of all subjects had calcified coronary artery (CCA), 90.5% of them were MetS patients, with statistically significant differences in the coronary calcium score (CCS) between patients with and without MetS (69.3 vs 5.2, *p* = 0.015).

LVH (≥11 mm) and microalbuminuria (UMA >30 mg/g) were detected in 37.3% and 5.1% of patients with MetS, respectively, without being detected in patients without MetS (Table 3).

Assessment of adipokines and endothelial cell-associated molecules as predictive biomarkers of subclinical carotid atherosclerosis and high-risk plaque occurrence.

Levels of major plasma adipokines and endothelial cell-associated molecules were studied using a multianalyte assay. As shown in Table 4, blood levels of specific molecules associated with vascular physiology—including sICAM-1, sVCAM-1, VEGF and PAI-1—remarkably increased in patients with MetS compared to patients without MetS. In contrast, there were not statistically significant differences in the blood levels of studied adipokines, except for Omentin-1, between patients with and without MetS. Neither high BP-therapy, nor lipid-lowering and antidiabetic drugs did significantly alter the plasma level of adipokines and endothelial cell-associated molecules in treated versus to non-treated MetS patients.

Table 3. Subclinical cardiovascular disease parameters

	With MetS	Without MetS	<i>p</i>
	(<i>n</i> = 59)	(<i>n</i> = 19)	
CIMT (mm)	1.10 ± 0.57	0.75 ± 0.32	0.002
CIMT > 0.9 mm	43 (72.9%)	5 (26.3%)	0.001
Presence of carotid plaque	15 (25.4%)	0 (0%)	0.016
LVH > = 11 mm	22 (37.3%)	0 (0.0%)	0.001
UACR Value (mg/g)	5.58 ± 9.08	3.07 ± 2.96	0.074
Microalbuminuria (UACR > 30 mg/g)	3 (5.1%)	0 (0.0%)	0.752
CCA	19 (63.3%)	2 (40%)	0.886
CCS	69.33 ± 134.16	5.25 ± 8.06	0.015
CCS > 100	7 (23.3%)	0 (0.0%)	0.559

MetS, metabolic syndrome; CIMT: carotid intima-media thickness; LVH: Left ventricular hypertrophy; UACR: albumin to creatinine ratio; UMA; CCA, Calcified coronary artery; CCS: Coronary calcium score (it was performed to 35 subjects, 30 of them with MetS and 5 without). Normally distributed data are presented as means ± standard deviation (SD) categorical data are presented as the number (percentage).

Table 4. Plasmatic level of adipokines and endothelial cell-associated molecules in patients with and without Metabolic Syndrome and their clinical significance in patients with subclinical carotid disease (SCD) and high CIMT

Biomarker panel	With MetS	Without MetS	<i>p</i>	With SCD	Without SCD	CIMT correlation		
	(<i>n</i> = 59)	(<i>n</i> = 19)		(<i>n</i> = 55)	(<i>n</i> = 23)	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
ICAM-1 (ng/mL)	186.70 ± 65.88	158.38 ± 48.04	0.016	199.31 ± 63.21	148.57 ± 48.95	0.001	0.36	0.001
VCAM-1 (ng/mL)	288.30 ± 59.34	256.69 ± 54.96	0.050	294.28 ± 60.40	258.71 ± 51.89	0.007	0.34	0.002
VEGF (pg/mL)	46.04 ± 44.60	29.85 ± 28.79	0.073	39.26 ± 34.57	46.41 ± 51.24	0.467	-0.127	0.274
PAI-1 (ng/mL)	4.76 ± 2.44	8.05 ± 2.89	0.001	15.43 ± 12.85	9.45 ± 6.86	0.009	0.182	0.113
Adiponectin (µg/mL)	4.26 ± 2.76	4.53 ± 2.08	0.653	4.16 ± 2.71	4.57 ± 2.41	0.663	-0.16	0.162
Adipsin (µg/mL)	0.89 ± 0.34	0.72 ± 0.19	0.122	0.83 ± 0.20	0.86 ± 0.44	0.217	0.10	0.406
Ghrelin (pg/mL)	725.81 ± 310.47	739.66 ± 358.05	0.881	700 ± 291	775 ± 362	0.874	-0.10	0.405
Leptin (ng/mL)	7.79 ± 6.99	7.27 ± 6.34	0.763	6.99 ± 4.64	8.73 ± 9.27	0.825	0.01	0.960
Omentin-1 (ng/mL)	13.00 ± 10.10	17.03 ± 10.97	0.050	13.29 ± 10.45	15.26 ± 10.43	0.848	-0.14	0.270
Resistin (ng/mL)	3.39 ± 1.25	3.24 ± 1.18	0.648	3.37 ± 1.25	3.34 ± 1.22	0.887	-0.08	0.461
Visfatin (ng/mL)	3.48 ± 5.71	2.43 ± 2.33	0.282	3.52 ± 5.96	2.70 ± 3.05	0.173	0.08	0.536

MetS, metabolic syndrome; ICAM-1: intercellular adhesion molecule 1; PAI-1: plasminogen activator inhibitor-1; VCAM-1: vascular cell adhesion molecule 1; VEGF: vascular endothelial growth factor; SCD: subclinical carotid disease; CIMT: carotid intima-media thickness. Normally distributed data are presented as mean values ± standard deviation (SD).

Consistent with these data, the average plasma levels of endothelial cell-associated molecules showed significant differences when subjects were sorted by presence of subclinical carotid disease (SCD) (Table 4). To this respect, a statistically significant association was detected between SCD and plasma levels of sICAM-1 (OR: 14.57, 95% CI 2, 56–82.73, $p < 0.001$), sVCAM-1 (OR: 7.33, 95% CI: 1.58–33.96, $p = 0.007$) and PAI-1 (OR: 7.80, 95% CI %: 1.04–22.10, $p = 0.036$). Interestingly, an exception was VEGF, whose average values significantly changed in patients sorted by MetS, but not by SCD, due to its remarkable augmentation (by 35%) in patients without SCD.

Similarly, sICAM-1 ($r = 0.36$, $p = 0.001$) and sVCAM-1 ($r = 0.34$, $p = 0.002$)—but not VEGF, PAI-1 and any of studied adipokines—significantly correlated with CIMT augmentation (Figure 1). Moreover, of 49 patients who underwent 3D carotid ultrasonography, 36 (73.4%) showed subclinical atherosclerosis and their volume of plaque—a measure of the burden of atherosclerosis and ultimately of the intensity of the vascular wall damage—significantly correlated ($r = 0.40$, $p = 0.045$) with sICAM-1 blood level, but not with any other of studied blood factors. However, non-statistically significant correlations were found between studied cardiomyopathy parameters (CCS and LVH), which further confirmed the strong association of studied endothelial cell-associated molecules, and in particular sICAM-1, to carotid parameters defining subclinical atherosclerosis in MetS patients.

Finally, the levels of sICAM-1 ($r = 0.30$, $p = 0.008$), sVCAM-1 ($r = 0.25$, $p = 0.025$) and PAI-1 ($r = 0.33$, $p = 0.003$) also showed positive correlation with CVD risk using the ASCVD scale (Figure 2), and sICAM-1, but not other studied factors, showed positive correlation

($r = 0.21$; $p = 0.05$) with the Lifetime Risk scale (30 year estimate). In contrast, Omentin-1 showed a statistically significant negative correlation with ASCVD ($r = -0.27$, $p = 0.023$) (Figure 2).

Discussion

Although MetS clinically identifies individuals with significant CVD risk (6,7,10), it encompasses a very heterogeneous population in terms of CVD risk (8–10), and the identification of key molecular biomarkers further refining the presence of asymptomatic atherosclerotic damage may be a cost-effective intermediate step to identify subjects at higher risk for presenting accelerated atherosclerotic disease before more expensive evaluations such as advanced imaging indicated by specialists.

In this study we demonstrated that high plasma levels of sICAM-1, sVCAM-1 and PAI-1 molecules correlate with subclinical atherosclerotic disease as assessed by 2D vascular wall ultrasound imaging; and that plasma levels of sICAM-1 also correlate with the severity of the atherosclerotic burden, as shown by 3D vascular ultrasound imaging. This association was relevant considering that the plaque volume by 3D vascular ultrasound is an accurate and reproducible method for the detection and quantification of the actual burden of atherosclerosis (27,28). More importantly, these results were obtained in non-smoking patients with MetS, free of CVD events and a relatively early age (46.5 years on average).

Low-grade inflammation and impaired endothelial function precede atherosclerosis and sICAM-1/sVCAM-1 and PAI-1 are well-known molecules involved in the pathogenesis of atherosclerotic plaque preceding its clinical pathophysiology (29,30). In our study, increased plasma level

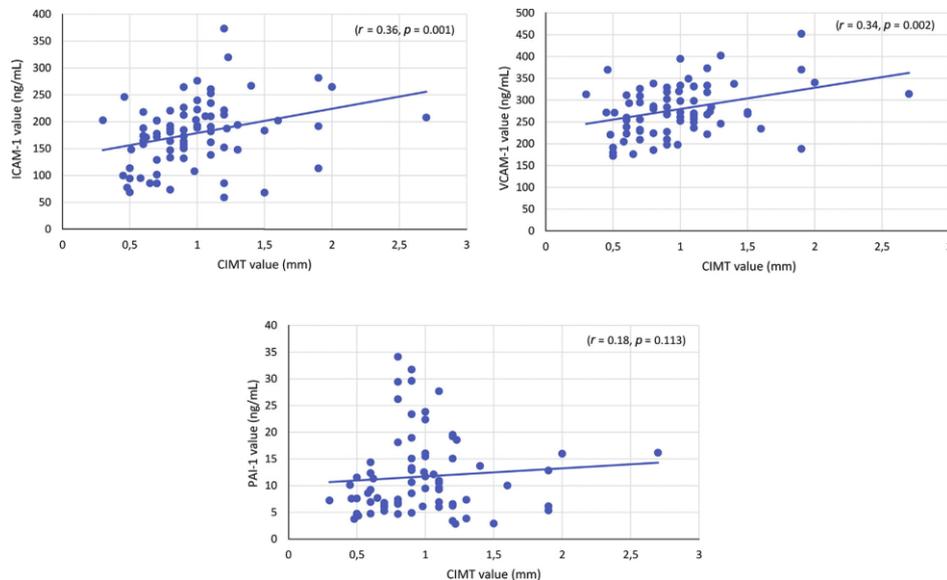


Figure 1. Correlation between plasma levels of sICAM-1, sVCAM-1 and PAI-1 and the carotid intima media thickness (CIMT).

of these molecules identified individuals whose arteriosclerotic lesions was quantitatively measured by carotid imaging, although clinically asymptomatic (30). Interestingly, while identification of carotid plaques requires highly specialized infrastructure and personnel, with limitations such as high inter-operator variability and restrictions in non-specialized clinical centers, plasma sICAM-1/sVCAM-1 and PAI-1 level determination on a routine basis could represent a simple, cost-efficient strategy to discern vascular damage in a large, heterogeneous population which would potentially benefit from intensive treatment.

sICAM-1 and sVCAM-1 are circulating soluble forms of homonymous endothelial cell surface molecules modulating the adhesion and migration of leukocytes with the help of integrins LFA-1 and VLA-4. Their blood levels are low in healthy individuals, but interaction of circulating leukocytes with sICAM-1 and sVCAM-1 induces endothelial release of their soluble forms via cleavage of the ICAM-1 ectodomain by multiple proteases (MMP9, TACE, elastase, etc) (31,32). Therefore, their increased blood levels reflects their expression on the blood vessel walls and should be considered a clinical sign of developing inflammation-dependent disorders, including atherosclerosis. In the present work, both sICAM-1 and sVCAM-1 were closely correlated with early atherosclerotic disease

even at low/intermediate CVD risk non-smoking patients. How sICAM-1 and sVCAM-1 are contributing to progression of atherosclerosis is yet to be defined. On the one hand, binding of these soluble adhesion molecules to the circulating leukocyte receptors before they contact vascular wall has anti-adhesive consequences for these, which may limit immuno-inflammatory response. However, it has been reported that macrophage response to sICAM-1 leads to MIP-2 and TNF- α production via NFkappaB-dependent mechanism which in turn intensifies inflammation (33). A proinflammatory balance may prevail in MetS patients with high blood levels of sICAM-1 and sVCAM-1 promoting atherosclerosis.

Regarding PAI-1, numerous studies have shown its relationship with pro-inflammatory and atherogenic state (34,35), and some authors have even proposed PAI-1 augmentation as an additional component of MetS (36). In the present work, the strong association with SCD in patients with MetS (OR of 7.80) adds further insights on the use of this molecule as a CVD risk biomarker in MetS. However, no statistically significant correlation was found between PAI-1 levels and CIMT, suggesting that association between atherosclerotic damage and PAI-1 level is indirect compared to sICAM-1 and sVCAM-1.

Omentin-1 level was the only adipokine showing a statistically significant association with CVD risk assessed

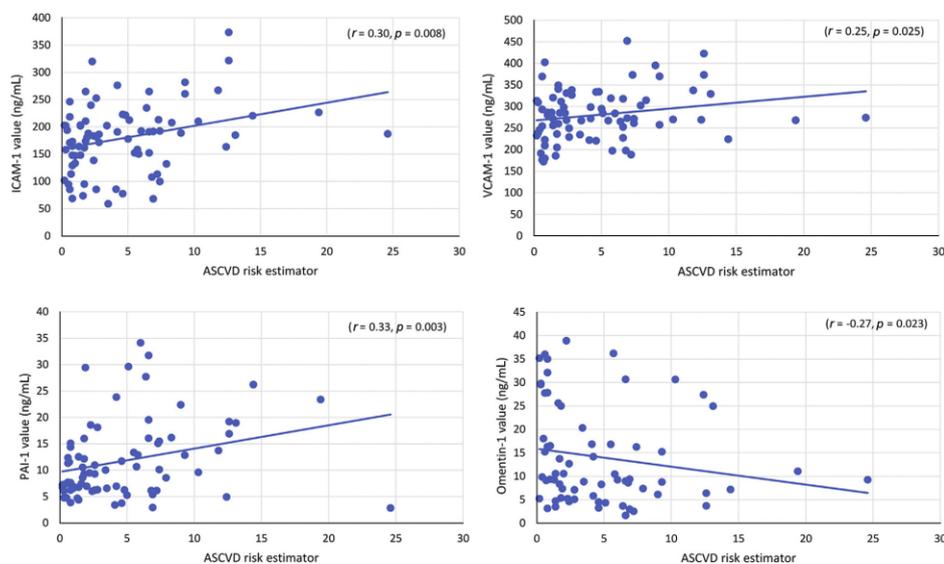


Figure 2. Correlation between adipokines and endothelial cell-associated molecules and the ASCVD risk estimation.

according to the ASCVD scale. This finding is consistent with previous studies on the association between the fall of Omentin-1 levels and CVD, especially with coronary arteriosclerosis (37,38). Under physiological conditions, Omentin-1 exerts a vasodilatory and suppressive action on the endothelial cell expression of ICAM-1, decreasing the chemotaxis of neutrophils and inflammatory monocytes (39). The decrease in Omentin-1 concentration seems to be involved in the development of coronary disease, low levels of Omentin being correlated with decreased eNOS-dependent coronary vasodilation and inflammation (40). Besides Omentin-1, other adipokines did not show any significant relationship with subclinical CVD. One explanation could be that plasma levels of adipokines are more related to the presence of CVD risk factors than to the development and progression of atherosclerosis (41). In this way, our data provide a different view highlighting the leading role of dysfunctional endothelial cell factors (sICAM-1, sVCAM-1 and PAI-1) as earlier biomarkers of atherosclerotic disease than adipokines.

The main limitation of our work is the observational nature of the study with a limited number of patients, with short clinical follow-up, which does not allow to report results on their clinical evolution. However, the fact that smokers were excluded, together with the low age of inclusion to patients younger than 60 years, made the studied

cohort more homogeneous, avoiding two major determinants of the evolution of the atherosclerosis process which are unrelated to the mechanism of insulin resistance. In addition, the relatively young age of studied patients made it possible to verify the high prevalence of subclinical CVD in this age range, as previously described (42,43).

Conclusion

Plasma levels of sICAM-1, sVCAM-1 and PAI-1 (especially sICAM-1) are useful plasma biomarkers to alert on subclinical atherosclerotic disease. Therefore, a simple molecular panel could allow the early identification of non-smoker middle-aged (younger 50 years) MetS subjects at higher cardiovascular risk, in whom more effective primary prevention measures should be addressed.

Conflict of Interest

The authors declare that they have no competing interests.

Funding Sources

This work was partly funded by the ISCIII, Spain (grant number PI12 3050 to FVV) and the Santander Bank (Banco

Santander), United States (grant number MUSPB067 to ISV and JFV) jointly with research funds from the Fostering Program for Health Research Entities of the ISCIII (grant number ADE09/90041 to FVV, for the foundation and early development of the Institute of Applied Molecular Medicine/Instituto de Medicina Molecular Aplicada, IMMA).

References

- Khot UN, Khot MB, Bajzer CT, et al. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA* 2003;290:898–904.
- Marrugat J, Villa J, Baena-Diez JM, et al. Validez relativa de la estimación del riesgo cardiovascular a 10 años en una cohorte poblacional del estudio REGICOR. *Rev Esp Cardiol* 2011;64:385–394.
- Alfonso F, Segovia J, Heras M, et al. Prevención cardiovascular: ¿siempre demasiado tarde? *Rev Esp Cardiol* 2008;61:291–298.
- Marrugat J, Sala J. Nuevos instrumentos y los riesgos de siempre. *Rev Esp Cardiol* 2007;60:464–467.
- Marrugat J, Subirana I, Comin E, et al. Validity of an adaptation of the Framingham cardiovascular risk function: the VERIFICA study. *J Epidemiol Community Health* 2007;61:40–47.
- Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1595–1607.
- Alberti KG, Eckel R, Grundy SM, et al. Harmonizing the Metabolic Syndrome: A Joint Interim Statement. *Circulation* 2009;120:1640–1645.
- Reaven GM. The metabolic syndrome: time to get off the merry-go-round? *J Intern Med* 2011;269:127–136.
- Kahn R. Metabolic Syndrome. Is it a syndrome? Does it matter? *Circulation* 2007;115:1806–1811.
- Grundy SM. Metabolic syndrome update. *Trends Cardiovasc Med* 2016;26:364–373.
- Fernández Bergés D, Cabrera de Leon A, Sanz H, et al. Síndrome metabólico en España: prevalencia y riesgo coronario asociado a la definición armonizada y a la propuesta por la OMS. Estudio DARIOS. *Rev Esp Cardiol* 2012;65:241–248.
- Kondo K, Kitagawa K, Nagai Y, et al. Associations of soluble intercellular adhesion molecule-1 with carotid atherosclerosis progression. *Atherosclerosis* 2005;179:155–160.
- Luc G, Arveiler D, Evans A, et al. For the Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction (PRIME) study group. Circulating soluble adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 and incident coronary heart disease: the PRIME Study. *Atherosclerosis* 2003;170:169–176.
- Hong SB, Lee JJ, Kim SH, et al. The effects of adiponectin and inflammatory cytokines on diabetic vascular complications in obese and non-obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 2016;111:58–65.
- Ingelsson E, Hulthe J, Lind L. Inflammatory markers in relation to insulin resistance and the metabolic syndrome. *Eur J Clin Invest* 2008;38:502–509.
- Fuster V, Moreno PR, Fayad ZA, et al. Atherothrombosis and high-risk plaque: part I: evolving concepts. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:937–954.
- Fuster V, Fayad ZA, Moreno PR, et al. Atherothrombosis and high-risk plaque: part II: approaches by noninvasive computed tomographic/magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1209–1218.
- Sillescu H, Muntendam P, Adourian A, et al. Carotid plaque burden as a measure of subclinical atherosclerosis: comparison with other tests for subclinical arterial disease in the High Risk Plaque Bio-Image study. *JACC Cardiovasc Imaging* 2012;5:681–689.
- Baber U, Mehran R, Sartori S, et al. Prevalence, impact, and predictive value of detecting subclinical coronary and carotid atherosclerosis in asymptomatic adults: The BioImage Study. *J Am Coll Cardiol* 2015;65:1065–1074.
- Sans S, Fitzgerald AP, Royo D, et al. Calibración de la tabla SCORE de riesgo cardiovascular para España. *Rev Esp Cardiol* 2007;60:476–485.
- Lloyd-Jones DM, Huffman MD, Karmali KN, et al. Estimating longitudinal risks and benefits from cardiovascular preventive therapies among medicare patients: the million hearts longitudinal ASCVD risk assessment tool: a special report from the American Heart Association and American College of Cardiology. *Circulation* 2017;135:e793–e813.
- Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, et al. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr* 2008;21:93–111. quiz 189–190.
- Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, et al. Mannheim intima-media thickness consensus. *Cerebrovasc Dis* 2004;18:346–349.
- McClelland RL, Chung H, Detrano R, et al. Distribution of coronary artery calcium by race, gender, and age: results from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Circulation* 2006;113:30–37.
- Toto RD. Microalbuminuria: definition, detection, and clinical significance. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2004;6(11 Suppl 3):2–7.
- Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2015;16:233–270.
- López-Melgar B, Fernández-Friera L, Oliva B, et al. Subclinical atherosclerosis burden by 3D ultrasound in mid-life: The PESA Study. *J Am Coll Cardiol* 2017;70:301–313.
- López-Melgar B, Fernández-Friera L, Sánchez-González J, et al. Accurate quantification of atherosclerotic plaque volume by 3D vascular ultrasound using the volumetric linear array method. *Atherosclerosis* 2016;248:230–237.
- Gómez Rosso L, Benítez MB, Fornari MC, et al. Alterations in cell adhesion molecules and other biomarkers of cardiovascular disease in patients with metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 2008;199:415–423.
- Poston RN, Haskard DO, Coucher JR, et al. Expression of intercellular adhesion molecule-1 in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol* 1992;140:665–673.
- Lawson C, Wolf S. ICAM-1 signaling in endothelial cells. *Pharmacol Rep* 2009;61:22–32.
- Witkowska AM, Borawska MH. Soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1): an overview. *Eur Cytokine Netw* 2004;15:91–98.
- Schmal H, Czernak BJ, Lentsch AB, et al. Soluble ICAM-1 activates lung macrophages and enhances lung injury. *J Immunol* 1998;161:3685–3693.
- Vaughan DE. PAI-1 and atherothrombosis. *J Thromb Haemost* 2005;3:1879–1883.
- Alessi MC, Juhan-Vague I. PAI-1 and the metabolic syndrome: links, causes, and consequences. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:2200–2207.
- Mertens I, Verrijken A, Michiels JJ, et al. Among inflammation and coagulation markers, PAI-1 is a true component of the metabolic syndrome. *Int J Obes (Lond)* 2006;30:1308–1314.

37. Shibata R, Ouchi N, Kikuchi R, et al. Circulating omentin is associated with coronary artery disease in men. *Atherosclerosis* 2011;219: 811–814.
38. Onur I, Oz F, Yildiz S, et al. Serum omentin 1 level is associated with coronary artery disease and its severity in postmenopausal women. *Angiology* 2014;65:896–900.
39. Yamawaki H, Tsubaki N, Mukohda M, et al. Omentin, a novel adipokine, induces vasodilation in rat isolated blood vessels. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;393:668–672.
40. Maruyama S, Shibata R, Kikuchi R, et al. Fat-derived factor omentin stimulates endothelial cell function and ischemia-induced revascularization via endothelial nitric oxide synthase-dependent mechanism. *J Biol Chem* 2012;287:408–417.
41. Deng Y, Scherer PE. Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 2010;1212: E1–E19.
42. Berry JD, Liu K, Folsom AR, et al. Prevalence and progression of subclinical atherosclerosis in younger adults with low short-term but high lifetime estimated risk for cardiovascular disease: the coronary artery risk development in young adults study and multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circulation* 2009;119:382–389.
43. Fernandez-Friera L, Penalvo JL, Fernandez-Ortiz A, et al. Prevalence, vascular distribution, and multiterritorial extent of subclinical atherosclerosis in a middle-aged cohort: The PESA (Progression of Early Subclinical Atherosclerosis) Study. *Circulation* 2015;131: 2104–2113.

