



UNIVERSIDAD DE  
TALCA

UNIVERSIDAD DE TALCA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

ESTUDIO DE NIVELES SÉRICOS DE sVCAM-1, sCD40L Y  
sE-SELECTINA EN PACIENTES CON SÍNDROME METABÓLICO Y  
GRUPO CONTROL

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO  
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA

ALUMNO JULIO JARAMILLO CÓRDOVA.  
PROFESOR GUÍA: IVÁN PALOMO G.

TALCA-CHILE  
2007

## **Agradecimientos**

En primer lugar quiero dar las gracias a mi familia, a mi papá Cayetano Jaramillo, mi mamá Zoila Elena Córdova que me han apoyado durante todos estos años, a Sabata por alegrarme el día y a Nery por estar siempre preocupada por mi a pesar de la distancia.

Una persona muy importante en todos estos años de estudio es mi polola Marcela Sánchez a quien le agradezco por estar siempre junto a mí, en los buenos y malos momentos.

A mi profesor guía Iván Palomo por la exigencia y confianza durante este proceso, al profesor Marcelo Alarcón y a mi compañero César Gutiérrez por la ayuda prestada en el laboratorio.

## Índice

	Páginas
<b>I.</b> Resumen.	6
<b>II</b> Introducción.	7
<b>III.</b> Objetivo.	9
<b>IV.</b> Revisión bibliográfica.	10
1. Síndrome Metabólico.	10
1.1. Factores de riesgo.	14
1.2. Inflamación.	17
1.3. Citoquinas proinflamatorias e interacción de las moléculas de adhesión en la pared vascular.	18
2. Moléculas de adhesión.	21
2.1. CD40L.	22
2.2. E-selectina.	25
2.3. VCAM-1.	26
3. Participación de las moléculas de adhesión en la enfermedad aterosclerótica.	27
<b>V.</b> Sujetos y Métodos.	30
<b>VI.</b> Resultados.	35
<b>VII.</b> Discusión.	54
<b>VIII.</b> Conclusión.	59
<b>IX.</b> Bibliografía.	60

## Índice de Tablas

	Páginas
Tabla 1. Características de la población en estudio.	33
Tabla 2. Factores de riesgo cardiovascular alterados en el grupo SM y Control.	34
Tabla 3. Niveles séricos de sVCAM-1, sCD40L y sE-selectina.	36
Tabla 4. Correlación de los distintos parámetros con las moléculas en estudio.	47

## Índice de Figuras

	Páginas
Figura 1: patogenia y consecuencias del síndrome metabólico	13
Figura 2: Algunos efectos moleculares pro-inflamatorios, pro-proliferativos y pro-trombóticos del síndrome metabólico.	18
Figura 3. Activación de moléculas de adhesión en la superficie endotelial por acción de diversas citoquinas.	20
Figura 4. Funciones de sCD40L liberado desde las plaquetas durante la trombosis	24
Figura5. Liberación de sCD40L durante la activación plaquetaria	24
Figura 6. Niveles de sVCAM-1 en el suero de 93 pacientes con SM y 92 grupo control.	37
Figura 7. Niveles de sCD40L en el suero de 93 pacientes con SM y 92 grupo control.	38
Figura 8. Niveles de sE-selectina en el suero de 93 pacientes con SM y 92 grupo control.	39
Figura 9. Niveles de sVCAM-1 en el suero de 49 mujeres con SM y 55 mujeres grupo control.	40
Figura 10. Niveles de sVCAM-1 en el suero de 44 hombres con SM y 37 hombres grupo control.	41
Figura 11. Niveles de sCD40L en el suero de 49 mujeres con SM y 55 grupo control.	42
Figura 12. Niveles de sCD40L en el suero de 44 hombres con SM y 37 Hombres grupo control.	43
Figura 13. Niveles de sE-selectina en el suero de 49 mujeres con SM y 55 mujeres sin grupo control	44
Figura 14. Niveles de sE-selectina en el suero de 44 hombres con SM y 37 Hombres grupo control.	45

	Páginas
Figura 15. Correlación entre niveles séricos de sVCAM-1 y diámetro de cintura en el total de personas en estudio.	48
Figura 16. Correlación entre niveles séricos de sVCAM-1 y presión sistólica en el total de personas en estudio	48
Figura 17. Correlación entre niveles séricos de sVCAM-1 y presión diastólica en el total de personas en estudio.	49
Figura 18. Correlación entre niveles séricos de sVCAM-1 y colesterol HDL en el total de personas en estudio	49
Figura 19. Correlación entre niveles séricos de sE-selectina y presión diastólica en el grupo control	50
Figura 20. Correlación entre niveles séricos de sE-selectina. y diámetro de cintura en el grupo control	50
Figura 21. Correlación entre los niveles séricos de sE-selectina y peso en el grupo control	51
Figura 22. Correlación entre los niveles séricos entre sVCAM-1 y presión diastólica en hombres con SM	51
Figura 23. Correlación entre los niveles séricos de sE-selectina y presión diastólica en mujeres del grupo control.	52
Figura 24. Correlación entre los niveles séricos de sE-selectina y diámetro de cintura en mujeres del grupo control	52
Figura 25. Correlación entre los niveles séricos entre sE-selectina y peso en mujeres del grupo control	53
Figura 26. Correlación entre niveles séricos de sVCAM-1 y diámetro de cintura en hombres del grupo control.	53

## I. Resumen

En el presente trabajo se estudiaron los niveles séricos de sVCAM-1, sE-Selectina y sCD40L, en individuos con Síndrome Metabólico (SM) y se compararon con un grupo control.

**Sujetos y métodos:** Se incluyó 185 personas entre 45 y 64 años, no fumadores; de ellos 93 corresponden a pacientes con SM y 92 a un grupo control. El criterio utilizado para SM fue ATPIII modificado. La concentración sérica de sVCAM-1, sE-Selectina y sCD40L, fue determinada por ELISA comercial de fase sólida. Los resultados son expresados como mediana y percentiles 25 y 75.

**Resultados:** El grupo con SM mostró niveles elevados de sVCAM-1 558.9 ng/mL (481.3-673.1 ng/ml) comparado con el grupo control 405.2 ng/mL (360.6-471.2 ng/ml) ( $p < 0.0001$ ). Igualmente la mediana de sCD40L 3.0 ng/mL (2.11-11.8 ng/ml) en el grupo SM fue significativamente ( $p < 0.0001$ ).mas alta que en el grupo control, 2.6 ng/mL (2.3-3.4 ng/ml). Los niveles de sE-selectina no fueron significativamente diferentes entre los grupos estudiados, 73.9 ng/ml (58.3-87.2 ng/ml) y 68.5 ng/ml (50.8-97.5 ng/ml) en SM y grupo control, respectivamente.

**Conclusiones:** Los niveles séricos de las moléculas de adhesión celular, sVCAM-1 y sCD40L, pero no sE-selectina, son significativamente más altos en personas con SM que en individuos que no presentan SM.

## II. Introducción

El síndrome metabólico (SM) es un concepto complejo, a pesar de las dificultades para unificar sus criterios clínicos ha llegado a ser muy útil y ha generado una enorme actividad en la investigación. Fue reintroducido recientemente dentro del pensamiento común por Reaven en su conferencia de Bating en 1988, Pero las primeras descripciones datan de los años 20 del siglo pasado. El SM es un racimo de factores de riesgo cardiovasculares tales como obesidad, hipertensión, dislipidemias, e intolerancia centrales a la glucosa.

Pues simple y directo podría aparecer la definición del SM pero como se menciona anteriormente hay grandes controversias y cada asociación tiene su propia definición y criterios. Independientemente de su definición el SM no se trata de una simple enfermedad, sino de un grupo de problemas de salud causados por la combinación de factores genéticos y factores asociados al estilo de vida, especialmente la sobrealimentación y la ausencia de actividad física; de forma que el exceso de grasa corporal (particularmente la abdominal) y la inactividad física favorecen el desarrollo de múltiples problemas de salud.

Hoy en día, el SM es una verdadera epidemia no sólo en personas de mediana edad sino también entre adolescentes y ancianos, es importante destacar que el predominio del SM es altamente edad-dependiente por lo tanto con el aumento de la población en envejecimiento su incidencia y predominio aumentarán siempre.

Las personas con SM presentan un estado proinflamatorio el cual se evidencia con niveles elevados de citoquinas como factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (FNT- $\alpha$ ), interleuquina-6 (IL-6) y reactantes de fase aguda. Estas citoquinas promueven la expresión de moléculas de adhesión como VCAM-1, E-selectina y CD40L todas estas moléculas de adhesión son vitales para la interacción adhesiva que es un prerrequisito para el normal accionar de todos los componentes del sistema cardiovascular, pero al existir un estado proinflamatorio se va a producir un aumento de éstas moléculas.



Las moléculas de adhesión como VCAM-1, E-Selectina y CD40L se relacionan de una u otra forma con el SM, por ejemplo CD40L soluble (sCD40L), VCAM-1 soluble (sVCAM-1) y E-Selectina soluble (sE-Selectina) esta relacionado con diabetes mellitus, hipercolesterolemia y angina inestable, además estas moléculas son componentes bien definidos de placas ateroscleróticas y se han propuesto ser marcadores potenciales de aterosclerosis. Las formas solubles de estas moléculas de adherencia pueden ser liberadas de la superficie endotelial y tener un peso molecular más bajo que las moléculas expresadas en las células endoteliales, debido a la ausencia del dominio citoplásmico que sigue en la célula de origen.

### **III. Objetivos**

#### **Objetivo general**

Estudiar los niveles séricos de tres moléculas de adhesión: sVCAM-1, sCD40L y sE-Selectina en pacientes no fumadores con un rango de edad de 45 a 64 años, divididos en dos grupos, uno con SM y un grupo control.

#### **Objetivos específicos**

- a. Relacionar los niveles séricos de sVCAM-1, sCD40L y sE-Selectina con cada uno de los parámetros medidos según la definición de SM por el ATP III modificado, utilizada en el presente trabajo como son obesidad central, hipertrigliceridemia, colesterol HDL, presión sanguínea y glicemia.
- b. Relacionar los niveles séricos de sVCAM-1, sCD40L y sE-Selectina con otros parámetros medidos previamente como son colesterol total, colesterol-LDL e índice de masa corporal (IMC).

## IV. Revisión Bibliográfica

### 1. Síndrome metabólico

Reaven, en 1988, definió como síndrome metabólico o síndrome X a una serie de factores de riesgo coronario que incluían intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia, hipertensión arterial y un perfil lipídico alterado (aumento de triglicéridos y un descenso de las lipoproteínas de alta densidad [HDL]). Posteriormente, se han agregado a este síndrome otras alteraciones, como la obesidad abdominal, presencia de lipoproteínas de baja densidad (LDL), e incremento en las concentraciones de ácido úrico. (National Cholesterol Education Program 2002)

Se han utilizado diferentes términos para referirse a este síndrome: síndrome X, síndrome de resistencia a la insulina, síndrome dismetabólico cardiovascular, síndrome múltiple dismetabólico o simplemente síndrome metabólico (SM). La Organización Mundial de la Salud (OMS) introdujo al SM como categoría de diagnóstico en 1999. Desde entonces otros organismos u organizaciones médicas emitieron sus propios criterios para el SM, incluyendo el grupo europeo para el estudio de la resistencia a la insulina (GEIR), el National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III (NCEP ATP III) y la federación internacional de la diabetes (FID) (Fulop et al., 2006).

El diagnóstico clínico del síndrome metabólico se hace por la presencia de sus atributos. La OMS definió un criterio en pacientes diabéticos tipo 2 o intolerantes a la glucosa o resistentes a la insulina con 2 o más de las siguientes características: obesidad según IMC o relación de perímetro de cintura y cadera, dislipidemia según triglicéridos o C-HDL, hipertensión arterial y microalbuminuria. Esta definición que ha sido aplicada en estudios epidemiológicos tiene la limitación de exigir la realización de exámenes de test de tolerancia a la glucosa y determinaciones de insulinemia y microalbuminuria (World Health Organization, 1999).

El NCEP-ATP III reconoce por primera vez que el síndrome metabólico condiciona un mayor riesgo de enfermedad coronaria, plantea su diagnóstico y tratamiento como un objetivo secundario después de alcanzar las metas para el colesterol LDL (C-LDL) y señala los criterios de diagnóstico que son muy simples y de fácil aplicación clínica a diferencia de lo propuesto por la OMS. Los criterios utilizados son 3 o más de los siguientes: Obesidad central  $> 102$  cm en hombres y  $> 88$  cm en mujeres. Hipertrigliceridemia  $\geq 150$ mg/dl (1.7 mmol/l). HDL colesterol  $< 40$  mg/dl (1.03 mmol/l) hombres,  $< 50$  mg/dl (1.29 mmol/l) mujeres. Hipertensión, presión sanguínea  $\geq 130/85$  mmHg o medicación. Glicemia de ayuno  $\geq 110$  mg/dl (6.1 mmol/l) (Fulop et al 2006). Éste parámetro fue modificado en el 2004 para ser  $\geq 100$  mg/dl (5.6 mmol/l), en acuerdo con la definición puesta por la asociación americana de la diabetes. (Grundy et al.2005)

Una de las definiciones más recientes es la propuesta por la FID, la cual propone como base la obesidad central  $\geq 90$  cm en hombres y  $\geq 80$  cm en mujeres, más de los siguientes parámetros alterados: Triglicéridos elevados  $\geq 150$  mg/dl (1.7 mmol/l) o tratamiento para este. HDL colesterol disminuido  $< 40$  mg/dl (1.03 mmol/l) hombres,  $< 50$  mg/dl (1.29 mmol/l) mujeres o tratamiento para esta anormalidad. Glucosa de ayuno en plasma  $\geq 100$  mg/dl o diagnóstico previo de diabetes tipo 2 (Fulop et al., 2006).

La Encuesta Nacional de Salud realizada por el Ministerio de Salud y ejecutada por el Depto. de Salud Pública de la Escuela de Medicina de la P. Universidad Católica de Chile en el año 2003, sobre una población de 3.619 individuos mayores de 17 años y representativa del país, aplicando los mismos criterios diagnósticos del NCEPATP III, encontró una prevalencia de SM de 22,6%, también similar en hombres y mujeres. En rangos de 17 a 24 años la prevalencia fue de 4,6%, llegando a un 36,5% entre 45 y 64 años y 48% en mayores de 64 años. Es decir, 1 de cada 2 o 3 chilenos mayores de 45 años tiene síndrome metabólico. Esta enorme prevalencia es en gran medida explicable por los estilos de vida poco saludables con altas tasas de sedentarismo y de obesidad. Esta encuesta muestra una prevalencia de 28.1% para la séptima región del Maule (Ministerio de Salud Chile), este valor es superior a la prevalencia a nivel nacional de ahí la inquietud de estudiar esta condición patológica.

El SM es caracterizado por una constelación de factores de riesgo cardiovascular como se menciono anteriormente. La raíz de las causas del síndrome metabólico son obesidad, inactividad física, y factores genéticos. El SM se asocia a un desorden generalizado como es la resistencia a la insulina. Algunos individuos están genéticamente predispuestos a la insulina resistencia (IR). La mayoría de las personas con IR tienen obesidad abdominal. Varios factores de riesgo se han incluido en el SM, la lista siguiente contiene esos factores que estén generalmente aceptados como siendo característicos de este síndrome: (Isomaa 2003; Grundy et al., 2005)

- Obesidad abdominal
- Dislipidemia
- Hipertensión arterial
- Intolerancia a la glucosa o IR
- Estado protrombótico
- Estado proinflamatorio

Debido al alto grado de la asociación de estos factores de riesgo en personas con el síndrome metabólico, es difícil de determinar las contribuciones individuales de cada factor al riesgo. El SM no se trata de una simple enfermedad, sino de un grupo de problemas de salud causados por la combinación de factores genéticos y factores asociados al estilo de vida, especialmente la sobrealimentación y la ausencia de actividad física (Alberti et al., 2005); de forma que el exceso de grasa corporal (particularmente la abdominal) y la inactividad física favorecen el desarrollo de múltiples problemas de salud. La última definición de SM propuesto por la FID menciona que la obesidad central seria la etapa central del síndrome. Esto reconoce el hecho de que la obesidad abdominal es un determinante importante para la patogénesis del SM. Esto acentúa también la relación entre la circunferencia de la cintura y la enfermedad cardiovascular (ECV) y otros componentes incluidos en la definición (Fulop et al., 2006).

La IR y obesidad abdominal según lo discutido parecen ser los procesos más aceptables que pueden explicar el SM incluyendo todos o por lo menos la mayor parte de los componentes (Fig.1). (Isomaa 2003; Fulop et al., 2006)

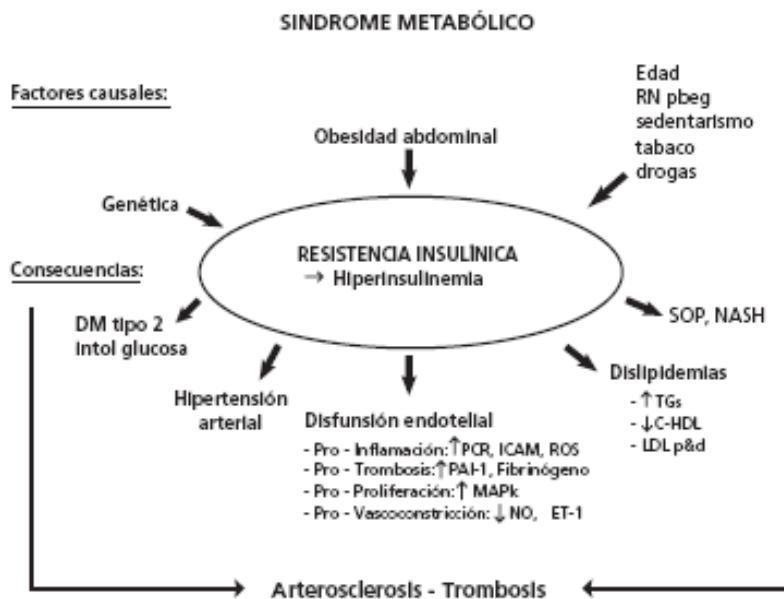


Figura 1: PATOGENIA Y CONSECUENCIAS DEL SÍNDROME METABÓLICO (Fuente: Maiz. 2005).

(RNp/beg = Recién nacido con peso bajo para su edad gestacional; SOP = Síndrome de Ovario Poliquístico; NASH = Esteatohepatitis no alcohólica; PCR = Proteína C reactiva; ICAM = Moléculas de adhesión intercelular; ROS = Especies reactivas de Oxígeno; PAI - 1= Inhibidor del activador del plasminógeno-1; MAPk= Kinasas de proteínas mitogénicas activadas; NO = Óxido nítrico; ET-1 = Endotelina 1; TGs = Triglicéridos; C-HDL = Colesterol de HDL; LDL p&d = LDL pequeñas y densas).

## **1.1. Factores de riesgo**

### **1.1.1 Obesidad**

En general es aceptado que un peso por encima de un 10% del peso ideal constituye un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular, sin embargo es muy difícil valorar este factor en forma independiente, porque generalmente ocurre en un paciente con otros factores de riesgo como la diabetes, la hipertensión arterial y las dislipidemias (Carr et al., 2004).

La obesidad es un factor patogénico importante y más del 80% de los obesos son insulino-resistentes. La expansión de los adipocitos viscerales modifica su actividad endocrino-metabólica con aumento de secreción y niveles plasmáticos de ácidos grasos libres (AGL). Los AGL generan resistencia a la insulina en el músculo al promover la fosforilación del sustrato del receptor de insulina-1(IRS-1) en posición serina en vez de tirosina, lo que se traduce en menor traslocación de los transportadores de glucosa GLUT-4 dependientes de la fosfatidilinositol-3-kinasa. La menor utilización de la glucosa a nivel de adipocitos y células musculares, junto a una mayor producción hepática, por neoglucogenia, son la causa de la hiperglicemia y de la hiperinsulinemia compensadora. (Shepherd et al., 1999; Fulop et al., 2006). Estudios de la biología de los adipositos muestra que además de lo anterior secretan activamente una variedad de hormonas, factores de crecimiento, citoquinas y otras sustancias denominadas adipocitoquinas. Las adipocitoquinas incluyen el TNF- $\alpha$ , entre otras moléculas, la producción no controlada de estas adipocitoquinas participa en la patogénesis de la obesidad asociada al síndrome metabólico tal como la insulina resistencia, diabetes del tipo II, hiperlipidemia y enfermedades vasculares. Estas citoquinas, especialmente el TNF- $\alpha$  estimulan la producción de moléculas de adhesión (Matsuda et al., 2004).

### **1.1.2 Dislipidemias**

La dislipidemia consiste en un conjunto de anormalidades cualitativas y cuantitativas de las lipoproteínas, colesterol y triglicéridos elevados en suero, aumento de las partículas pequeñas de LDL, y un nivel reducido de HDL-C. Muchos estudios indican que un papel importante en el desarrollo del proceso aterosclerótico es la interacción entre los lípidos plasmáticos y la pared vascular, que juegan un papel de primera importancia. En el estudio MRFIT en 350.977 hombres, encontraron una relación significativa entre los niveles de colesterol total y los eventos cerebrovasculares. (Snack FM, 1996)

Es sabido que personas que presentan hipercolesterolemia padecen de una deficiencia de la actividad del óxido nítrico lo cual aumenta el estrés oxidativo y con un aumento en la LDL oxidada, lo cual lleva a la formación de las células espumosas donde tiene un papel importante la molécula VCAM-1 en la primera parte de este proceso (Altman R. 2005). Además estas partículas pequeñas de LDL-col están relacionadas con otros factores de riesgo cardiovascular como diabetes mellitus tipo 2 e hipertrigliceridemia post-prandial (Arauz-Pacheco et al., 2002)

### **1.1.3 Hipertensión**

La hipertensión es uno de los factores de riesgo cardiovascular más importante más aun cuando esta asociado a otros factores de riesgo (Ledford et al., 2002).

Diversos estudios epidemiológicos prospectivos han mostrado un ascenso del riesgo de mortalidad total y cardiovascular al ir aumentando los niveles de presión arterial (diastólica y sistólica). En concreto, según el estudio Framingham (Stytkowski et al., 1996), la hipertensión, aumenta de dos a tres veces el riesgo de todas las enfermedades cardiovasculares arterioscleróticas, en especial la enfermedad cerebrovascular y la insuficiencia cardiaca. Para enfatizar aún más la importancia que supone un óptimo control de la hipertensión arterial (HTA), la OMS publicó en 2002 el riesgo poblacional atribuible que indica la proporción de pérdida de DALYs (*Disability Adjusted Life Years*) o años de



vida saludable que serían evitables al desaparecer un factor de riesgo vascular (The world health report 2002). Así, el mayor riesgo atribuible de discapacidad y de mortalidad en la población anciana del mundo desarrollado en el año 2000 correspondieron a la HTA y a la inactividad física (Franklin SS et al., 1999).

#### **1.1.4 Insulino resistencia**

La resistencia a la insulina se define como una condición caracterizada por una menor actividad biológica de la hormona que se expresa en sus diferentes acciones metabólicas, siendo la más evidente en el metabolismo de la glucosa. Esto se manifiesta en órganos y tejidos como el hígado, tejido adiposo y muscular y también en el endotelio. Un cierto grado de resistencia a la insulina es fisiológico durante la pubertad, en el embarazo y con el envejecimiento, siendo normalmente compensada por una mayor secreción de insulina por las células beta del páncreas (World Health Organization, 1999).

La resistencia a la insulina patológica puede ser secundaria a defectos del receptor de insulina o por trastornos de su acción a nivel post-receptor. Las mutaciones del receptor (se han descrito más de 30 a nivel de sus subunidades  $\alpha$  y  $\beta$ ) son muy severas, muy poco frecuentes y a veces incompatibles con la edad adulta (Shepherd, 1999).

En la gran mayoría de los pacientes que tienen resistencia a la insulina, hay defectos a nivel post-receptor derivados de alteraciones genéticas, que son múltiples (IRS-1, proteinkinasa, glicógeno sintetasa, etc), cuya expresión clínica es favorecida por la concurrencia de factores ambientales, entre los que destaca la obesidad abdominal. El sedentarismo, tabaquismo y algunos medicamentos (diuréticos, betabloqueadores, progestágenos, corticoides) que también facilitan la resistencia a la insulina (Grundy et al., 2005).

## **1.2. Inflamación**

Los factores de riesgo nombrados anteriormente (hipercolesterolemia, hipertensión arterial, diabetes, obesidad, sedentarismo, etc), tienen el común denominador de generar un estrés oxidativo que provoca el bloqueo del elemento inhibitorio (I-KB) que controla la replicación del factor nuclear K-B (FN-KB). Este factor esta conectado con varias decenas de genes involucrados en la inflamación y se encarga de activarlos, como se muestra en la figura 2. (Kon et al., 2005)

Algunos de estos genes tienen la capacidad de generar moléculas de adhesión celular (VCAM-1, integrinas, selectinas) otros liberan citoquinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, etc.), o factores quimiotacticos de atracción y colonización de monocitos, factores de crecimiento, aumento de permeabilidad capilar, etc., todos elementos que contribuyen a producir un ambiente inflamatorio que se intensifica y retroalimenta mientras persistan los factores de riesgo y mantengan el estrés oxidativo. Un ejemplo de esta retroalimentación es la producción de la interleuquina-6 que estimula en el hígado la síntesis de la proteína C reactiva la cual amplifica la respuesta inmunológica en los tejidos estimulando la replicación del FN-KB que induce la producción de moléculas de adhesión leucocitaria y quimotactinas en la célula endotelial (Yeh E, et al. 2001).

## EFFECTOS MOLECULARES EN EL S. METABÓLICO

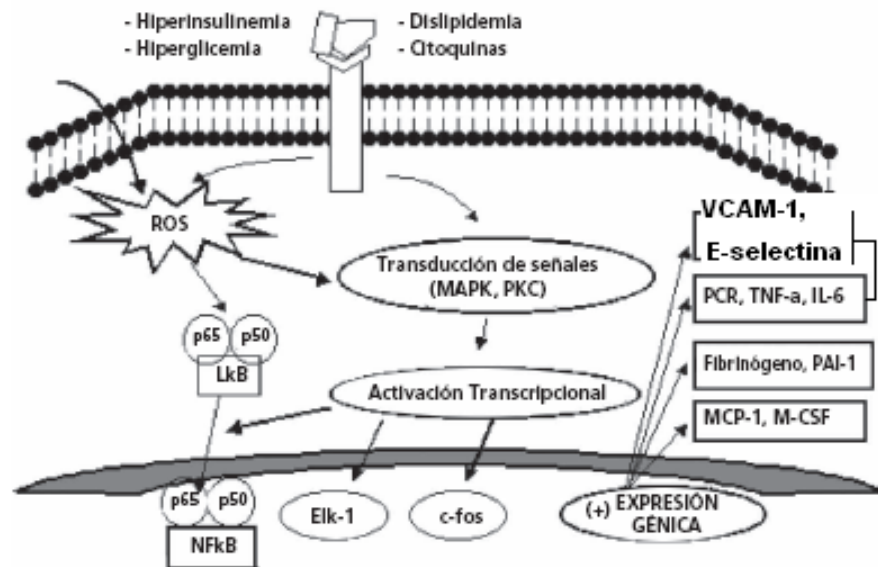


FIGURA 2: ALGUNOS EFECTOS MOLECULARES PRO-INFLAMATORIOS, PRO-PROLIFERATIVOS Y PRO-TROMBÓTICOS DEL SÍNDROME METABÓLICO. (Fuente: modificado de Maiz. 2005).

(ROS= Especies reactivas de oxígeno; IκB= Inhibidor del factor nuclear kapa B; NFκB= Factor nuclear kapa B; MAPk= Kinasas de proteínas mitogénicas activadas; PKC= Protein kinasa C; Elk-1= Factor de transcripción símil a ETS; c-fos= Factor de transcripción pro-crecimiento; VCAM-1= Molécula de adhesión de células vasculares; ICAM-1= Moléculas de adhesión intercelular; PCR= Proteína C reactiva; TNF-α= Factor de necrosis tumoral alfa; IL-6= Interleuquina 6; PAI-1=Inhibidor del activador del plasminógeno-1; MCP-1= Proteína quimiotáctica de monocitos)

### 1.3. Citoquinas proinflamatorias e interacción de las moléculas de adhesión en la pared vascular.

El reclutamiento de leucocitos hacia el interior de la pared vascular es característico de los estadios iniciales de formación y progresión de la placa de ateroma. Este fenómeno ha dado origen a diversas hipótesis que intentan explicar la aterogénesis en el contexto de un proceso inflamatorio (Cines et al., 1998).

Independientemente del estímulo desencadenante (LDL oxidadas, células adiposas, etc.), esta respuesta inflamatoria parece iniciarse tras la activación de los macrófagos tisulares y liberación de algunas citoquinas como IL-1, IL-6 y TNF-alfa. Estas tres citoquinas son responsables, en parte, de la síntesis hepática de reactantes (Proteína C reactiva, amiloide sérico A y fibrinógeno) y a nivel local, juegan un papel fundamental en el reclutamiento de leucocitos desde la luz vascular hacia los tejidos por mediación con diversas moléculas de adhesión como E-selectina y VCAM-1. El TNF $\alpha$  estimula la expresión de E-selectina que se une de forma preferente a los neutrófilos. La IL-1 induce la expresión de VCAM-1 capaz de unirse a linfocitos y monocitos (Gearing et al., 1993)

Las P-selectinas y E-selectinas permiten que el neutrófilo pueda unirse y rodar sobre el endotelio; luego las integrinas producen adhesión y enlentecen el rodamiento y, por último, la familia de las inmunoglobulinas hace que la célula se detenga por completo (Cines et al., 1998).

Las selectinas son familias de proteínas que proporcionan indicadores de tráfico para leucocitos. El endotelio expresa E-selectina y P-selectina, y los leucocitos inducen L-selectina. La E-selectina es inducida por citoquinas como las nombradas anteriormente. Las selectinas median funciones de sujeción de leucocitos y monocitos a la pared vascular formando adhesiones lábiles que permiten al leucocito rodar sobre el endotelio (Gokulakrishnan et al. 2005).

Las integrinas son familias de receptores de membranas que integran el citoesqueleto de una célula con otra o con la matriz extracelular. Existen 3 grupos: el primero denominado VLA (very light appearing antigen); el VLA-4 que se halla en linfocitos y monocitos se liga con el VCAM-1 del endotelio; el segundo grupo es el de las LFA (lymphocyte function associated antigen) también conocido como MAC-1 que se expresan en monocitos y neutrófilos y se ligan con el ICAM-1 del endotelio; el tercer grupo es el de las cito-adhesinas que constituyen las glicoproteínas IIb-IIIa de las plaquetas (Altman R.2005). En



La adherencia de los monocitos al endotelio arterial es facilitada por la expresión de las moléculas de adhesión, inducidas por las citoquinas inflamatorias, como las nombradas anteriormente, especialmente las moléculas V-CAM-1 y una serie de proteínas de atracción celular (MPC-1 Monocyte Chemoattractan Protein-1) y estímulos celulares (M-CSF Macrophage Colony-Simulating Factor) que permiten la colonización de monocitos y linfocitos desde el endotelio hacia el interior de la pared vascular con formación de macrófagos y células espumosas (Muller W, et al 1993).

## **2. Moléculas de Adhesión.**

Se reconocen dos mecanismos por los cuales las células se comunican entre si para lograr una buena respuesta inmune: las citoquinas y las moléculas de adhesión (interacción receptor-ligando); su función coordinada es necesaria, pues algunas citoquinas inducen y regulan las moléculas de adhesión.

Las moléculas de adhesión son proteínas de superficie celular que participan en la unión de células; generalmente leucocitos a células endoteliales o a matriz extracelular (Frenette Ps, et al. 1996).

Las interacciones y respuestas que se inician por la unión de estas moléculas con sus receptores, son esenciales en procesos de inflamación y reacciones inmunes. La unión de polimorfo nucleares a células endoteliales es un evento inicial en la inflamación aguda. (Petruzzelli L, et al. 1999).

Las interacciones adhesivas entre células y entre éstas y proteínas de la matriz extracelular juegan un papel importante en la embriogénesis, el crecimiento celular y diferenciación, en la defensa del huésped y en el mantenimiento de la integridad vascular y epitelial.

Existen dos tipos de interacciones: homotípica y heterotípica; la primera es la interacción entre las moléculas de superficie de dos células idénticas como sucede en el reclutamiento de las plaquetas en la formación del coágulo. La interacción heterotípica ocurre entre dos células diferentes o la adhesión celular a componentes de la matriz extracelular como sucede en la interacción entre leucocitos y la célula endotelial. (Petruzzelli et al., 1999).

## **2.1 CD40L**

CD40L es una glicoproteína de 39 kDa y de 261 aminoácidos (aa). Su gen se localiza en el brazo largo del cromosoma X humano. Desde el punto de vista estructural, CD40L forma un trímero y CD40 se une a dicho trímero en la interfase entre dos monómeros. De esta glicoproteína (CD40L) se producen formas solubles de 15 y 18 kDa. Las formas solubles carecen de la región de transmembrana y una porción del dominio extracelular, pero contiene la región entera de homología del factor necrótico tumoral (TNF). Ambas formas de CD40L son activas (Otterdal et al., 2004).

El receptor para CD40L es CD40, miembro de la superfamilia del receptor de TNF (TNFRSF). La interacción de CD40L con CD40 no sólo induce la proliferación y la conmutación del isotipo en linfocitos B, también media una amplia variedad de otras respuestas inmunes e inflamatorias. Es importante mencionar que CD40 se ha ligado a procesos patógenos de enfermedades inflamatorias crónicas, tales como enfermedades autoinmunes, de desórdenes neurodegenerativos, cáncer y aterosclerosis. La pérdida de interacción entre CD40 y CD40L puede dar lugar a la disminución de la diferenciación de la función de los linfocitos T, linfocitos B y de la función de los monocitos (LeeW. et al., 2006).

CD40L se expresa sobre todo en las células T activadas, también en células endoteliales, las células musculares lisas, macrófagos, basófilos, eosinófilos, monocitos, células dendríticas, fibroblastos y mastocitos. El estímulo de citoquinas como IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  o

IFN- $\gamma$  puede aumentar los niveles superficiales y la síntesis de novo de CD40L y sCD40L en ciertos tipos de células. De aquí la importancia del estado proinflamatorio del SM (Graf et al., 1992).

También se han investigado los efectos de las interacciones CD40/CD40L en el control de las funciones efectoras de algunas células inmunes. La unión de CD40 en monocitos es importante para la producción de IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-6 e IL-8, así como para el rescate de los monocitos circulantes de la muerte apoptótica. En macrófagos, la unión CD40/CD40L se requiere para la producción de óxido nítrico e IL-12. Así mismo, las células NK que expresan CD40L lisan células blanco que expresan CD40. Se ha visto además que durante su expansión las células T pueden, en algunos casos, requerir la coestimulación CD40/CD40L para madurar hacia células efectoras, y que los linfocitos T efectores deben encontrar secundariamente el antígeno en el contexto de este par ligando-receptor para iniciar la secreción de citoquinas (Anne et al., 2003)

sCD40L también es liberado desde las plaquetas ricas en trombina y contribuye en cierta medida en la progresión de la lesión aterosclerótica (Figura 4). Se describen tres funciones importantes de sCD40L liberado desde las plaquetas durante la trombosis.

- Inflamación: sCD40L induce la producción y liberación de citoquinas proinflamatoria de células vasculares y matriz de células residentes en el ateroma.
- Trombosis: sCD40L estabiliza las plaquetas ricas en trombina
- Restenosis: sCD40L inhibe la reendotelización de la lesión en el vaso sanguíneo, es el principal potenciador en la activación y proliferación de células de músculo liso (André et al., 2002).



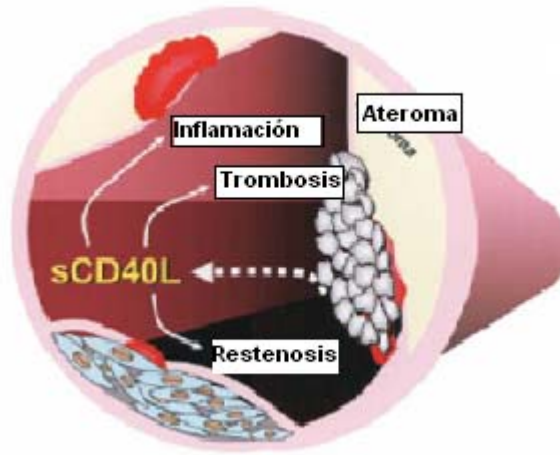


FIGURA 4. FUNCIONES DE sCD40L LIBERADO DESDE LAS PLAQUETAS DURANTE LA TROMBOSIS. (Fuente: Modificado de André et al.,2002)

CD40L se encuentra en los gránulos  $\alpha$  de las plaquetas en reposo (pero se desplaza a su superficie), estas son activadas por agonistas tales como ADP, trombina o colágeno (figura 5). El desplazamiento de CD40L parece coincidir con la liberación del contenido de los gránulos  $\alpha$ , incluyendo el factor de crecimiento derivado de plaquetas o PDGF, el factor del crecimiento  $\beta$  (TGF $\beta$ ), el factor plaquetario 4 (PF4), y la trombospondina (TSP). CD40L es liberado desde la superficie plaquetaria produciéndose sCD40L (Patrick 2002).

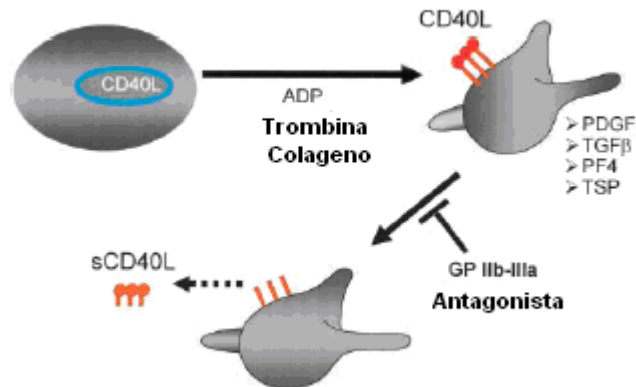


FIGURA 5. LIBERACIÓN DE SCD40L DURANTE LA ACTIVACIÓN PLAQUETARIA (Fuente: André P. et al.2002).

De esta forma se obtiene un promotor proinflamatorio capaz de inducir la expresión del factor tisular desde las células endoteliales y los monocitos. En su estructura contiene la secuencia aminoacídica denominada KGD capaz de unirse a las integrinas  $\alpha$ IIb/ $\beta$ 3. Por lo tanto sCD40L es un potente agonista plaquetario capaz de unirse al complejo glicoproteína (GP) IIb/IIIa de las plaquetas estabilizando los fenómenos trombóticos arteriales. Antagonistas de la (GP) IIb/IIIa bloquean la hidrólisis y desprendimiento subsecuente de sCD40L desde las plaquetas (André P. et al.2002).

Existen pocos datos disponibles sobre su valor independiente como marcador pronóstico y de riesgo cardiovascular en individuos aparentemente sanos. Aun así, partiendo de valores por debajo de 5.0 ug /L, la probabilidad estadística de un accidente cardiovascular es extremadamente bajo en relación a la escala de riesgo de Framingham. Sin embargo valores por sobre dicho corte parecen ser capaces de identificar un grupo de población de riesgo mucho mas importante de lo supuesto. De tal forma que el riesgo de padecer un nuevo accidente vascular entre pacientes cursando con un episodio de inestabilidad anginosa es de 2.71 veces superior a aquéllos con valores plasmáticos bajos, para la predicción de un nuevo infarto no fatal o muerte. Por lo tanto sCD40L es un atractivo indicador de actividad patológica en el sistema de trombosis e inflamación durante el curso de un accidente vascular (Altman R. 2005).

## **2.2 E-Selectina**

E-Selectina también conocida como ELAM-1 o CD62E es una glicoproteína de transmembrana de tipo 1 de 115 kDA, Su gen esta localizado en el cromosoma 1q23-25. E-selectina está casi ausente en el endotelio, solo se expresa en las células endoteliales, y solo después de la activación por las citoquinas inflamatorias (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) o una endotoxina (Newman et al 1993). El factor de la transcripción FN-KB parece ser crucial en la activación de este gen. Esta inducción toma algunas horas y disminuye rápidamente después de un pick. La expresión es transitoria, alcanzando un máximo en aproximadamente 6 horas después del estímulo y luego comienza a declinar, con la liberación de sE-Selectina (Blankenberg et al., 2003).

E-Selectina media la adhesión de neutrófilos, monocitos, eosinófilos y LT al endotelio. Luego de esta unión se separan totalmente o se unen más como resultado de la acción de las integrinas. Los anticuerpos monoclonales antiselectinas o sus contrarreceptores pueden bloquear este proceso. E-Selectina como el resto de las selectinas, tiene un dominio extracelular capaz de unirse a hidratos de carbono. En el caso de la E-Selectina, su ligando es el Sialil Lewis x (ácido siálico del antígeno de Lewis), un oligosacárido presente fundamentalmente en las glicoproteínas de superficie de los leucocitos circulantes, así como también en otros tipos celulares. Este ligando es un mediador del paso de leucocitos al endotelio, un paso esencial en la extravasación de leucocitos en el sitio de la inflamación, desempeñando un papel importante en la respuesta inflamatoria localizada, también es esencial en la cooperación de la homeostasis del leucocito y en la regulación de su movimiento de la sangre a los tejidos (Endler G. 2003).

sE-selectina parece jugar papel importante en la angiogénesis. Por lo tanto, la concentración creciente de sE-selectina puede desempeñar un papel importante dentro de las complicaciones microvasculares diabéticas, indicando que sE-selectina no es simplemente un subproducto de la activación endotelial, también está implicado en la patogenia de la aterosclerosis. Se ha demostrado que los niveles sE-selectina están elevados en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM 2) comparado con sus parientes no diabéticos (Bannan S. 1998). Los niveles elevados de sE-selectina en el suero se han asociado a complicaciones y a un riesgo creciente de la enfermedad coronaria en los pacientes que sufren de DM. (Endler G. 2003)

### **2.3 VCAM-1**

VCAM-1 o CD106, pesa de 100 – 110 kDa su gen está localizado en el cromosoma 1p31-32 y está constituida por 750 aminoácidos (aa) es una glicoproteína de transmembrana tipo I caracterizada por la presencia de siete dominios de inmunoglobulinas. Está formada por una región extracelular de 674 aa, una región transmembrana de 22 aa y un segmento citoplasmático de 19 aa. En la región extracelular hay múltiples sitios de glicosilación N-

linked y cada dominio inmunoglobulina es cerrado por un puente disulfuro. (Blankenberg et al., 2003).

VCAM-1 se expresa en células endoteliales activadas, macrófagos tisulares, células dendríticas, y fibroblastos de la médula ósea. Juega un papel importante en el reclutamiento y tráfico de linfocitos al sitio de la inflamación y media la adhesión de éstos, monocitos y eosinófilos al endotelio. Los ligandos de VCAM-1 son dos integrinas, VLA-4 (very late antigen-4), y LPAM-1 (a4b7) ambas de funciones similares. (Altman R.2005).

VCAM-1 es una de las moléculas de adhesión de mayor interés en la formación de células espumosas y reclutamiento de leucocitos siendo este fenómeno el segundo paso en la formación de la estría adiposa. Las principales células involucradas en el ateroma son los mononucleares (monocitos y linfocitos) (Kon K et al. 2005).

La modificación de las LDL puede aumentar la expresión de VCAM-1, en cambio la fuerza de turbulencia laminar presente en muchas regiones de arterias normales puede suprimir la expresión de molécula de adhesión VCAM-1 (Blann et al., 1994).

### **3. Participación de las moléculas de adhesión en la enfermedad aterosclerótica**

La aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria, porque es mucho más que la simple acumulación de lípidos en la pared arterial. Las lesiones de la enfermedad aterosclerótica representan una serie de respuestas celulares y moleculares específicas que corresponden a un proceso inflamatorio. De hecho, la más precoz de las lesiones, la estría grasa, es una lesión inflamatoria pura, constituida sólo por macrófagos derivados de monocitos y linfocitos T. (Altman R.2005)

La disfunción endotelial, un paso temprano en el proceso aterosclerótico, es caracterizada por la expresión creciente de las moléculas de adhesión celular VCAM-1, ICAM-1 y E-selectina, contribuyendo a la inflamación subendotelial crónica (Fulop et al 2006).

Las fuerzas hemodinámicas producen cambios de tensión celular interna. Cuando se produce un cambio de flujo se inicia una señal denominada mecano-transducción, que lleva a una hiperpolarización de la membrana por activación de los canales de potasio, lo que genera la producción de inositoltrifosfato (IP-3) y diacilglicerol (DAG) y la activación de las cascadas de cinasas. Con los cambios agudos de flujo se liberan vasodilatadores; si estos cambios son permanentes se activan factores de transcripción y de regulación genética que llevan a la adaptación endotelial y al remodelamiento vascular con expresión de moléculas de adhesión (Kon K et al. 2005; Altman R. 2005).

La LDL mínimamente oxidada activa el FNKB estimulando la producción de MCP-1 y MCSF (macrophag colony stimulating factor). La lisofosfatidil colina que se encuentra en las LDL muy oxidadas puede inducir la expresión de VCAM-1 y E-selectina que se exponen en el endotelio; éste proceso denominado "señales de tráfico" o "moléculas de código de área", que actúa sobre los leucocitos según una secuencia definida (Sprinber T. et al 1996).

Otro factor importante en la disfunción endotelial es la vasoconstricción, las células endoteliales incrementan la expresión de VCAM e ICAM-1 que facilita la adhesión de monocitos y plaquetas a los vasos. Los mediadores inflamatorios causan apoptosis de las células endoteliales y las células musculares lisas, y producen proteinasas como las MMP-2 reguladas por las lipoproteínas oxidadas y las citoquinas. Las MMP-2 contribuyen a activar la agregación plaquetaria, junto con los gránulos liberados por las propias plaquetas (TXA<sub>2</sub>, ADP, FG<sub>2</sub>) y sCD40L. Las células apoptóticas liberan factor tisular (FT) activado que desencadena la cascada de la coagulación. El FT interactúa con el FVII, activa el FX,

que activa la conversión de protrombina a trombina. (Muller, 1993) Finalmente, se genera fibrina que, junto con las plaquetas activadas, crean la estabilidad suficiente para la formación del trombo mural. El FT activado por los factores de riesgo sistémicos contribuye a la actividad procoagulante de las lesiones ateroscleróticas y a la formación del trombo. En esta parte sCD40L cumple un papel importante al estabilizar las plaquetas ricas en trombina y contribuye al proceso de restenosis ya que sCD40L inhibe la reendotelialización de la lesión en el vaso sanguíneo, y es el principal potenciador en la activación y proliferación de células de músculo liso (André P. et al 2002).

La inducción de expresión endotelial de VCAM-1 es un fenómeno precoz que se presenta, en conejos, una semana después de la iniciación de una dieta rica en colesterol, y precede a la acumulación detectable de monocitos/macrófagos en la íntima. El endotelio no implicado en lesiones con células espumosas no expresa VCAM-1. El bloqueo de VCAM-1 e ICAM-1 previene, por completo, la acumulación de monocitos macrófagos en la íntima (Sprinber T. et al 1996).

Uno de los fenómenos más precoces en el proceso aterogénico, en modelos animales con hipercolesterolemia, es la adherencia de monocitos al endotelio. Como se menciono anteriormente la LDL oxidada induce la expresión de VCAM-1, y probablemente estas moléculas de lipoproteínas modificadas actúen como antígenos que inducen la presencia de células T en lesiones de aterosclerosis. Una vez que los monocitos ingresan a la íntima se convierten rápidamente en células espumosas. Estudios experimentales demostraron que el 60% de las LDL inyectadas se encuentra en las células espumosas de origen macrofágico a las 48 horas. Se sabe que los monocitos captan las LDL no modificadas a un ritmo muy lento; cuando se acetilan y oxidan, se exponen receptores en los macrófagos, ocurre entonces una rápida captación con aparición de contenido lipídico intracelular (Steimberg, 1997).

## V. Sujetos y Métodos

### Sujetos

El grupo de personas con SM (n=93) y el grupo control o sin SM (n=92) no fumadores con un rango de edad entre 45 y 64 años fueron seleccionados entre 1007 personas encuestadas en el proyecto Perfil Cardiovascular del adulto entre 18 y 74 años de la ciudad de Talca. Ellos fueron seleccionados mediante un muestreo probabilístico polietápico. Los sujetos contestaron un cuestionario y se les realizó mediciones antropométricas, presión arterial, perfil lipídico y glicemia.

Las muestras fueron obtenidas por punción venosa en forma aséptica en un tubo sin anticoagulante. Las muestras se dejaron coagular por 30 minutos, antes de la centrifugación por 15 minutos a 1000rpm aproximadamente luego se quito el suero, se alicuoto y almaceno a -70° C para su posterior medición.

### Definición del síndrome metabólico

La definición de SM utilizada fue la definida por el tercer panel de tratamiento del adulto (ATP III) modificado 2004.

El criterio de hipertensión arterial fue definido como la “presión sistólica”  $\geq 130$  o “presión diastólica”  $\geq 85$  mmHg o el estar con medicación para la hipertensión. “Obesidad central”: circunferencia de la cintura más de 102 centímetros en hombres o más de 88cm en mujeres. “Glicemia en ayuno”  $\geq 100$  mg/dl. “Colesterol HDL” alterado cuando es menor a 40 mg/dl en hombres o 50 mg/dl en mujeres. “Hipertrigliceridemia” fue definido como triglicéridos  $\geq 150$  mg/dl. Clasificaron los que resolvieron 3 o más de estos 5 criterios como teniendo síndrome metabólico. (Grundy S et al.2005) En la tabla 1 se muestra las características de la población en estudio y en la tabla 2 se expresan los factores de riesgo alterados en porcentajes.

**Cuantificación de las moléculas de adhesión:** La concentración de sVCAM-1, sE-selectina y sCD40L en suero fue determinada por un ELISA de fase sólida (R&D Systems, Minneapolis, MN. USA) para cada una de las moléculas, Siguiendo las instrucciones del fabricante.

### **Principio del análisis**

#### sCD40L

Un anticuerpo policlonal específico para sCD40L se encuentra cubriendo las paredes de los pocillos de la microplaca. Los estándares y las muestras se agregan con una pipeta en los pocillos y cualquier molécula de CD40L presente es inmovilizada por el anticuerpo del pocillo. Después de lavar los pocillos, se agrega un anticuerpo policlonal específico anti sCD40L conjugado con una enzima (peroxidasa de rábano picante). Después de un lavado para quitar cualquier residuo del reactivo anticuerpo-enzima no unido al pocillo, se agrega a los pocillos una solución de sustrato y el color se convierte en proporción con la cantidad de sCD40L limitada en el paso inicial. Se detiene el desarrollo del color con una solución de parada y la intensidad del color se mide. La absorbencia se lee a 450 nm.

#### sVCAM-1

Un anticuerpo monoclonal específico para sVCAM-1 se encuentra cubriendo las paredes de los pocillos de la microplaca. Los estándares, las muestras, los controles y la conjugación se agregan con una pipeta a los pocillos y cualquier molécula de sVCAM-1 presente es intercalada entre el anticuerpo inmovilizado y un segundo anticuerpo monoclonal específico anti sVCAM-1 conjugado con una enzima (peroxidasa de rábano picante). Después de un lavado para quitar cualquier residuo del reactivo anticuerpo-enzima no unido al pocillo y/o alguna otra sustancia, se agrega una solución de sustrato a los pocillos y el color se convierte en proporción a la cantidad de sVCAM-1 limitada en el



paso inicial. Se detiene el desarrollo del color con una solución de parada y la intensidad del color se mide. La absorbencia se debe leer a 450 nm.

#### sE-selectina

Un anticuerpo monoclonal específico para sE-selectina se encuentra cubriendo las paredes de los pocillos de la microplaca. Los estándares, las muestras, los controles y la conjugación se agregan con una pipeta a los pocillos y cualquier molécula de sE-selectina presente es intercalada entre el anticuerpo inmovilizado y un segundo anticuerpo monoclonal específico anti sE-selectina conjugado con una enzima (peroxidasa de rábano picante). Después de un lavado para quitar cualquier residuo del reactivo anticuerpo-enzima no unido al pocillo y/o alguna otra sustancia, se agrega una solución de sustrato a los pocillos y el color se convierte en proporción a la cantidad de sE-selectina limitada en el paso inicial. Se detiene el desarrollo del color con una solución de parada y la intensidad del color se mide. La absorbencia se debe leer a 450 nm.

#### Otros materiales requeridos

- Lector de Microplaca capaz de medir absorbencia a 450 nanómetro, con la longitud de onda de corrección fijada en 540 nanómetro o 570 nanómetro. Modelo StatFax-2100, marca Awareness Technology Inc.
- Pipetas y puntas de pipeta. Pipeta multicanal
- Agua destilada o desionizada
- Lavador automático de microplaca.

Tabla 1. Caracterización de la población del estudio por género.

	Grupo con Síndrome Metabólico			Grupo Control			Total	
	Hombres	Mujeres	Total	Hombres	Mujeres	Total	Valor p	Valor p
Edad (años)	54.6 ± 5.7	54.1 ± 5.7	54.3 ± 5.7	54.2 ± 5.1	52.9 ± 6	53.4 ± 5.7	0.706	0.262
Glicemia (mg/dl)	124.8 ± 44.8	110.1 ± 41.8	117 ± 43.7	96.9 ± 32.3	91.5 ± 23.9	93.7 ± 27.6	0.002	< 0.001
Colesterol Total (mg/dl)	207.1 ± 49.4	206.5 ± 38.1	206.7 ± 43.6	192.2 ± 34.5	204.6 ± 32	199.5 ± 33.5	0.123	0.206
c-LDL (mg/dl)	117.7 ± 28.3	122.9 ± 31.3	120.7 ± 29.9	112.3 ± 31.3	116.7 ± 27.9	114.8 ± 29.3	0.412	0.190
c-HDL (mg/dl)	41.8 ± 11.9	48 ± 11.9	45.1 ± 12.3	49.9 ± 13.1	64.8 ± 15.2	58.7 ± 16.04	0.005	< 0.001
Triglicéridos (mg/dl)	261.9 ± 197.5	176.2 ± 64.1	216.8 ± 149.1	161.3 ± 99.1	114.3 ± 40.8	133.5 ± 73.9	0.006	< 0.001
Diámetro de Cintura (cm)	105.1 ± 10.1	98.7 ± 10.1	101.7 ± 10.5	93.5 ± 8.7	86.3 ± 11.3	89.2 ± 10.9	< 0.001	< 0.001
Presión Sistólica (mmHg)	143.6 ± 15.3	138.5 ± 20	140.9 ± 18	132.9 ± 17.5	127.9 ± 19.6	129.9 ± 18.8	0.005	< 0.001
Presión Diastólica (mmHg)	88.2 ± 10.7	83.7 ± 9.7	85.8 ± 10.4	82.8 ± 11.7	76.1 ± 9.9	78.8 ± 11.2	0.032	< 0.001
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	30.7 ± 3.9	33.5 ± 6.7	32.2 ± 5.7	27.1 ± 2.9	27.02 ± 4.9	27.1 ± 4.2	< 0.001	< 0.001

Los datos están expresados en media ± desviación estándar. c-LDL, colesterol de lipoproteínas de baja densidad; c-HDL, colesterol de lipoproteínas de alta densidad; IMC, índice de masa corporal.

**Tabla 2. Factores de riesgo cardiovascular alterados en el grupo SM y Control.**

Parámetro Alterado	Grupo SM						Grupo Control							
	Mujeres n=49		Hombres n=44		Total n=93		Mujeres n=55		Hombres n=37		Total n=93		Total n=185	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Glicemia	25	51	32	72.7	57	61.3	5	9.1	8	21.6	13	14	70	37.8
Triglicéridos	31	63.3	32	72.7	63	67.7	5	9.1	13	35.1	18	19.4	81	43.8
Cintura	42	85.7	24	54.5	66	70.9	19	34.5	3	8.1	22	23.7	88	47.6
Hipertensión	36	73.5	38	86.4	76	79.5	22	40	20	54	42	45.2	118	63.8
HDL-c	34	39.4	25	56.8	59	63.4	5	9.1	6	16.2	11	11.8	70	37.8

Los resultados se expresan en porcentaje. SM= síndrome metabólico;

c-HDL= colesterol de lipoproteínas de alta densidad.

### **Análisis estadístico**

Las variables continuas se describen como media y desviación estándar (DE) o como mediana y percentiles 25 y 75, si no seguían una distribución normal. Las siguientes pruebas estadísticas fueron utilizadas: Prueba de Kolmogorov - Smirnov para analizar la distribución de los grupos en estudio. Prueba de Mann-Whitney para variables asimétricas y prueba de t Students para variables con distribución simétrica, correlación simple de Pearson. El coeficiente de correlación de Pearson fue calculado para determinar la correlación entre los niveles de moléculas y los parámetros medidos. (Glicemia, colesterol total, LDL, HDL, Triglicéridos, presión sistólica, presión diastólica, obesidad central e índice de masa corporal). El análisis estadístico fue realizado por SPSS para Windows, versión 15.0.  $P < 0.05$  era considerado estadísticamente significativo.

## VI. Resultados

Los niveles de sVCAM-1, sCD40L y sE-selectina fueron medidos en el grupo con SM y en el grupo sin SM o grupo control (Tabla 3).

El grupo con SM mostró niveles más altos de sVCAM-1 con una mediana de 558.9 ng/mL, percentil 25: 481.3 ng/ml, percentil 75: 673.1 ng/ml y el grupo control o sin SM presento una mediana de 405.2 ng/mL, percentil 25: 360.6 ng/ml y percentil 75: 471.2 ng/ml con un valor  $P < 0.0001$ . (Figura 6)

Los niveles de sCD40L con SM fueron de 3.0 ng/mL la mediana, percentil 25: 2.1 ng/ml, percentil 75: 11.8 ng/ml y el control, presento una mediana de 2.6 ng/mL, percentil 25: 2.3 ng/ml y percentil 75: 3.4 ng/ml, con un valor  $P < 0.0001$ . (Figura 7)

Los niveles de sE-selectina no fueron perceptiblemente diferentes en los dos grupos, con y sin SM. El grupo con SM presento una mediana de 73.9 ng/ml, percentil 25: 58.3 ng/ml y percentil 75: 87.2 ng/ml, el grupo sin SM o control presento una mediana de 68.5 ng/ml, percentil 25: 50.8 ng/ml, percentil 75: 97.5 ng/ml con un valor  $P = 0.953$ . (Figura 8)

Al comparar los niveles séricos de sVCAM-1 entre mujeres con SM y grupo control los resultados fueron los siguientes, respectivamente, mediana de 565.1 ng/ml, percentil 25: 481.3 ng/ml, percentil 75: 691.7 ng/ml y 405.2 ng/ml (mediana), percentil 25: 360.2 ng/ml y percentil 75: 468.9 ng/ml, con un valor  $p < 0.0001$  (Figura 9). Los hombres presentaron un valor  $p < 0.0001$  similar a lo presentado por las mujeres, con una mediana de 549.6 ng/ml percentil 25: 484 ng/ml, percentil 75: 664.1 ng/ml en el grupo SM, en el grupo control la mediana fue de 417.7 ng/ml, percentil 25: 357.2, percentil 75: 477.5, con un valor  $p < 0.0001$ . (Figura 10). Estos resultados son estadísticamente significativos al igual que lo obtenido anteriormente al analizar a los grupos sin dividirlos por sexo.

Los niveles de sCD40L de mujeres con SM fueron los siguientes, una mediana de 3.2 ng/ml, percentil 25: 2.4 ng/ml, percentil 75: 11.8 ng/ml. Las mujeres del grupo control presento una mediana de 2.6 ng/ml, percentil 25: 2.2 ng/ml, percentil 75: 3.5 ng/ml con un valor  $p = 0.002$  (Figura 11). Los hombres con SM presentaron una mediana de 2.6 ng/ml,

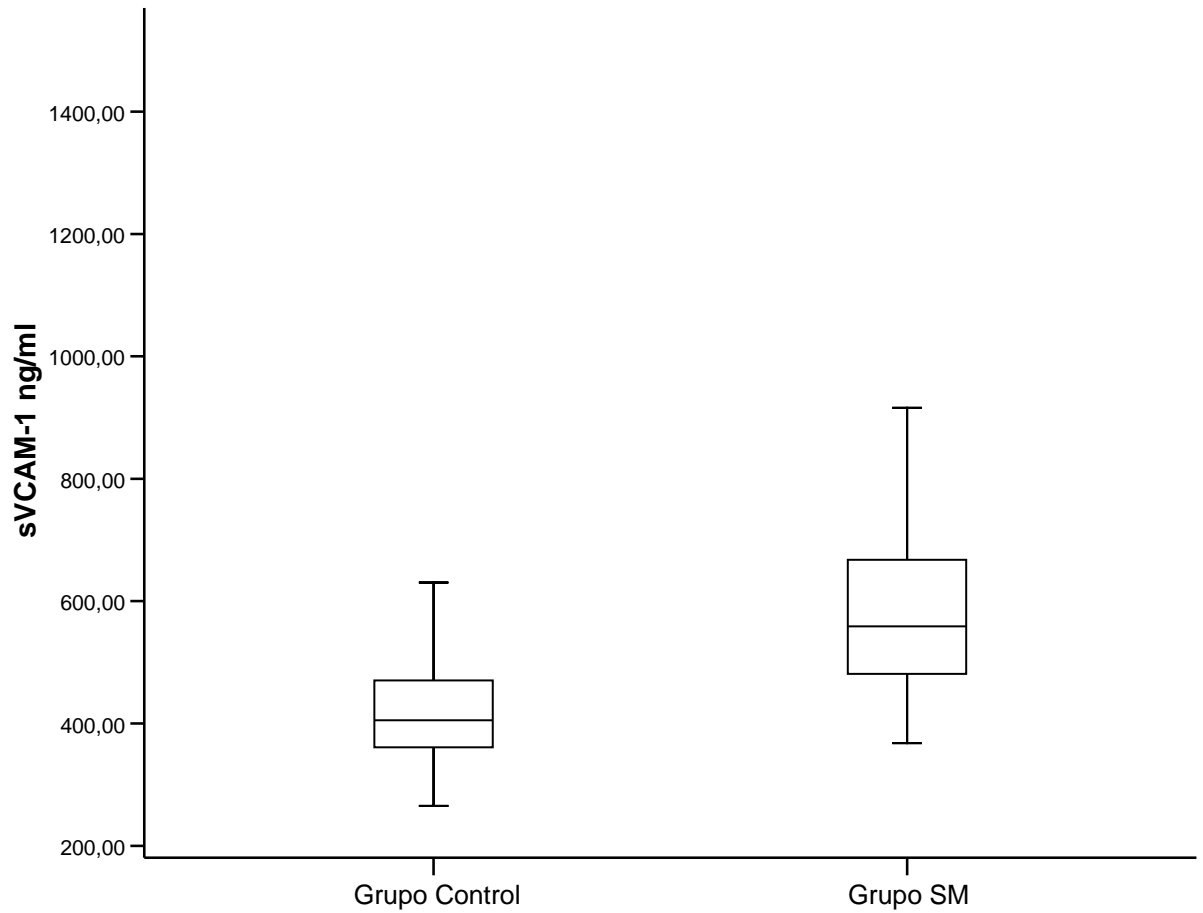
percentil 25: 1.9 ng/ml, percentil 75: 11.8 ng/ml. El grupo control presento una mediana de 2.7 ng/ml, percentil 25: 2.3 ng/ml, percentil 75: 3.3 ng/ml con un valor  $p=0.0028$ . (Figura 12)

Las Mujeres presentaron niveles séricos de sE-selectina similares entre los grupos SM y control sin diferencias estadísticamente significativas. Los niveles son los siguientes: grupo SM mediana de 67.3 ng/ml, percentil 25: 57.3 ng/ml, percentil 75: 86.9 ng/ml. Las mujeres del grupo control presentaron una mediana de 75.1 ng/ml, percentil 25: 49.9 ng/ml, percentil 75: 95.9 ng/ml con un valor  $p=0.540$  (Figura 13). Los hombres con SM presentaron una mediana de 75.9 ng/ml, percentil 25: 59.9 ng/ml, percentil 75: 88.2 ng/ml. El grupo control presento una mediana de 65.1 ng/ml, percentil 25: 52.3 ng/ml, percentil 75: 103.4 ng/ml con un valor  $p=0.541$  (Figura 14). Estos valores no son estadísticamente significativos al igual que lo obtenido en el total del grupo sin dividir por sexo.

**Tabla 3. Niveles séricos de sVCAM-1, sCD40L y sE-selectina.**

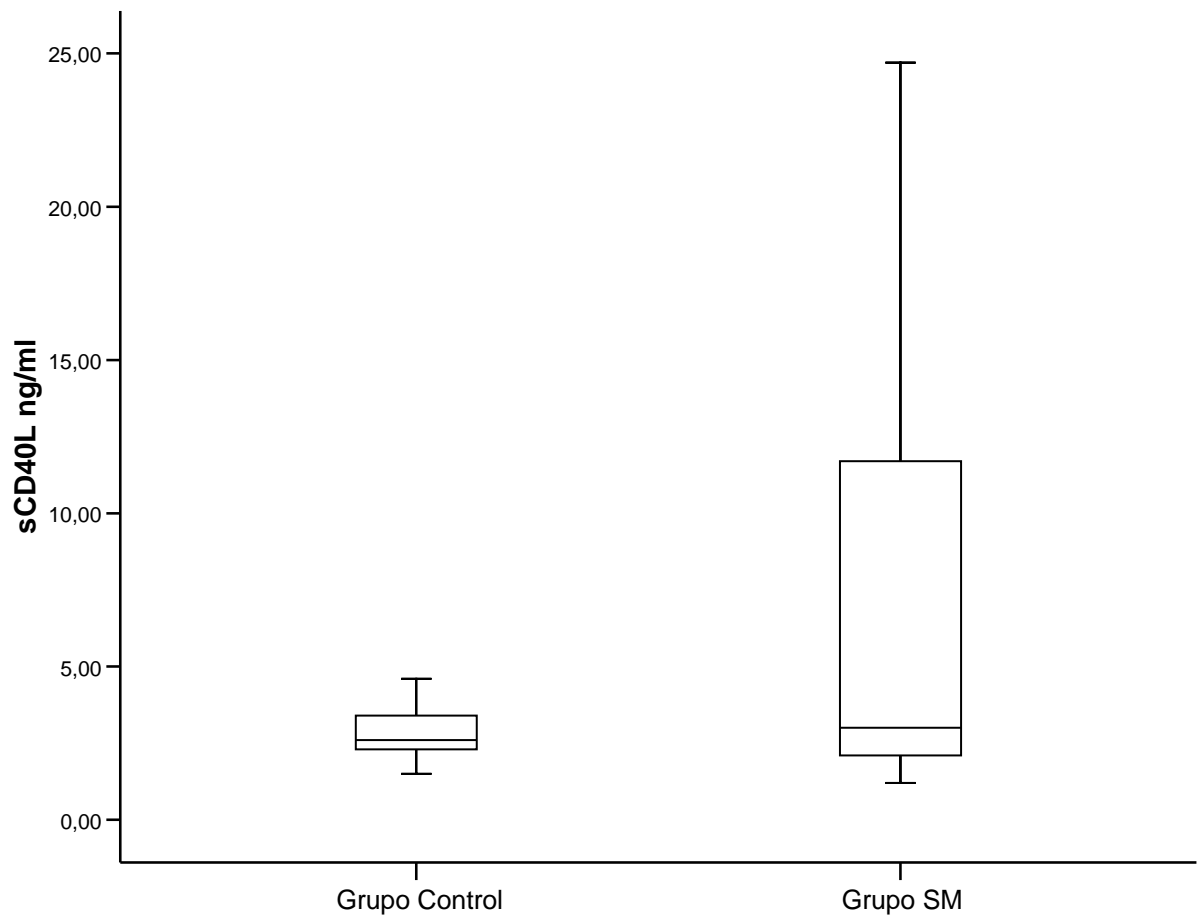
	Grupo	n	Percentiles		
			25	50	75
sVCAM-1 (ng/ml)	Control	92	360,6	405,2	471,2
	SM	93	481,3	558,9	673,1
sCD40L (ng/ml)	Control	92	2,3	2,6	3,4
	SM	93	2,1	3,0	11,8
sE-selectina (ng/ml)	Control	92	50,8	68,5	97,5
	SM	93	58,3	73,9	87,2

SM: Síndrome Metabólico; Percentil 50: Mediana.



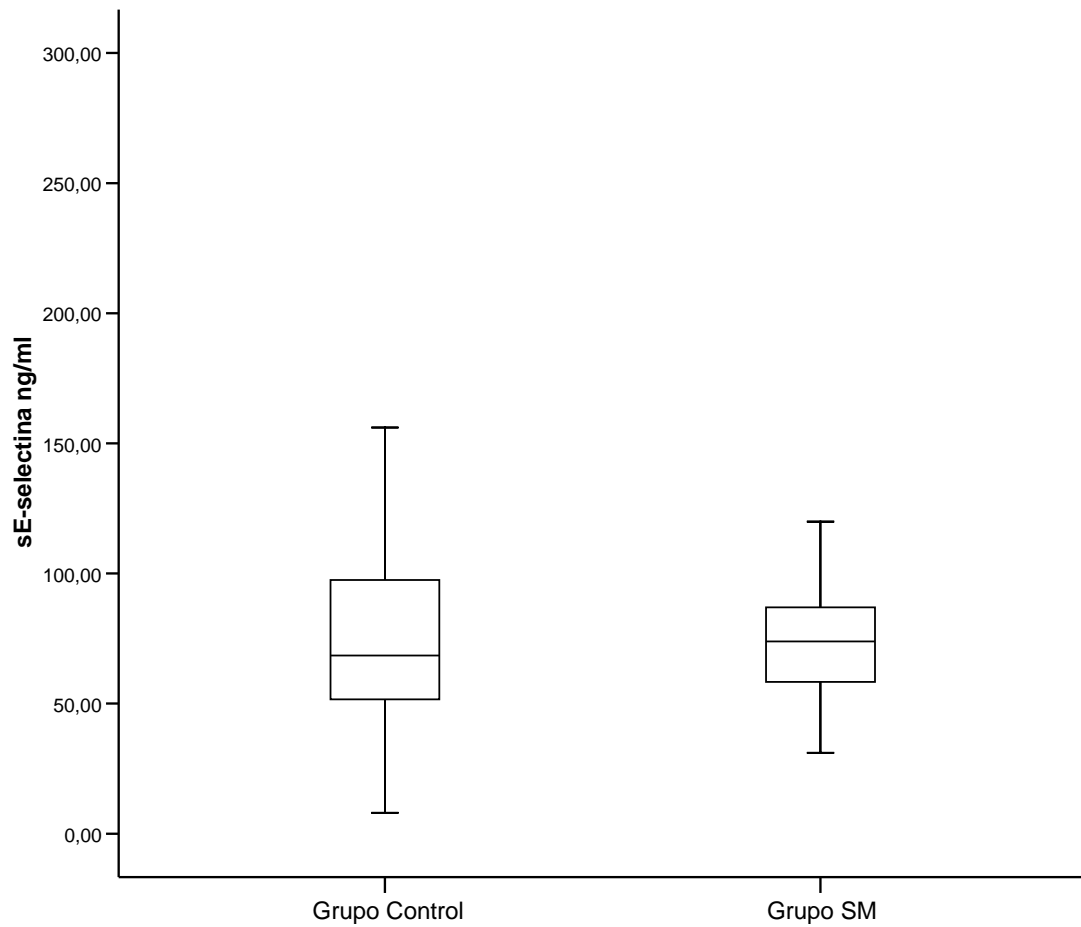
**Figura 6. Niveles de sVCAM-1 en el suero de 93 pacientes con síndrome metabólico (SM) y 92 pacientes sin SM o grupo control.**

Las líneas de la tapa, el centro, y el fondo de la caja corresponden a los percentiles 75, 50 (mediana), y 25. \*P< 0.0001. Comparado con el grupo control.



**Figura 7. Niveles de sCD40L en el suero de 93 pacientes con síndrome metabólico (SM) y 92 pacientes sin SM o grupo control.**

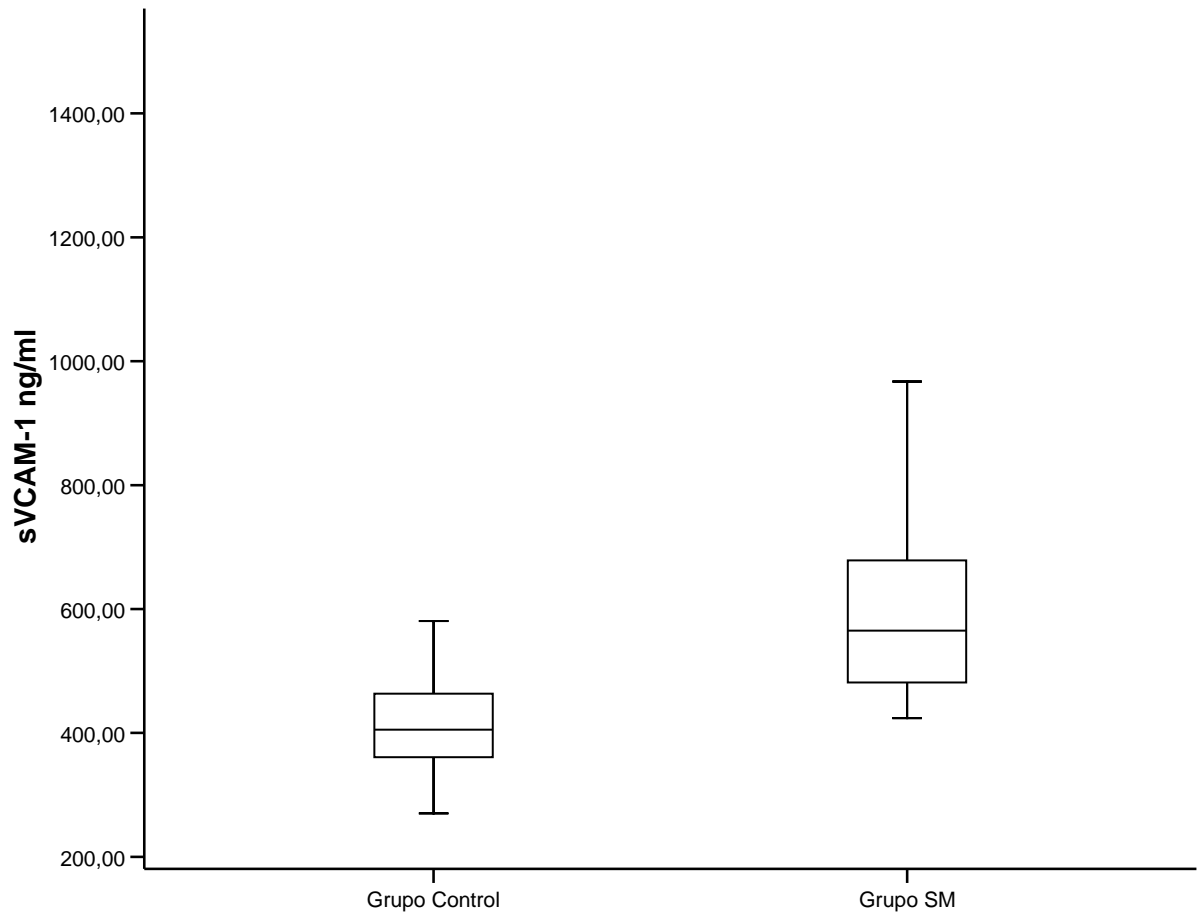
Las líneas de la tapa, el centro, y el fondo de la caja corresponden a los percentiles 75, 50 (mediana), y 25. \*P< 0.0001. Comparado con el grupo control.



**Figura 8. Niveles de sE-selectina en el suero de 93 pacientes con síndrome metabólico (SM) y 92 pacientes sin SM o grupo control.**

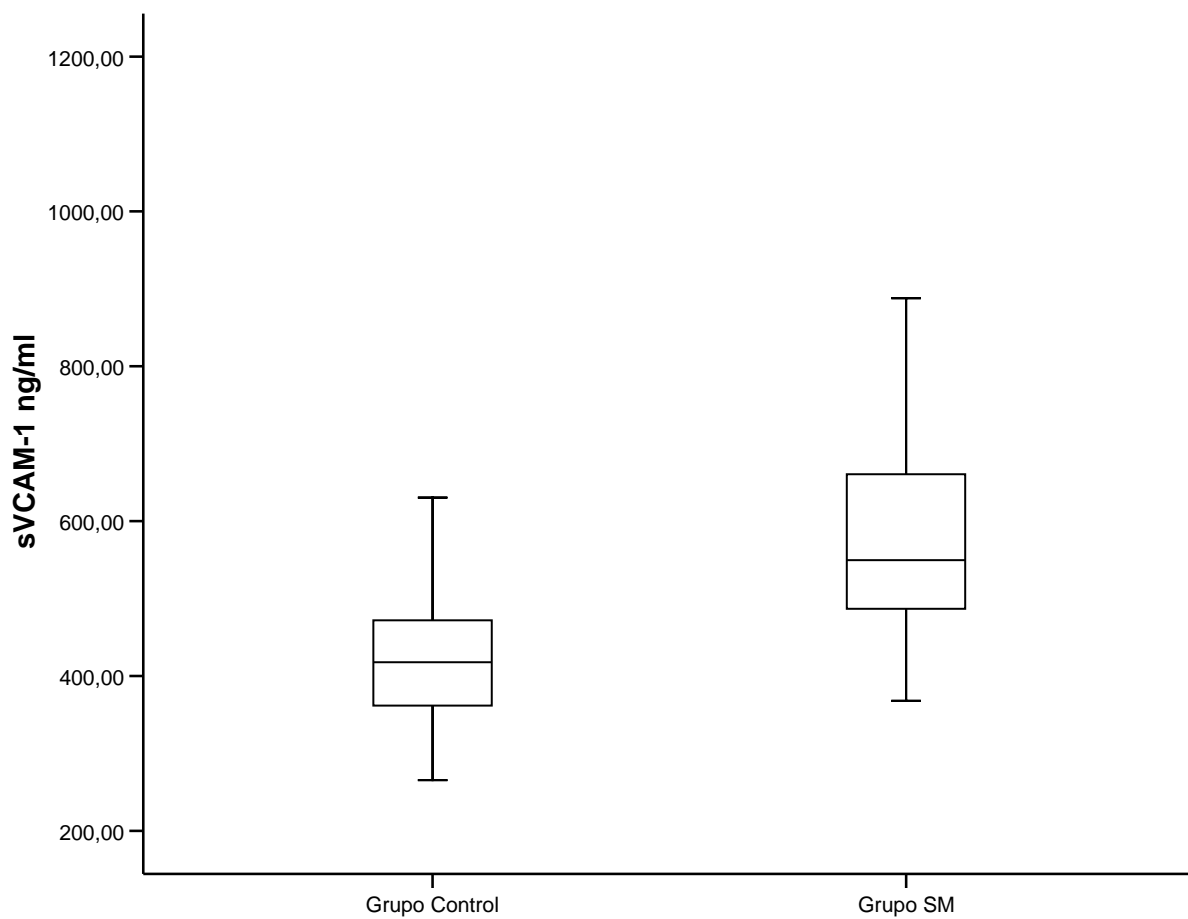
Las líneas de la tapa, el centro, y el fondo de la caja corresponden a los percentiles 75, 50 (mediana), y 25. \*P= 0.953. Comparado con el grupo control.





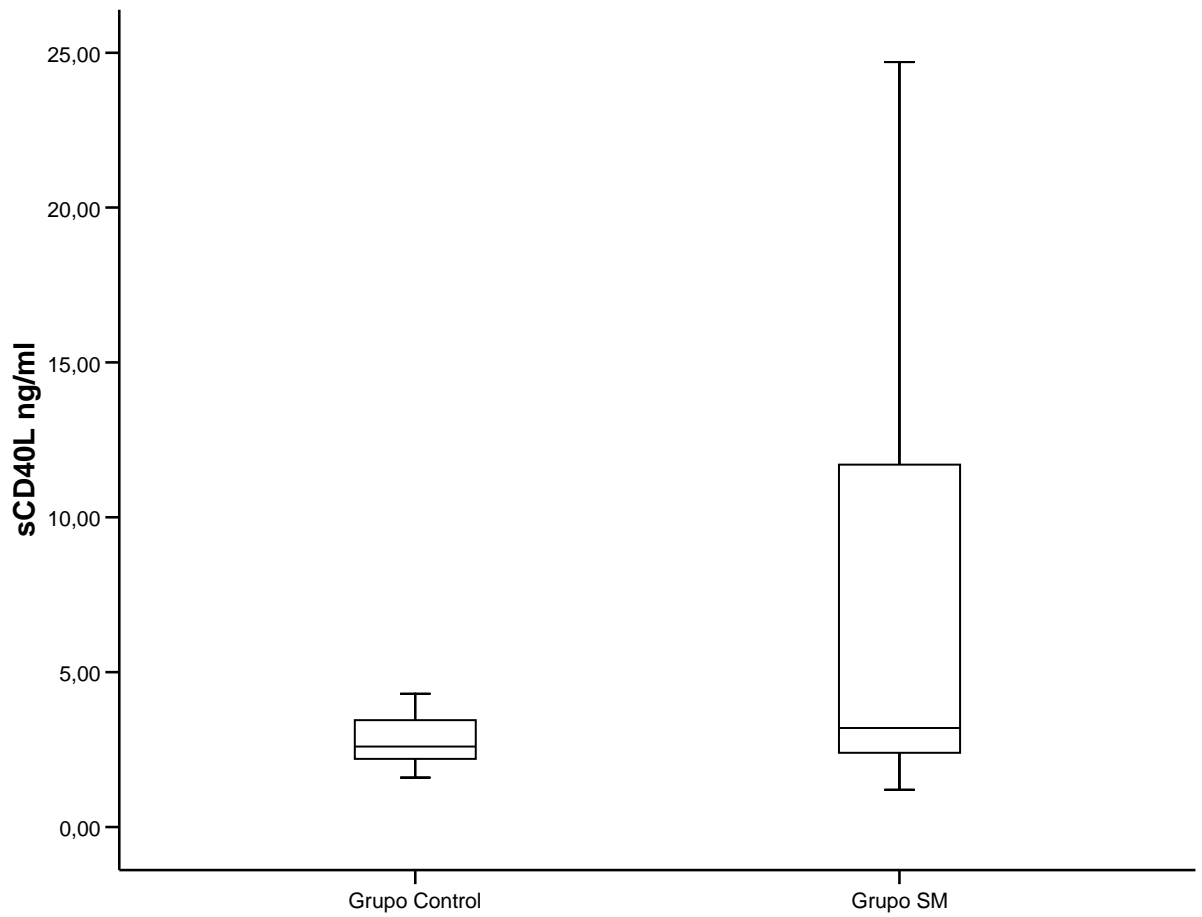
**Figura 9. Niveles de sVCAM-1 en el suero de 49 mujeres con síndrome metabólico (SM) y 55 mujeres sin SM o grupo control.**

Las líneas de la tapa, el centro, y el fondo de la caja corresponden a los percentiles 75, 50 (mediana), y 25. \*P< 0.0001 Comparado con el grupo control.



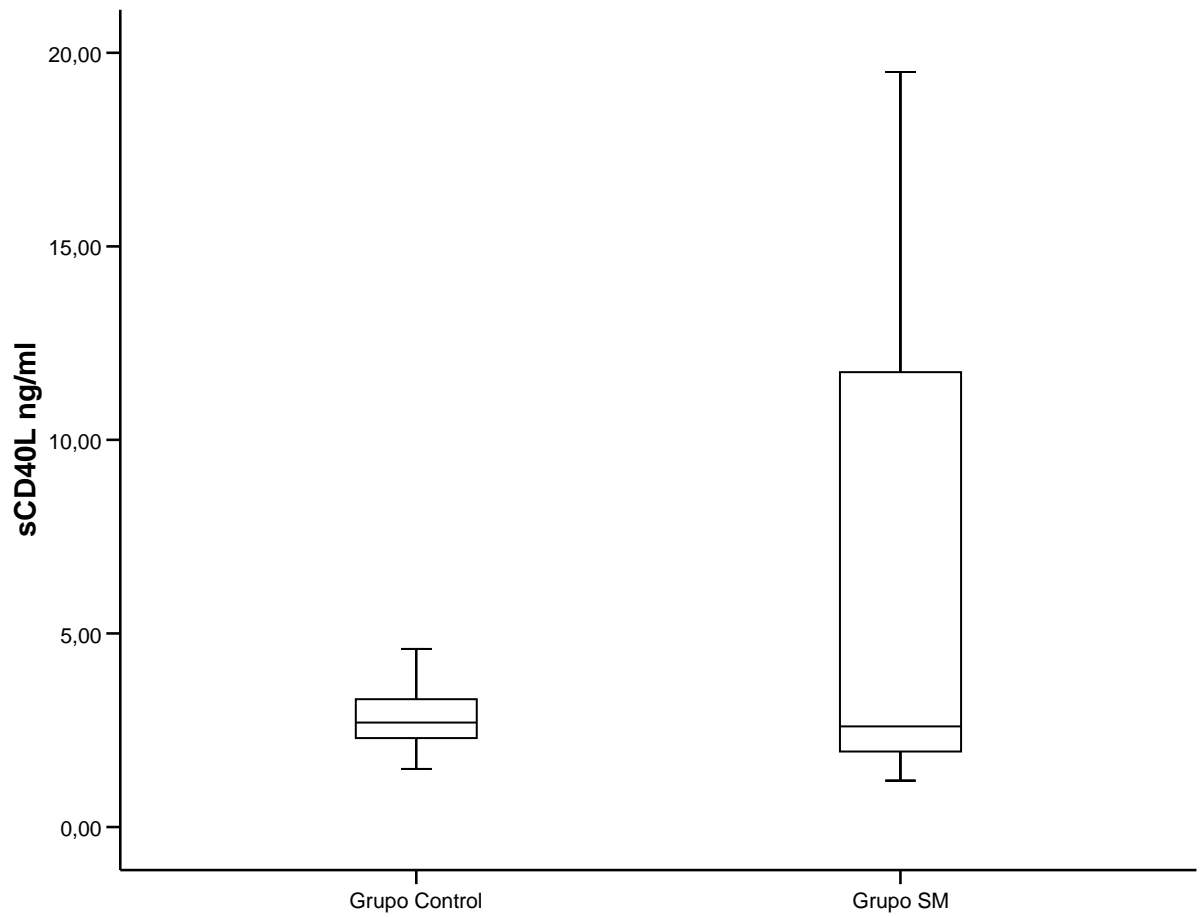
**Figura 10. Niveles de sVCAM-1 en el suero de 44 hombres con síndrome metabólico (SM) y 37 hombres sin SM o grupo control.**

Las líneas de la tapa, el centro, y el fondo de la caja corresponden a los percentiles 75, 50 (mediana), y 25. \*P< 0.0001. Comparado con el grupo control.



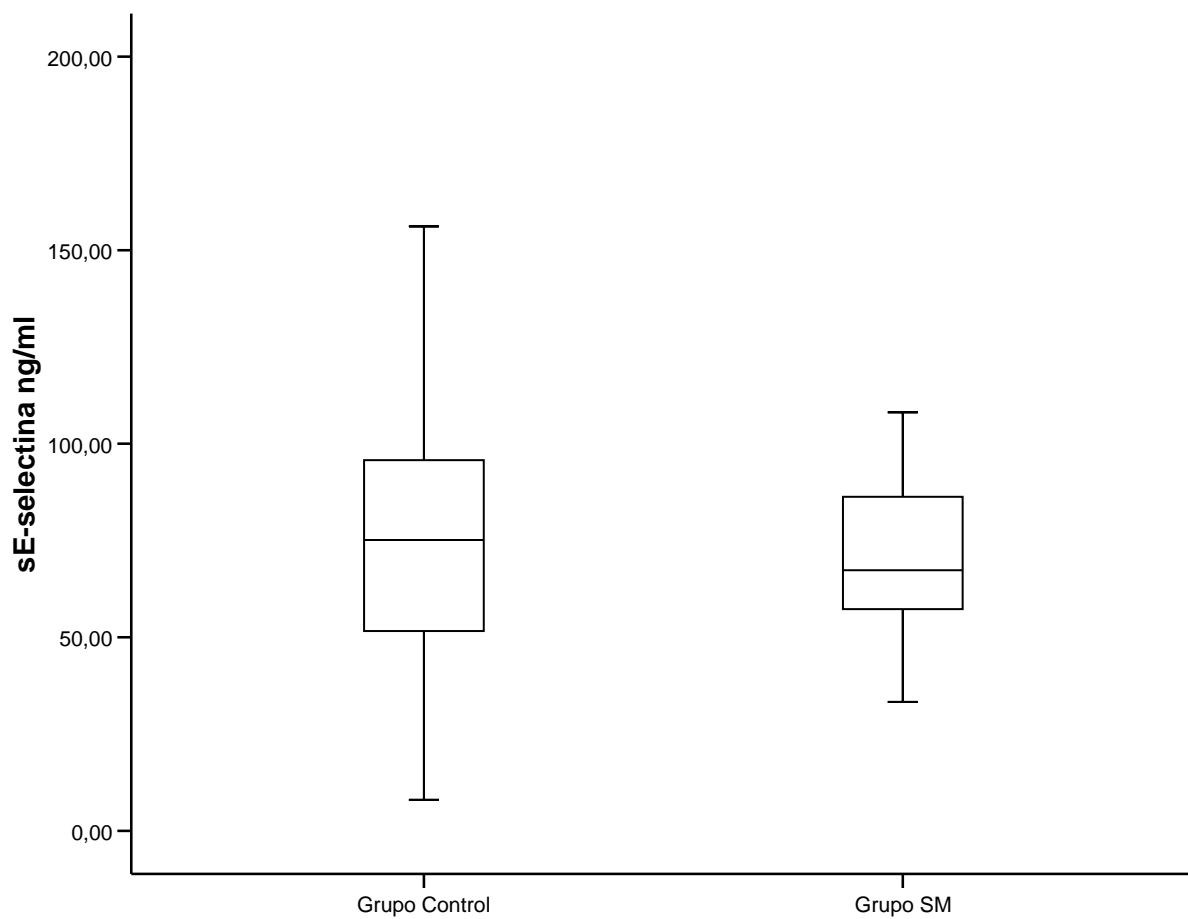
**Figura 11. Niveles de sCD40L en el suero de 49 mujeres con síndrome metabólico (SM) y 55 mujeres sin SM o grupo control.**

Las líneas de la tapa, el centro, y el fondo de la caja corresponden a los percentiles 75, 50 (mediana), y 25. \*P= 0.002. Comparado con el grupo control.



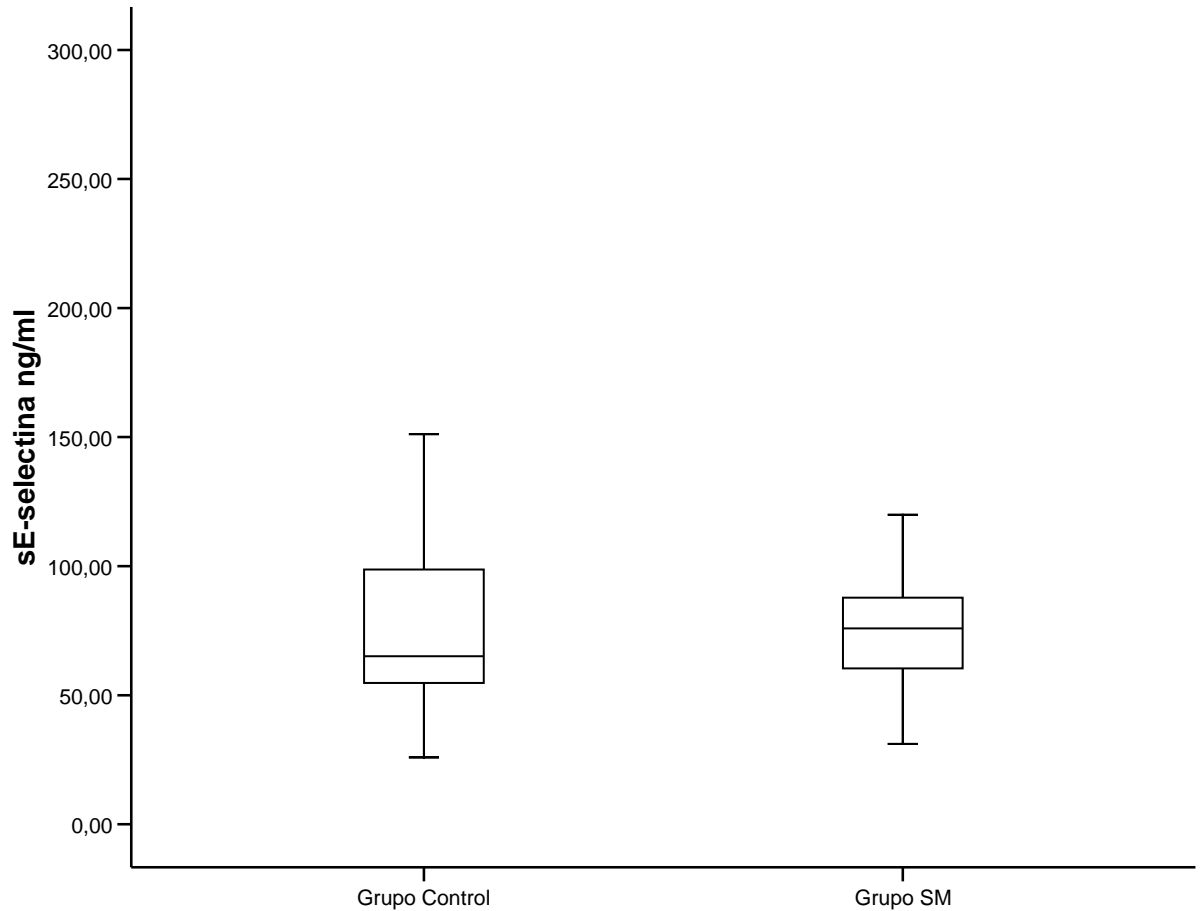
**Figura 12. Niveles de sCD40L en el suero de 44 hombres con síndrome metabólico (SM) y 37 Hombres sin SM o grupo control.**

Las líneas de la tapa, el centro, y el fondo de la caja corresponden a los percentiles 75, 50 (mediana), y 25. \*P= 0.028. Comparado con el grupo control.



**Figura 13. Niveles de sE-selectina en el suero de 49 mujeres con síndrome metabólico (SM) y 55 mujeres sin SM o grupo control.**

Las líneas de la tapa, el centro, y el fondo de la caja corresponden a los percentiles 75, 50 (mediana), y 25. \*P= 0.512. Comparado con el grupo control.



**Figura 14. Niveles de sE-selectina en el suero de 44 hombres con síndrome metabólico (SM) y 37 Hombres sin SM o grupo control.**

Las líneas de la tapa, el centro, y el fondo de la caja corresponden a los percentiles 75, 50 (mediana), y 25. \*P= 0.541. Comparado con el grupo control

La correlación de las moléculas estudiadas con cada uno de los parámetros medidos sin diferenciar entre grupo control y grupo SM se muestra en la tabla 4. Destaca la correlación positiva significativa encontrada entre sVCAM-1 y diámetro de cintura ( $r = 0.3$   $p < 0.001$ ) (Figura 15), sVCAM-1 y presión sistólica ( $r = 0.153$   $p = 0.037$ ) (Figura 16), también entre sVCAM-1 y presión diastólica ( $r = 0.208$   $p = 0.005$ ) (figura 17). Una correlación negativa significativa fue encontrada entre los niveles de sVCAM-1 y HDL-c ( $r = -0.221$   $p = 0.002$ ) (Figura 18).

Entre las correlaciones de las distintas moléculas de adhesión divididas en grupo SM y grupo control, con cada uno de los parámetros destaca la correlación positiva significativa en el grupo control de sE-selectina con presión diastólica, diámetro de cintura y peso con un  $r = 0.212$   $p = 0.042$  (figura 19),  $r = 0.280$   $p = 0.007$  (figura 20) y  $r = 0.229$   $p = 0.028$  (figura 21) respectivamente. El grupo SM no presentó correlaciones significativas con los distintos parámetros.

En el grupo con SM, las mujeres no presentan correlaciones significativas entre los niveles de los parámetros estudiados y las distintas moléculas. Los hombres presentaron una correlación positiva significativa entre los niveles de sVCAM-1 y presión diastólica ( $r = 0.372$   $p = 0.013$ ) (figura 22).

Las mujeres del grupo control presentaron una correlación positiva significativa entre los niveles de sE-selectina y presión diastólica ( $r = 0.293$   $p = 0.03$ ) (Figura 23), sE-selectina y diámetro de cintura ( $r = 0.351$   $p = 0.009$ ) (Figura 24), sE-selectina y peso ( $r = 0.292$   $p = 0.03$ ) (Figura 25). Los hombres solo presentaron una correlación positiva entre los niveles de sVCAM-1 y diámetro de cintura ( $r = 0.351$   $p = 0.001$ ). (Figura 26)

**Tabla 4. Correlación de los distintos parámetros con las moléculas en estudio.**

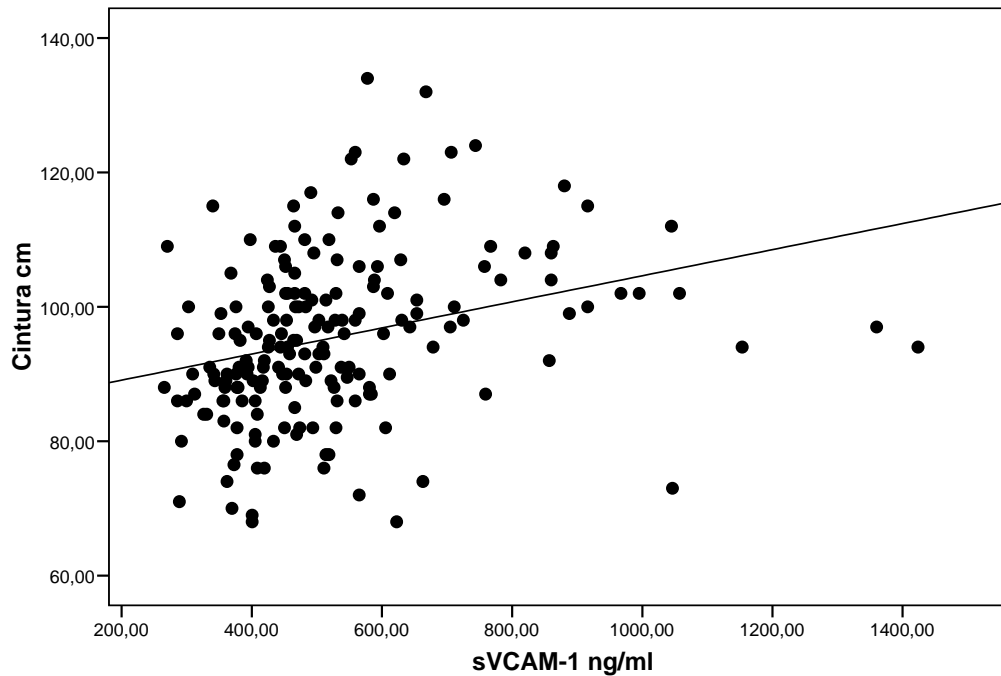
Parámetros	sE-selectina		sVCAM-1		sCD40L	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
<b>Glicemia</b>	0,171(*)	0,020	0,196(**)	0,008	0,163(*)	0,027
<b>Triglicéridos</b>	-0,021	0,772	0,042	0,573	0,127	0,085
<b>Presión sistólica</b>	0,087	0,239	0,153(*)	0,037	0,111	0,133
<b>Presión diastólica</b>	0,102	0,169	0,208(**)	0,005	0,154(*)	0,036
<b>HDL-c</b>	0,074	0,315	-0,221(**)	0,002	-0,134	0,070
<b>Diametro de cintura</b>	0,197(**)	0,007	0,300(**)	0,000	0,132	0,074
<b>Colesterol total</b>	0,062	0,401	-0,099	0,180	0,091	0,216
<b>LDL-c</b>	0,069	0,364	-0,054	0,478	0,023	0,757
<b>IMC</b>	0,080	0,280	0,198(**)	0,007	0,133	0,072
<b>Edad</b>	-0,019	0,800	0,215(**)	0,003	-0,140	0,057

HDL-c: lipoproteína de alta densidad colesterol; LDL-c: lipoproteína de baja densidad colesterol; IMC: Índice de masa corporal;

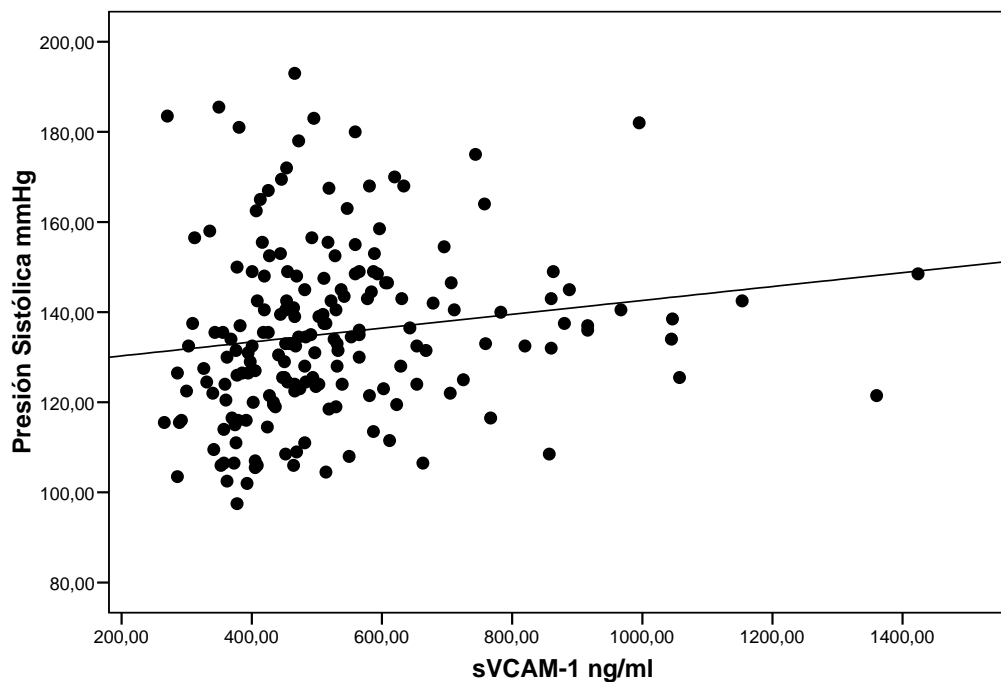
\* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

\*\* La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

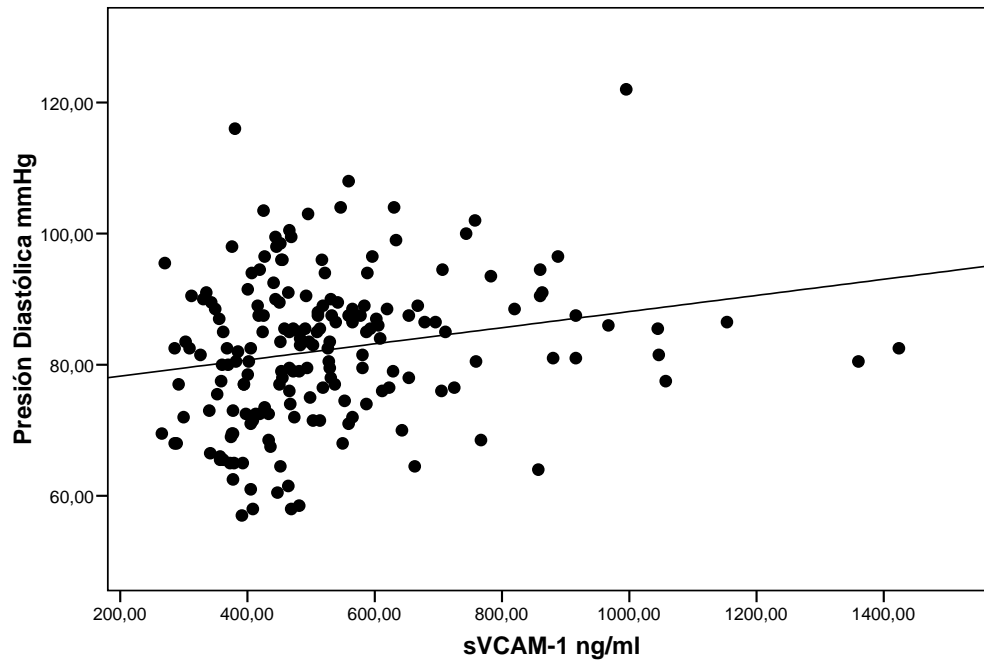




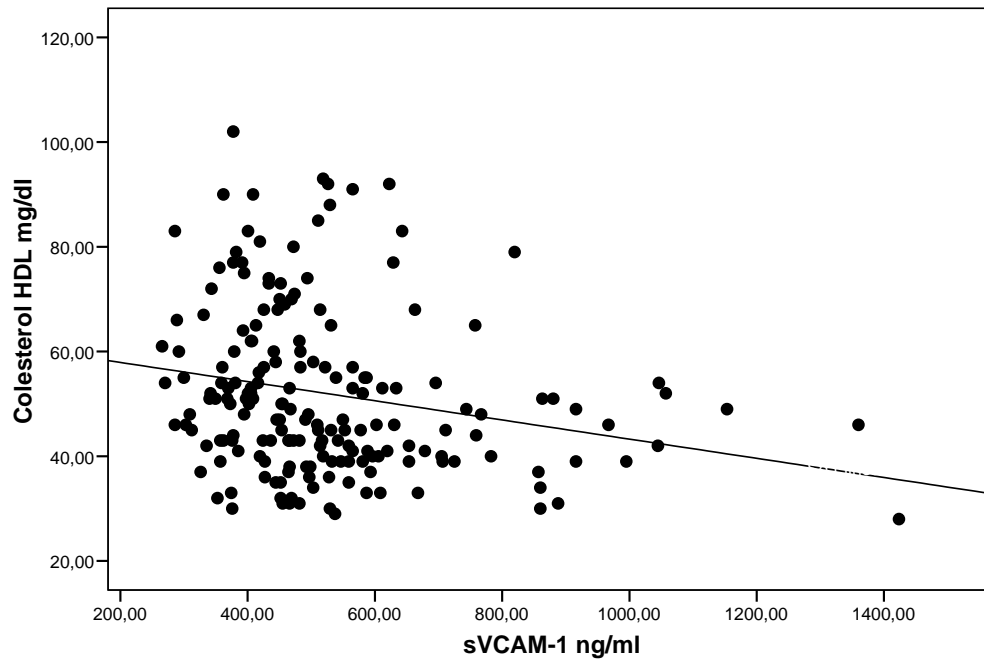
**Figura 15. Correlación entre niveles séricos de sVCAM-1 y diámetro de cintura en el total de personas en estudio. n: 185  $r = 0.3$   $p < 0.001$ .**



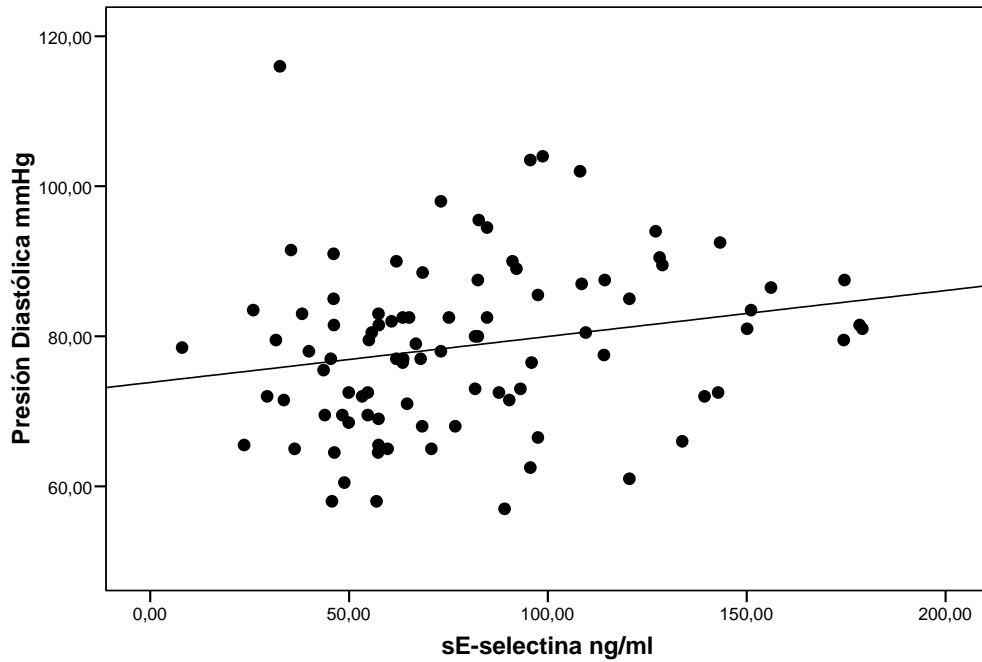
**Figura 16. Correlación entre niveles séricos de sVCAM-1 y presión sistólica en el total de personas en estudio. n: 185  $r = 0.153$ ,  $p = 0.037$ .**



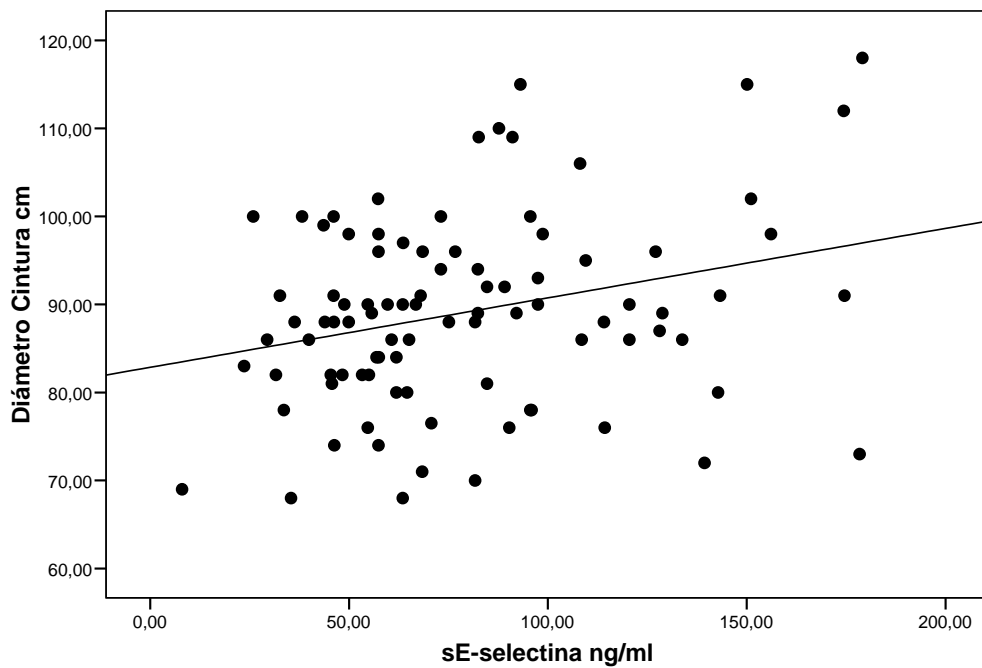
**Figura 17. Correlación entre niveles séricos de sVCAM-1 y presión diastólica en el total de personas en estudio. n: 185  $r = 0.208$ ,  $p=0.005$ .**



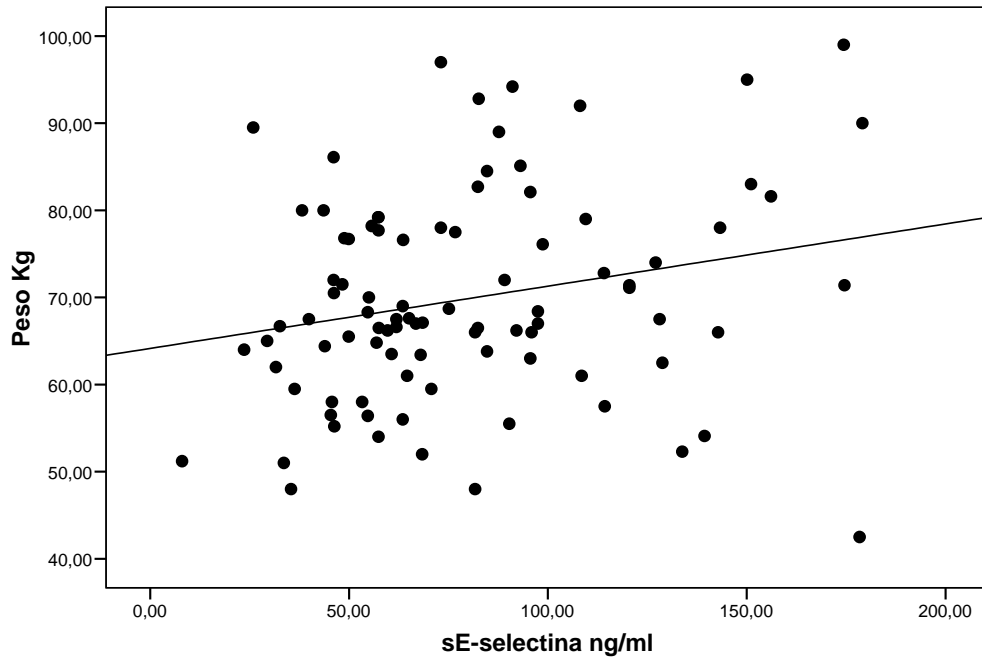
**Figura 18. Correlación entre niveles séricos de sVCAM-1 y colesterol HDL en el total de personas en estudio. n: 185  $r = -0.221$ ,  $p= 0.002$ .**



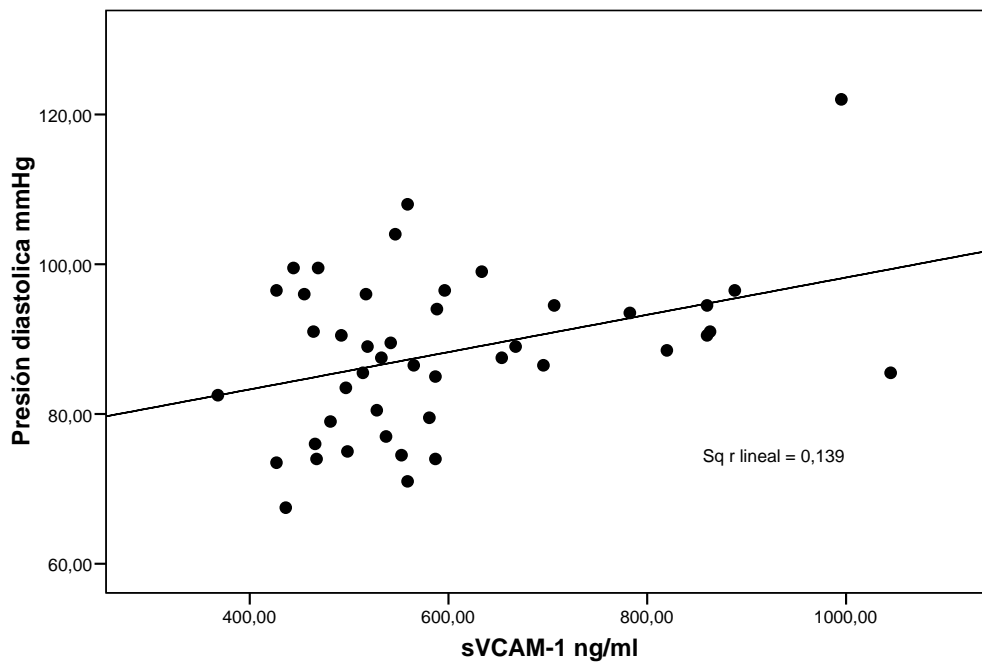
**Figura 19.** Correlación entre niveles séricos de sE-selectina y presión diastólica en el grupo control. n: 92  $r = 0.212$ ,  $p=0.042$ .



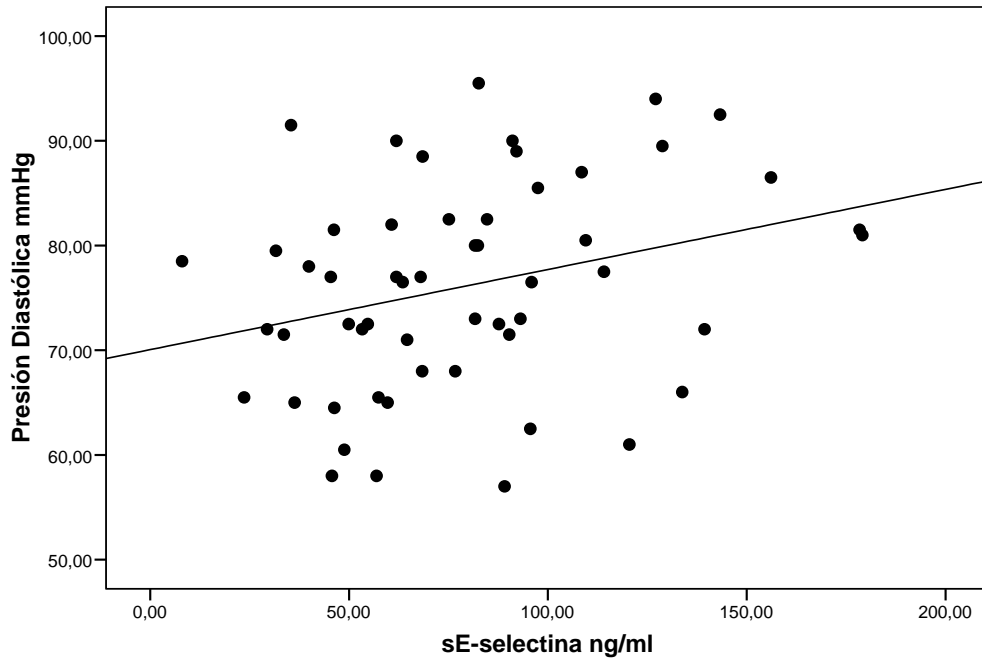
**Figura 20.** Correlación entre niveles séricos de sE-selectina y diámetro de cintura en el grupo control. n: 92  $r = 0.280$   $p=0.007$ .



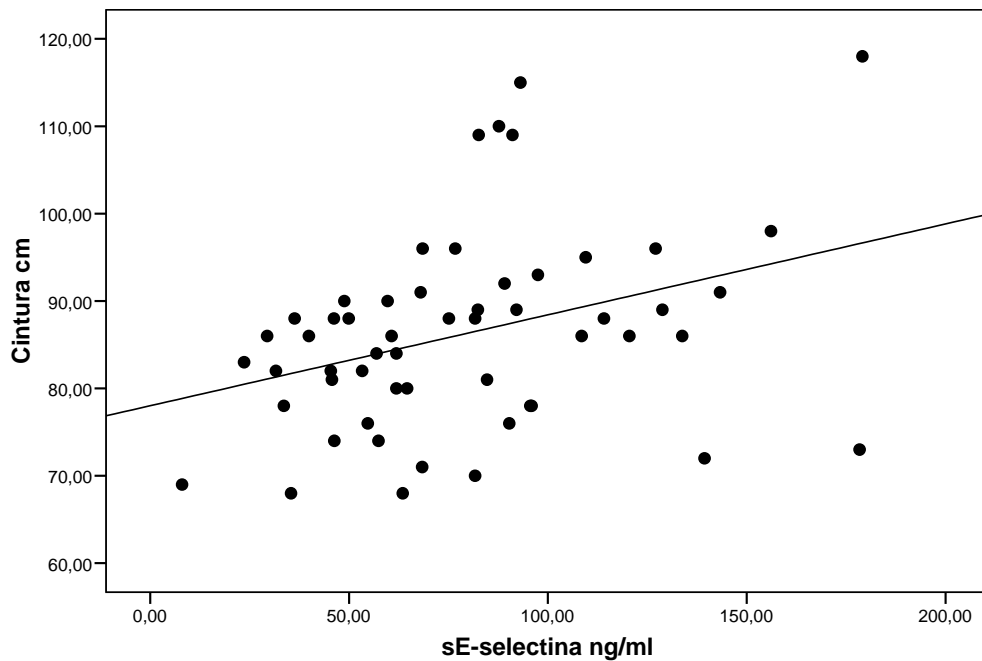
**Figura 21.** Correlación entre los niveles séricos de sE-selectina y peso en el grupo control. n: 92  $r = 0.229$ ,  $p=0.028$ .



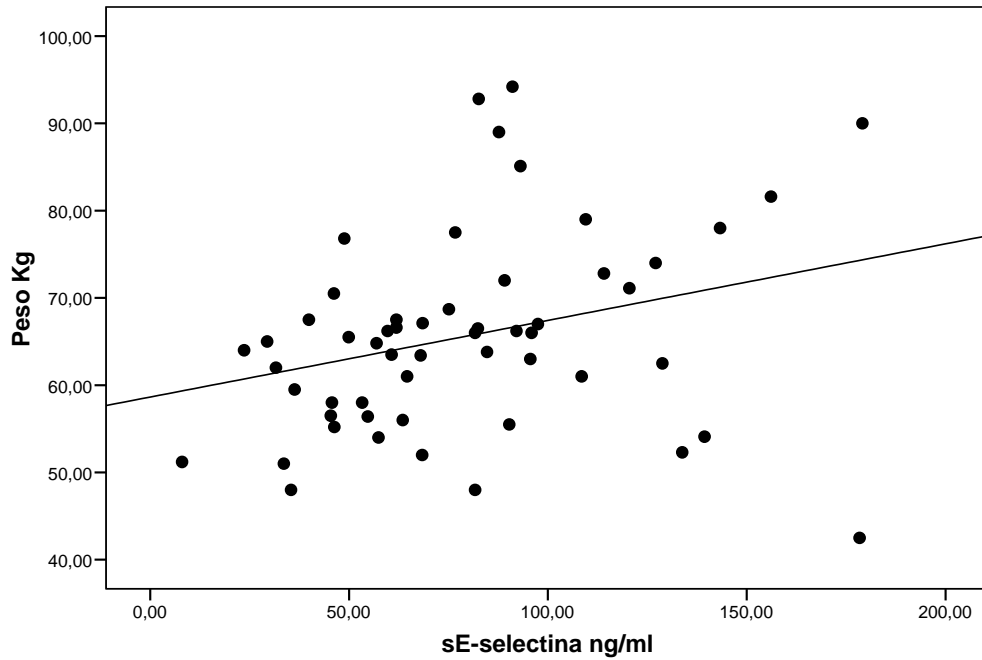
**Figura 22.** Correlación entre los niveles séricos entre sVCAM-1 y presión diastólica en hombres con SM. n: 44  $r = 0.372$ ,  $p = 0.013$ .



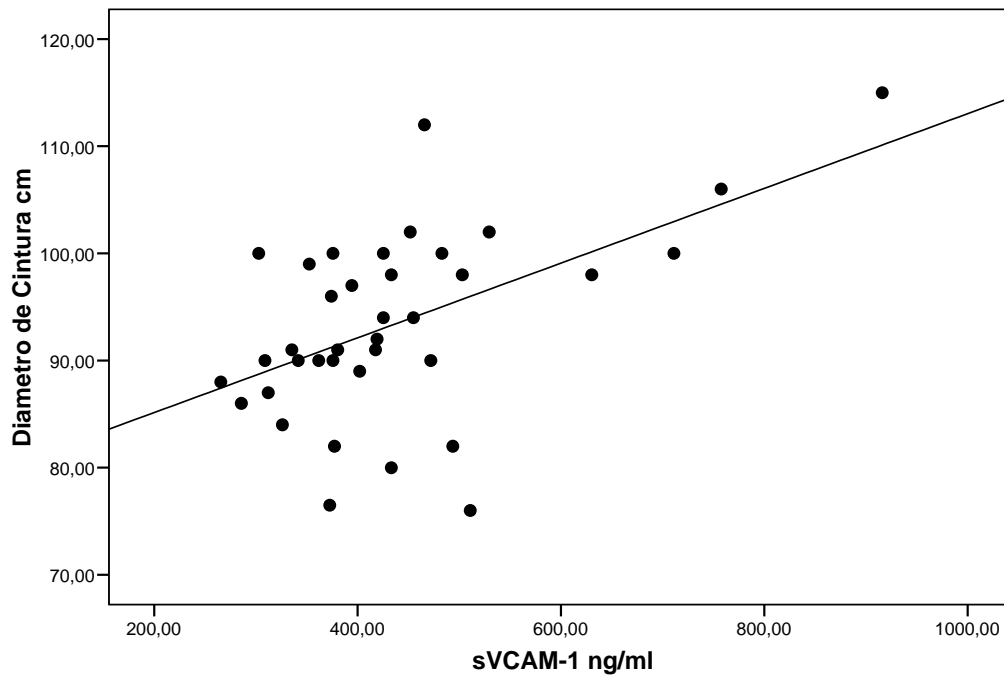
**Figura 23. Correlación entre los niveles séricos de sE-selectina y presión diastólica en mujeres del grupo control. n: 55  $r=0.293$ ,  $p=0.03$ .**



**Figura 24. Correlación entre los niveles séricos de sE-selectina y diámetro de cintura en mujeres del grupo control. n: 55  $r = 0.351$ ,  $p= 0.009$ .**



**Figura 25. Correlación entre los niveles séricos entre sE-selectina y peso en mujeres del grupo control. n: 55  $r = 0.292$  ,  $p = 0.03$ .**



**Figura 26. Correlación entre niveles séricos de sVCAM-1 y diámetro de cintura en hombres del grupo control. n: 37  $r = 0.351$  ,  $p = 0.001$ .**

## VII. Discusión

El SM se caracteriza por una constelación de factores de riesgo cardiovascular (Fulop et al 2006). Esta formado por un conjunto de alteraciones patológicas destacando entre ellas la intolerancia a la glucosa y la diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial y una dislipidemia caracterizada por hipertrigliceridemia y niveles bajos de HDL-c (Reaven, 1988; Bonora, 2003). En los últimos años han aumentado los estudios sobre el síndrome metabólico en todo el mundo, Isomaa (2001) en un estudio realizado en Botnia encontraron una prevalencia de síndrome metabólico (según el criterio de la OMS). Los autores concluyeron que el síndrome metabólico aumenta por 2 el riesgo de accidentes vasculares cerebrales y por 3 el riesgo de enfermedad coronaria. Otro estudio es el Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study, publicado por Lakka (2002), indica que el riesgo relativo para mortalidad coronaria fue 4,3 veces mayor, para cardiovascular 2,3 y para total 1,7 aunque estos dos últimos sin alcanzar significación estadística. También se han realizados estudios en América del norte los cuales mostraron una prevalencia general de SM de 24%, la cual aumenta y es directamente proporcional con la edad, (Trejo, 2004) en nuestro país se han realizado estudios los cuales muestran una prevalencia de 22,6% y en especial nuestra región (VII) que presenta un 28,1% (Ministerio de Salud Chile).

Las personas con SM presentan un estado proinflamatorio el cual se evidencia con niveles elevados de citoquinas como FNT- $\alpha$ , IL-6 y reactantes de fase aguda. Estas citoquinas promueven la expresión de moléculas de adhesión como VCAM-1, E-selectina y CD40L todas estas moléculas de adhesión son vitales para la interacción adhesiva que es un prerrequisito para el normal accionar de todos los componentes del sistema cardiovascular, pero al existir un estado proinflamatorio se va a producir un aumento de éstas moléculas. Lo cual se relaciona con un aumento de riesgo cardiovascular (Grundy et al., 2004).

En este estudio, los resultados demostraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo SM y el grupo control en los niveles séricos de sVCAM-1 y sCD40L. No así en los niveles séricos de sE-selectina los que no presentaron diferencias significativas entre

los dos grupos, los niveles séricos de esta molécula se encuentran elevados en el grupo control, esto se puede deber al hecho que estos pacientes pueden tener hasta dos factores de riesgo por lo cual puede presentar un aumento de las moléculas según el parámetro estudiado. Trabajos enfocados en el estudio de los niveles de sE-selectina y sVCAM-1 en pacientes con hipertensión muestran niveles más altos de estas moléculas que pacientes de grupo control (Kanazawa S, 2002; Blann A, 1994; Felmeden D, 2003). Estos resultados se pueden relacionar con lo obtenido en este estudio con la molécula sVCAM-1, solo relacionar y no confirmar debido a que nuestros pacientes con SM presentaron por lo menos tres factores alterados para poder ser catalogados como tal, la hipertensión, el aumento del diámetro de cintura y hipertrigliceridemia son los factores de mayor prevalencia en el grupo SM y control. Sin embargo, otros estudios no encontraron diferencias en los niveles de sE-selectina entre un grupo con hipertensión y grupo control (DeSouza C, 1997) lo que se puede relacionar con lo ocurrido en nuestro estudio con respecto a ésta molécula. Jin-Chuan Yan (2005) obtuvo que pacientes con hipertensión demostraron un aumento significativo de la expresión de sCD40L ( $12.8 \pm 3.9$  ng/ml) comparados con los controles ( $p < 0.0001$ ).

En este trabajo se observó una correlación significativa entre las presiones sistólicas y diastólicas y los niveles del suero de sVCAM-1 al enfrentar esta molécula con el total de pacientes, grupo control y grupo SM. También al dividir los grupos por sexo los hombres con SM presentan una correlación significativa entre sVCAM-1 y presión diastólica. Los niveles séricos de sE-selectina se correlacionaron significativamente con la presión diastólica en el grupo control y también al separar el grupo por sexo presenta una correlación positiva significativa con las mujeres. Varios autores han divulgado la asociación entre los niveles de sVCAM-1 y la presión arterial (DeSouza, 1997; Parissis, 2001). Un aumento en la presión arterial se podría asociar a un aumento de estas moléculas, que podrían accionar el desarrollo de una serie de disfunciones y de daños sistémicos que puedan causar un aumento de enfermedades cardiovasculares. La elevación de estas moléculas se ha relacionado con los acontecimientos y los desórdenes trombóticos de la aterosclerosis (Palomo, 2003; Chalmers, 1999)



Otro factor de riesgo cardiovascular importante es la insulino resistencia y la diabetes, diversos estudios revelan la relación que existe entre este factor y las diferentes moléculas estudiadas en este trabajo. Chen (1999) obtuvo resultados que indicaron que el grado de resistencia a la insulina fue correlacionado con concentraciones elevadas de sE-selectina y sVCAM-1. Además en este mismo estudio el atascamiento mononuclear a la célula fue correlacionado perceptiblemente con concentraciones elevadas de sE-selectina. Estos resultados elevan la posibilidad de que las relaciones previamente descritas entre las moléculas de adhesión solubles en pacientes con hipertensión, diabetes, y el dislipidemia puede ser debido a la presencia de la resistencia de insulina. Incluso publicaciones anteriores a esta, de fines de los años 90 han demostrado que las moléculas de adhesión solubles aumentan en pacientes con hipertrigliceridemia, hipertensión, diabetes (Ferri, 1998; Kautzky-Willer, 1997). El elemento común en estos síndromes clínicos es la presencia de la resistencia a la insulina, elevando la posibilidad del aumento en circulación de las moléculas de adhesión. Con respecto a los niveles de sCD40L, Jin Chuan (2005) obtuvo en su estudio que los niveles de sCD40L era perceptiblemente más alta en pacientes con hipertensión comparados con los del grupo control, de edad comparable ( $p = 0.0001$ ). En otros estudios sCD40L es asociado a síndromes coronarios agudos (Yan, 2002), pero también a hipercolesterolemia (Clipollone, 2002), y los niveles elevados de sCD40L pueden predecir un riesgo cardiovascular creciente (Schonbeck, 2001), y es un marcador pronóstico independiente para las enfermedades cardiovasculares entre los individuos sanos (Guldiken S, 2007). En el presente trabajo no se observaron correlaciones estadísticamente significativas entre algún parámetro (Factores de riesgo) y sCD40L, pero si una diferencia significativa en los niveles séricos de esta molécula, entre el grupo SM y el control.

Otro de los factores de riesgo que predominan en el grupo SM (70.9%) y control (23.9%), siendo el segundo después de la Hipertensión (79.5% SM y 63.8 grupo control) en ambos grupos, es la obesidad abdominal (diámetro de cintura). Algunos estudios muestran como resultado que no existen diferencias significativas entre un grupo obeso y uno control (Guldiken S, 2007), pero si había correlaciones significativas con IMC y Diámetro de cintura, presión diastólica, presión sistólica, triglicéridos y glucosa. Lo cual no sucedió en este estudio con respecto a esta molécula (sCD40L), como lo obtenido por Davi (2002), que no encontró ninguna correlación significativa entre los niveles de sCD40L e IMC, diámetro

de cintura. Por lo tanto, es razonable asumir que los niveles crecientes de sCD40L en obesidad son independientes del IMC o la obesidad abdominal. Estudios recientes tratan de explicar el aumento de los niveles de sCD40L en obesidad severa, estos apuntan a la activación plaquetaria. El mecanismo que explica la expresión de CD40L por las plaquetas activadas sigue siendo confuso, pero un estudio reciente proporcionó la primera evidencia que la producción del  $O_2^-$  de la plaqueta desempeña un papel dominante en la expresión de CD40L (Pignatelli, 2004; Furukawa, 2004)

Con respecto a la obesidad abdominal e IMC y las moléculas de adhesión, Miller y Cappuccio (2006) muestran en sus resultados que los niveles de sE-selectina fueron asociados positivamente a IMC y al diámetro de cintura. No había interacciones importantes con el sexo o la pertenencia étnica y en su conclusión indica que las relaciones entre las moléculas de la adherencia y las medidas convencionales de obesidad son molécula de la adherencia específica y son las más fuertes entre sE-selectina y obesidad abdominal (Constans, 2006). En este trabajo se observan correlaciones significativas entre sE-selectina, diámetro de cintura y peso en pacientes del grupo control a diferencia del grupo SM, estas correlaciones significativas también se observan en las mujeres del grupo control al dividir este grupo por sexo, los hombres no presentan correlaciones significativas con sE-selectina. Aunque los niveles de sE-selectina son típicamente más bajos en mujeres que en hombres, sE-selectina aumenta después de la menopausia (Jilma, 1996; Blann, 1997), lo cual podría explicar las correlaciones significativas entre mujeres con sE-selectina y la ausencia en hombres ya que este estudio va dirigido a personas entre 45 y 64 años, además predominan las mujeres en el grupo control, 55 contra 37 hombres. En los hombres del grupo control solo se apreció una correlación significativa entre sVCAM-1 y diámetro de cintura. Al dividir el grupo SM por sexo no se observan correlaciones significativas entre las moléculas de adhesión y diámetro de cintura. Al correlacionar el total de los pacientes grupo SM y Control se observa correlación significativa entre sVCAM-1 y diámetro de cintura y una correlación negativa estadísticamente significativa con HDL. En otros estudios se ha demostrado que sE-selectina, y sVCAM-1 aumentan perceptiblemente en el suero de pacientes con hipertrigliceridemia severa en comparación con un grupo control, incluso después del ajuste para la consideración hipertensión y el fumar (Nawawi, 2003). Una lipólisis defectuosa, que tiene como resultado un aumento marcado en los

niveles de triglicéridos y disminución de HDL, pueden aumentar la susceptibilidad a la aterosclerosis en seres humanos. Los resultados del estudio realizado por Nawawi y colaboradores (2003) demuestran que los pacientes con los niveles crecientes de triglicéridos y de colesterol HDL bajo aumentan los niveles de moléculas de adhesión soluble, mientras que los altos niveles de HDL inhiben la expresión endotelial de estas moléculas en respuesta a citoquinas (Leung WH, 1993).

## VIII. Conclusiones

1. La concentración sérica de sVCAM-1 y sCD40L fue significativamente mayor en los individuos que presentaban SM que en los del grupo control.
2. El nivel sérico de sE-selectina no presentó diferencias significativas entre ambos grupos estudiados.
3. sVCAM-1 y sE-selectina mostraron correlación positiva con presión diastólica, sistólica y diámetro de cintura. sVCAM-1 presenta una correlación negativa con HDL-c. sCD40L no presenta correlaciones significativas con los distintos parámetros estudiados.

## IX. Bibliografía

- Altman, R.; 2005. Trombosis: Fisiología, mecanismos de enfermedad y tratamiento. Buenos Aires: Librería Akadia. Primera edición. 550p.
- Anne G. Semb, Sanne van Wissen, Thor Ueland, Tineke Smilde, Torgun Waehre, et al. 2003. Raised serum levels of soluble cd40 ligand in patients with familial hypercholesterolemia: downregulatory effect of statin therapy. *Journal of the American College of Cardiology* 41 (2):275-279.
- Arauz-Pacheco C, Parrot M, Raskin P. 2002. The Treatment of Hypertension in Adult Patients With Diabetes *Care* 25 (1).
- Alberti K, Zimmet P, Shaw J. 2005. For the IDF Epidemiology Task. Force Consensus Group. *Lancet*. 366:1059–62.
- André, P, Nannizzi-Alaimo, L, Prasad, S, Phillips, R. 2002. Platelet- Derived CD40L: The switch-Hitting Player of CardiovascularDisease. *Circulation*.106: 896-899.
- Bannan, S., Manfield, M., Grant, P. 1998. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 and E-selectin levels in relation to vascular risk factors and to E-selectin genotype in the first degree relatives of NIDDM patients and in NIDDM patients. *Diabetologia*. 41:460-466.
- Blankenberg S, Barboux S, Tiret L. 2003. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 170:191–203.
- Blann A, Davis A, Miller JP, McCollum CN. 1997. Von Willebrand factor and soluble E-selectin in hyperlipidaemia: relationship to lipids and vascular disease. *Am J Hematol*. 55:15 –23.

- Blann A, Tse W, Maxwell S, Waite M. 1994. Increased levels of the soluble adhesion molecule E-selectin in essential hypertension. *J Hypertens.* 12(8):925–928.
- Blann A, McCollum CN. 1994. Circulating endothelial cell/leukocyte adhesion molecules in atherosclerosis. *Thromb Haemost* 72:151–4.
- Bonora E, Kiechl S, Willeit J et al. 2003. Metabolic syndrome: epidemiology and more extensive phenotypic description. Cross-sectional data from the Bruneck Study. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 27: 1283-9.
- Carr D, Utzschneider K, Hull R, Kodama K, Retzlaff B, Brunzell J. 2004. Intra-abdominal fat is a major determinant of the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III criteria for the metabolic syndrome. *Diabetes.* 53:2087–94.
- Cines DB, Pollak ES, Buck CA, et al. 1998. Endothelial cells in physiology and pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 91:3527– 61.
- Clipollone F, Mezzetti A, Porreca E, Febbo CD, Nutini M, Fazio M. 2002. Association between enhanced soluble CD40L and prothrombotic state in hypercholesterolemia: effects of statin therapy. *Circulation.* 106:399– 402.
- Chalmers J, MacMahon S, Mancia G, Whitworth J, Beilin L, Hansson L, Neal B, Rodgers A, Ni Murchu C, Clark T. 1999 World Health Organization-International Society of Hypertension Guidelines for the management of hypertension. Guidelines sub-committee of the World Health Organization. *Clin Exp Hypertens.* 21(5–6):1009–1060.
- Chen N, Holmes M, Reaven G. 1999. Relationship Between Insulin Resistance, Soluble Adhesion Molecules, and Mononuclear Cell Binding in Healthy

Volunteers. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* Copyright. 84(10): 3485-3489.

- Constans J, Conri C. 2006. Circulating markers of endothelial function in cardiovascular disease. *Clinica Chimica Acta*. 368:33 – 47.
- Davi G, Guagnano M, Ciabattini G, Basili S, Falco A, Marinopicolli M. 2002. Platelet activation in obese women: role of inflammation and oxidant stress. *JAMA*. 288: 2008– 14.
- DeSouza C, Dengel D, Macko R, Cox K, Seals D. 1997. Elevated levels of circulating cell adhesion molecules in uncomplicated essential hypertension. *Am J Hypertens*. 10(12):1335–1341.
- Endler, G., Exner, M, Raith, M, Marculescu, R, Mannhalter, C, Endler, L, et al. 2003. The E-selectin S128R polymorphism is not a risk factor for coronary artery disease in patients with diabetes mellitus type 2. *Thrombosis Research*. 112: 47-50.
- Felmeden D, Spencer C, Belgore FM, Blann A, Beevers D, Lip G. 2003. Endothelial damage and angiogenesis in hypertensive patients: relationship to cardiovascular risk factors and risk factor management. *Am J Hypertens*. 16(1):11– 20.
- Ferri C, Desideri G, Baldoncini RL. 1998 Early activation of vascular endothelium in nonobese, nondiabetic essential hypertensive patients with multiple metabolic abnormalities. *Diabetes*. 47:660–667.
- Frenette Ps, Wagner DD. 1996. Adhesion Molecules- Part 1. *N Engl J Med*. 334: 1526-29.

- Franklin SS, Khan SA, Wong ND, Larson MG, Levy D. 1999. Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary Heart disease? The Framingham heart study. *Circulation* 100: 354-60.
- Fulop, T., Tessier, D., Carpentier, A. 2006. The Metabolic Syndrome. *Pathologic Biologie*. 1-12.
- Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y. 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 114: 1752– 61.
- Gearing AJH, Newman W. Circulating adhesion molecules in disease. 1993. *Immunol Today* 14:506– 12.
- Gokulakrishnan, K., Deepa, R., Mohan, V., Gross, M. 2006. Soluble P-selectin and CD40L levels in subjects with peditabetes, diabetes mellitus, and metabolic syndrome. *Metabolic Clinical and Experimental*. 55: 237- 242.
- Graf D, Korthauer GD, Mages HW, Senger G, Kroczeck RA. 1992. Cloning of TRAP, a ligand for CD40 on human T cells. *Eur J Immunol* 22:3191—4.
- Guldiken S, Demir M, Arikan E, Turgut B, Azcan S, Gerenli M, Tugrul A. 2007. The levels of circulating markers of atherosclerosis and inflammation in subjects with different degrees of body mass index: Soluble CD40 ligand and high-sensitivity C-reactive protein. *Thrombosis Research*. 119:79—84.
- Grundy S, Cleeman J, Daniels S, Donato K, Eckel R, Franklin B, Gordon D, Krauss R, Savage P, Smith S, Spertus J, Costa F: Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005; 112: 2735-2752.



- Isomaa B, Almgren P, Tuomi T. 2001. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 24: 683-9.
- Isomaa, B. 2003. A major health hazard: the metabolic syndrome. *Life sciences*. 73: 2395-2411.
- Jilka B, Dirnberger E, Eichler H, Kapiotis S. 1996. Sex differences in circulating P-selectin, E-selectin and thrombomodulin. *Br J Haematol*.95:575– 6.
- Jin-Chuan Y, Gen-Shan M, Zong-Gui W, Xian-Tao K, Ren-Qian Z, Lin-Zen Z. 2005. Increased levels of CD40–CD40 ligand system in patients with essential hypertension. *Clinica Chimica Acta* 355:191–196.
- Kanazawa S, Fukuhara S. 2002. Effects of efonidipine on platelet and monocyte activation markers in hypertensive patients with and without type 2 diabetes mellitus. *J Hum Hypertens*. 16(8):539–547.
- Kautzky-Willer A, Fasching B, Jilka B, Waldhausl W, Wagner O. 1997 Persistent elevation and metabolic dependence of circulating E-selectin after delivery in women with gestational diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*.82:4117– 4121.
- Kon, K., Hwan, S., Quon, M. 2005. Inflammatory Markers and the Metabolic Syndrome. *Journal of the American College of Cardiology*.40 (11): 1978-1985.
- Lakka H, Laaksonen D, Lakka T. 2002. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA*. 288: 2709-16.
- Lee, W., Lee, J., Chen, Y., Liu, T., Liang, K., Ting, C., et al. 2006. The presence of metabolic syndrome is independently associated with elevated serum CD40 ligand and disease severity in patients with symptomatic coronary artery disease. *Metabolic Clinical and Experimental*. 55:1029-1034.

- Ledford M, Materson B, Baltodano N, Memon A, Alonso A. 2002. Effects of severe, uncontrolled hypertension on endothelial activation: soluble vascular cell adhesion molecule-1, soluble intercellular adhesion molecule-1 and von Willebrand factor. *J Hypertens.* 20(5):871–877.
- Leung WH, Lau CP, Wong CK. 1993. Beneficial effect of cholesterol lowering therapy on coronary endothelium-dependent relaxation in hypercholesterolaemic patients. *Lancet.* 341:1496-500.
- Maiz A. El síndrome metabólico y riesgo cardiovascular. 2005 . Boletín de la escuela de medicina PUC. 30(1):25-30.
- Matsuda M, Shimomura I. 2004. Adipocytokines and metabolic syndrome- molecular mechanism and clinical implication. *Nippon Rinsho*, 62: 1085-90.
- Ministerio de Salud de Chile. Encuesta Nacional de Salud. [www.minsal.gov.cl](http://www.minsal.gov.cl)
- Miller M, Cappuccio F. 2006. Cellular adhesion molecules and their relationship with measures of obesity and metabolic syndrome in a multiethnic population. *International Journal of Obesity.* 30: 1176–1182.
- Miralles M, Hernandez A, Figueras Y. 2002. Marcadores de inflamación y activación endotelial en la progresión de la arteriosclerosis. Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. Hospital del Mar. Barcelona Cardiovascular risk factors. 18-285.
- Muller W, Weigl S, Deng X, Phillips D. 1993. PECAM-1 is required for transendothelial migrations of leukocytes. *Exp. Med.* 178:449-60.
- National Cholesterol Education Program, National Heart, Lung, and Blood Institute, National Institutes of Health. 2002. 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) Final Report. *Circulation*; 106;3143-3373.

- Nawawi H, Osman N, Annuar R, Khalid A, Yusoff K. 2003. Soluble intercellular adhesion molecule-1 and interleukin-6 levels reflect endothelial dysfunction in patients with primary hypercholesterolaemia treated with atorvastatin. *Atherosclerosis*. 169:283-291.
- Newman W, Beall LD, Carson CW, et al. 1993. Soluble E-selectin is found in supernatants of activated endothelial cells and is elevated in the serum of patients with septic shock. *J Immunol* 150:644–54.
- Otterdal K, Pedersen M, Nils Olav Solum. 2004. Release of soluble CD40 ligand after platelet activation Studies on the solubilization phase. *Thrombosis Research* 114:167-177.
- Palomo I, Marín P, Alarcón M, Gubelin G, Viñambre X, Mora E, Icaza G. 2003. Patients with Essential Hypertension Present Higher Levels of sE-Selectin and sVCAM-1 Than Normotensive Volunteers. *Clinical and Experimental Hypertension* 25(8): 517–523.
- Parissis J, Venetsanou K, Mentzikof D, Kalantzi M, Georgopoulou M, Chrisopoulos N, Karas S. 2001. Plasma levels of soluble cellular adhesion molecules in patients with arterial hypertension. Correlations with plasma endothelin-1. *Eur J Intern Med*. 12(4):350–356.
- Patrick A, Nannizzi-Alaimo L, Srinivasa K, Phillips D. 2002. Platelet-Derived CD40L: The Switch-Hitting Player of Cardiovascular Disease. *Circulation* 106:896-899.
- Pignatelli P, Sanguigni V, Lenti L, Ferro D, Finocchi A, Rossi P, Violi F. 2004. gp91phox-dependent expression of platelet CD40 ligand. *Circulation*. 110:1326–9.

- Petruzzelli L, Takami M, Humes DH. 1999. Structure and Function of Cell Adhesion Molecules. *Am J Med.* 106: 467-475.
- Reaven GM. Banting lecture 1988. 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 3:1595-607.
- Shepherd P, Kahn B. 1999. Glucosa transporters and insulin action-implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 341: 248-57.
- Schonbeck U, Varo N, Libby P, Buring J, Ridker PM. 2001. Soluble CD40L and cardiovascular risk in women. *Circulation.*104:2266– 8.
- Sprinber T, Sibulsky M. 1996. Traffic signals on endothelium for leucocytes in health, inflammation and atherosclerosis. *Atherosclerosis and coronary artery disease.*1: 511-538.
- Stack FM. 1996. Colesterol and recurrente events trial (CARE) investigador. *New England Journal Medicine.* 335: 1001.
- Steimberg D.1997. Oxidative modifications of LDL and atherogenesis. *Circulation* 95: 1062-1071.
- Stytkowski PA, D'Agostino RB, Belanger AJ, KanelWB. 1996. Secular trenes in long-term sustained hipertensión, long-term treatment and cardiovascular mortality. The Framingham Heart Study 1950 to 1990. *Circulation* 93:697-703.
- Trejo J.2004. Epidemiología del síndrome metabólico y diabetes mellitus tipo 2: ¿El diluvio que viene? *Archivos de Cardiología de México.* 74(2): 267-270.
- The world health report 2002: Reducing risks, promoting healthy life. World Health Organization (WHO); 2002.

- World Health Organization (1999): Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Its Complications: Report of a WHO Consultation. Geneva, World Health Org.
- Yan J, Wu Z, Li L, Zhong R, Kong X. 2002. The clinical implications of increased expression of CD40L in patients with acute coronary syndromes. Chin Med J. 3:115:491.
- Yeh ETH, Anderson V, Pasceri V, Willerson JT. 2001. C-Reactive Protein. Linking inflammation to cardiovascular complications. Circulación : 104: 974-5