



Valoración de las concentraciones plasmáticas de la proteína plasmática A- asociada con el embarazo (PAPP-A) en las coronarias y en el nivel periférico en pacientes con cardiopatía isquémica con aplicación de cateterismo cardiaco

RESUMEN

Antecedentes: uno de los principales objetivos de la investigación cardiovascular es encontrar nuevos marcadores de daño cardiaco que puedan mejorar el diagnóstico y la clasificación de los pacientes según su riesgo. La proteína plasmática-A asociada al embarazo (PAPP-A) es un marcador emergente relacionado con la aterogénesis y la cardiopatía isquémica.

Objetivo: determinar la asociación entre las concentraciones plasmáticas de la proteína PAPP-A a nivel coronario y periférico en pacientes con diagnóstico de cardiopatía isquémica secundaria a aterosclerosis y en pacientes sin la enfermedad.

Materiales y método: estudio observacional, prospectivo, transversal, de casos y controles al que se incluyeron pacientes que recibieron cateterismo cardiaco para tratar la obstrucción coronaria secundaria a la aterosclerosis (n=35) o para corregir defectos intracavitarios (n=30). Durante la intervención percutánea coronaria se obtuvieron muestras de sangre coronaria y periférica (arterial radial o femoral) por medio de un microcatéter cerebral. El análisis de las concentraciones plasmáticas de PAPP-A se realizó con el equipo manual de ELISA ultrasensible DRG®.

Resultados: en el grupo de casos la media de las concentraciones plasmáticas, a nivel periférico, fue de 247.88 ng/mL (11.58-560.70) y en el grupo de controles de 158.72 ng/mL (4.58-335.58); en el grupo de casos a nivel coronario fue de 324.99 ng/mL (9.46-635.88) y en el grupo de controles de 206.98 ng/mL (15.30-466.53). En el sitio de obtención de la muestra a nivel periférico o coronario existió una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo de casos y el grupo control ($p=0.007$ y $p=0.001$, respectivamente). De acuerdo con los antecedentes personales patológicos y no patológicos, los pacientes con tabaquismo tuvieron promedios mayores en las concentraciones de PAPP-A a nivel coronario y periférico (283.62 y 212.36 ng/mL, respectivamente) que los pacientes sin tabaquismo (249.57 y 197.72, respectivamente). Los pacientes con antecedentes de alcoholismo, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, obesidad, diabetes mellitus, hipertensión arterial e infarto de miocardio previo tuvieron mayores concentraciones de PAPP-A en comparación con los pacientes sin estos antecedentes.

Hugo Gutiérrez-Leonar¹
Eleazar Lara-Padilla²
Esaú Floriano-Sánchez³
Alfonso Eduardo Fierro-Macías⁴
Luis Enrique Berúmen-Domínguez⁵
Higinio García-Velásquez⁶

¹ Cor.M.C., cardiologo intervencionista, jefe del Área de Medicina Interna, Hospital Central Militar, Ciudad de México.

² D. en C., médico docente, Instituto Politécnico Nacional.

³ Tte. Cor. M.C., jefe del curso de la Maestría en Ciencias Biomédicas con especialidad en Biología Molecular, Escuela Militar de Graduados de Sanidad, Ciudad de México, Subdirector de Investigación, Escuela Militar de Graduados de Sanidad, Ciudad de México.

⁴ M. en C. Médico cirujano general.

⁵ M.M.C., cardiologo intervencionista, jefe de sala de cardiología intervencionista.

⁶ Dr. Residente de cardiología intervencionista, Hospital Central Militar, Ciudad de México.

Recibido: 27 de octubre 2015

Aceptado: 4 de febrero 2016

Correspondencia:

Cor.M.C. Hugo Gutiérrez Leonar
José Rubén Romero 1
Ciudad Satélite, Naucalpan, Estado de México.
hugogutierrez_leonard@hotmail.com



Conclusiones: los pacientes con cardiopatía isquémica tienen concentraciones plasmáticas de PAPP-A superiores que quienes no tienen la enfermedad. En este estudio se demostró la asociación de mayores concentraciones plasmáticas de PAPP-A a nivel coronario y periférico en pacientes con cardiopatía isquémica secundaria a aterosclerosis. Las concentraciones plasmáticas de PAPP-A son superiores en pacientes con antecedentes personales patológicos y no patológicos, como: tabaquismo, alcoholismo, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, obesidad, diabetes mellitus, hipertensión arterial sistémica e infarto de miocardio previo.

Palabras clave: cardiopatía isquémica, aterosclerosis, proteína plasmática A asociada con el embarazo.

Rating plasma concentrations of plasma protein A- associated with pregnancy (PAPP-A) in coronary and peripheral levels in patients with ischemic heart disease undergoing cardiac catheterization

ABSTRACT

Background: One of the main objectives in cardiovascular research is to find new markers of cardiac damage that can improve the diagnosis and stratification of patients according to their risk. Pregnancy associated plasma protein-A (PAPP-A) is an emerging marker that has been linked with atherogenesis and coronary heart disease.

Objectives: The aim of this study was to assess the association between plasma concentrations of PAPP-A at coronary and peripheral levels in patients with a diagnosis of coronary heart disease secondary to atherosclerosis and in patients without the disease.

Material and Methods: This was an observational, prospective, cross-sectional, case control study. The study included 65 patients who underwent percutaneous coronary intervention for treatment of coronary obstruction secondary to atherosclerosis (n=35) or intracardiac defects correction (n=30). Blood samples were obtained at coronary and peripheral (radial or femoral arteries) levels through a microcatheter in each patient during percutaneous coronary intervention. PAPP-A assay was performed using manual ELISA kit, DRG®.

Results: Mean plasma concentrations at peripheral level in the case group was 247.88 ng/mL (11.58-560.70) and in the control group 158.72 ng/mL (4.58-335.58); plasma concentrations at coronary level in the case group was 324.99 ng/mL (9.46-635.88) and in the control group was 206.98 ng/mL (15.30-466.53). There is a statistically significant difference between the case group and the control group according to the site of blood collection at peripheral or coronary level (p=0.07 and

$p=0.001$, respectively). According to medical history, smoking patients had higher mean concentrations of PAPP-A in coronary and peripheral levels (283.62 and 212.36 ng/mL, respectively) than patients without smoking (249.57 and 197.72 ng/mL, respectively). Similarly, patients with history of alcoholism, hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia, obesity, diabetes mellitus, hypertension and previous myocardial infarction had higher levels of PAPP-A compared to patients without such records.

Conclusions: Patients with ischemic heart disease have higher mean plasma concentrations of PAPP-A than patients without the disease. This study showed an association between plasma concentrations of PAPP-A in coronary and peripheral levels, with higher mean values in coronary level. Finally, mean plasma concentrations of PAPP-A are higher in patients with a medical history of smoking, alcoholism, hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia, obesity, diabetes mellitus, hypertension and previous myocardial infarction.

Key words: Ischemic heart disease, atherosclerosis, Pregnancy associated plasma protein-A

ANTECEDENTES

Las enfermedades cardiovasculares, específicamente la cardiopatía isquémica, constituyen, desde hace varias décadas, la principal causa de mortalidad en el mundo.

Cada año mueren más personas por enfermedades cardiovasculares que por cualquier otra causa. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el año 2008 murieron por esta causa 17.3 millones de personas, que representan 30% de todas las muertes registradas en el mundo.¹ De esas muertes, 7.3 millones se debieron a la cardiopatía isquémica.²

Este padecimiento afecta a los dos sexos y más de 80% suceden en países de ingresos bajos o medios. A pesar de que la cardiopatía isquémica tiene una etiología multifactorial, más de 90% de los casos se debe a las placas de colesterol que se forman en las arterias coronarias (aterosclerosis).

Se calcula que en el año 2030 fallecerán cerca de 23.3 millones de personas y se prevé que siga siendo la principal causa de muerte.¹⁻³

En México, según el Sistema Nacional de Información en Salud (SINAIS) desde el año 2000 las enfermedades isquémicas del corazón ocupan el segundo lugar en la mortalidad general (solo después de la diabetes mellitus).⁴ Además, según el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP), en el año 2006 fue la enfermedad que generó mayor inversión en salud: 22,020 millones.⁵

A pesar de que en el ámbito mundial se han implementado, en los tres niveles de salud, grandes medidas de prevención y control para los factores de riesgo cardiovascular (tabaquismo, alcoholismo, dieta alta en grasas y baja en fibra, vida sedentaria, obesidad, diabetes mellitus, dislipidemias e hipertensión arterial), no se ha observado que la tendencia en morbilidad y mortalidad disminuya de manera importante.⁴⁻⁶



Por esto es necesaria la inversión nacional en investigación biomédica enfocada a dilucidar todas las vías fisiopatológicas de esta enfermedad, con el objetivo primordial de crear nuevos métodos diagnósticos y terapéuticos con mayor repercusión.

En el año 2001, Bayes-Genis y Conover de la Clínica Mayo (Rochester, Minnesota) encontraron una relación entre concentraciones elevadas de la proteína plasmática-A asociada con el embarazo (PAPP-A) y la aterogénesis.⁷ Esta asociación se relaciona, directamente, con el papel que juega la proteína PAPP-A en el sistema del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) en la aterogénesis.

Hoy día existe una fuerte controversia en el papel que juega la PAPP-A en la aterogénesis. Existen dos hipótesis principales: la proteína es en cierta medida la causa de la formación de placas ateroscleróticas y en el otro extremo, la que ayuda a disminuir la aterogénesis.^{8,9} Puesto que no se ha llegado a una conclusión definitiva, la investigación de esta proteína y del sistema IGF resulta una propuesta ambiciosa con el fin de establecer nuevas medidas diagnósticas y terapéuticas en cardiopatía isquémica.

Aterosclerosis

Definición. La aterosclerosis es la patología más común de los grandes vasos; es una enfermedad crónica, inflamatoria, sistémica y multifactorial, responsable de síndromes isquémicos con daño a órganos vitales.^{10,11,12} Se caracteriza por el depósito de colesterol y por el endurecimiento de las arterias en su capa interna (íntima).^{13,14}

Fisiopatología

Los mecanismos fisiopatológicos de la aterosclerosis se han venido conociendo mejor a través del tiempo.^{14,15,16} Los primeros antecedentes

datan de 1856, cuando Rudolph Ludwig Karl Virchow propuso una enfermedad denominada *endarteritis deformans*, que ligaba a la inflamación con la aterosclerosis.^{17,18}

Después del trabajo de Virchow se han llevado a cabo numerosos intentos por explicar los mecanismos aterogénicos.^{19,20,21} En los inicios se estableció que la formación de un ateroma implicaba un proceso simple de acumulación lipídica en la pared arterial, lo que a su vez lleva a una lesión endotelial y, consecuentemente, a una agregación plaquetaria.^{21,22,23} Las plaquetas conglomeradas en torno a la lesión liberan el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), con lo que se desencadena una acumulación de células musculares lisas en la capa interna de los vasos arteriales (íntima), que funge como envoltura de la placa aterosclerótica y le brinda estabilidad.^{24,25}

La forma simple, pero correcta, en que esta teoría explica la fisiopatología de la aterosclerosis se ha tomado como punto de partida para numerosos trabajos de investigación enfocados a dilucidar, de una forma más específica, la manera en que se realiza este proceso; esto es posible gracias al gran avance tecnológico y científico de nuestra época.^{26,27} Un ejemplo de esta revolución es la llegada de la biología molecular y la ingeniería genética que permitieron conocer múltiples vías independientes en la formación de la placa aterosclerótica, su inestabilidad y los episodios trombóticos.

En la actualidad se utiliza el principio basado en que el endotelio vascular funge como una interfaz dinámica y mutable, cuyas propiedades estructurales y funcionales son sensibles a una variedad de estímulos locales o sistémicos, y que su modulación fenotípica hacia un estado disfuncional puede constituir un factor de riesgo importante para las enfermedades vasculares, incluida la aterosclerosis.^{27,28}

Esta disfunción endotelial se caracteriza por la disminución de la biodisponibilidad de óxido nítrico, migración y proliferación de las células de músculo liso que contribuye a la formación de neointima.

La fisiopatología de la formación de lesiones ateroscleróticas incluye interacciones complejas entre las células de la pared arterial, como las endoteliales, macrófagos, SMC, lipoproteínas plasmáticas y sistemas moleculares (inmunológicos) involucrados en la trombosis, fibrinólisis, oxidación e inflamación.^{29,30,31}

En este contexto, durante los pasos iniciales de aterogénesis los monocitos circulantes se adhieren a las células endoteliales en la pared arterial, entran al espacio subendotelial y se diferencian en macrófagos.^{27,30} Estos macrófagos acumulan colesterol y oxLDL (LDL oxidada) que resulta, finalmente, en su transformación a células espumosas que se consideran el “sello de garantía” de la aterogénesis temprana.^{25,26,30-31}

Fuerzas hemodinámicas en aterogénesis

Otro mecanismo fisiopatológico involucrado son las fuerzas hemodinámicas, que actúan como un estímulo que provoca disfunción endotelial y que proporciona la base conceptual de que las primeras lesiones ateroscleróticas se desarrollen en un patrón no aleatorio distintivo, cuya geometría se correlaciona con los puntos ramificantes de las arterias y otras regiones de flujo sanguíneo alterado, como las curvaturas arteriales.^{31,32} Estas alteraciones de flujo sanguíneo llevan a las células endoteliales a adoptar un estado proinflamatorio, que genera regiones arteriales de mayor permeabilidad hacia macromoléculas que de esta forma facilitan la entrada y depósito de lipoproteínas, incluidas las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en la pared arterial.

A pesar de que los macrófagos son imprescindibles para la acumulación de colesterol,

producción de células espumosas y la proliferación de neointima, estudios recientes sugieren que las células dendríticas residen en áreas arteriales predispuestas a sufrir lesiones y que también tienen una función importante en el desarrollo de células espumosas en las etapas tempranas de la aterogénesis.³³

Proteína plasmática-A asociada al embarazo

Generalidades. La proteína plasmática-A asociada al embarazo (PAPP-A) se aisló por primera ocasión en 1974, como una de cuatro proteínas de origen placentario con altas concentraciones en el plasma de mujeres embarazadas.^{34,35} Su función biológica permaneció sin conocerse durante 25 años; sin embargo, a partir del año 1999 se estableció como un marcador de gran utilidad para el diagnóstico de la trisomía 21 (síndrome de Down) en el primer y segundo trimestres del embarazo, y permanece como una de las principales herramientas diagnósticas de esta afección.³⁶

A principios del decenio de 1990 diversos grupos de estudio reportaron una actividad proteasa nunca antes descrita en contra de la proteína 4 de unión inhibitoria al factor de crecimiento similar a la insulina (IGFBP-4) aumentando la biodisponibilidad de IGF-1.^{17,38,39} Se determinó que esta actividad la realizaba PAPP-A gracias a estudios realizados en fibroblastos; más tarde se logró demostrar que también se expresaba en células vasculares de músculo liso, osteoblastos, trofoblasto y células de la granulosa del ovario.⁴⁰⁻⁴² Esto permitió evidenciar que PAPP-A no se debe considerar solo como “asociada al embarazo”. Estudios *in vitro* y en modelos en ratones *knock-out* permitieron explicar de forma más integral la función de esta proteasa de IGFBP como un regulador relevante de la biodisponibilidad de IGF en gran variedad de sistemas biológicos.



Papel de la PAPP-A en cardiopatía isquémica

En 2001 Bayes, Conover y sus colaboradores publicaron en *The New England Journal of Medicine* el primer antecedente de importancia internacional relacionado con la proteína plasmática A, asociada al embarazo como marcador de síndromes coronarios agudos. Esto sentó las bases de numerosos trabajos encaminados a comprobar esta asociación.^{41,43} Por lo que se refiere al método, estudiaron el nivel de expresión de PAPP-A en ocho placas inestables ateroscleróticas y en cuatro placas estables de arterias coronarias obtenidas de la autopsia de ocho pacientes durante las primeras 24 horas posteriores a su muerte, debido a causas cardiacas. También se analizaron los valores circulantes de PAPP-A, proteína C-reactiva y factor de crecimiento similar a la insulina I (IGF-1) en 17 pacientes con diagnóstico de infarto agudo de miocardio, 20 con angina inestable, 19 con angina estable y 13 controles sin aterosclerosis. En cuanto a sus resultados, encontraron que la PAPP-A se expresaba de manera abundante en células de la placa y matriz extracelular de las placas ateroscleróticas inestables erosionadas o con ruptura, pero no en las placas estables.

Las concentraciones circulantes de PAPP-A fueron significativamente mayores en pacientes con angina inestable o infarto agudo de miocardio que en quienes padecían angina estable y controles ($p < 0.001$). Las concentraciones de PAPP-A se correlacionaron con las de IGF-1 y proteína C reactiva, pero no con los marcadores de lesión miocárdica, como la troponina I y la CK-MB. Debido a esto concluyeron que la PAPP-A se encuentra en las placas ateroscleróticas inestables y que las concentraciones circulantes se elevan en los síndromes coronarios agudos, quizá debido a la inestabilidad de las placas ateroscleróticas.⁴³

En el año 2002 Javad Khosravi y sus colaboradores (Canadá) realizaron un estudio en 47

controles y 71 pacientes con evidencia bioquímica de síndrome coronario agudo (elevación de CK-MB y/o troponina T) en el que midieron las concentraciones séricas de PAPP-A mediante una ELISA ultrasensible que medía la fracción libre de PAPP-A y no la subunidad que forma el complejo con pro-MBP (proforma de la proteína eosinofílica básica mayor) que se encuentra elevada sobre todo en pacientes embarazadas y no en pacientes cardíacas. Sus resultados establecieron una relación entre PAPP-A con otros marcadores cardiacos, como CK-MB y troponina T, debido a que ambos se encontraron elevados en pacientes con síndrome coronario agudo.⁴⁴

En el año 2008 Michael Miedema, Cheryl A. Conover y colaboradores realizaron un ensayo clínico con asignación al azar, doble ciego, en 86 pacientes con diagnóstico de infarto de miocardio sin elevación del segmento ST, angina estable e inestable en quienes se corroboró el diagnóstico de cardiopatía isquémica mediante angiografía coronaria invasiva. Los 86 pacientes se asignaron al azar a un grupo que recibió tratamiento con 10 mg al día de atorvastatina y otro grupo tratado con 80 mg al día de atorvastatina. A todos los pacientes se les midieron las concentraciones séricas de PAPP-A y proteína C-reactiva antes del tratamiento, a los 30 días y a los 6 meses. Concluyeron que PAPP-A se incrementó significativamente en los pacientes con síndrome coronario agudo en comparación con quienes padecían cardiopatía isquémica estable. También encontraron que a altas dosis de atorvastatina las concentraciones de PAPP-A y de proteína C-reactiva disminuían de manera muy importante al mes y a los 6 meses de tratamiento, respectivamente.^{46,47}

Uno de los estudios más recientes y de mayor relevancia estadística es el de Marc Bonaca y colaboradores (2012). Estos investigadores midieron los valores plasmáticos basales de PAPP-A en 3782 pacientes con diagnóstico de

NSTEMI que se incorporaron a partir del estudio MERLIN-TIMI 36 (eficiencia metabólica con ranolazina para menor isquemia en síndromes coronarios agudos sin elevación del segmento ST) y se les dio seguimiento durante 12 meses. De acuerdo con sus resultados, una concentración de PAPP-A mayor a 6.0 μ IU/mL se asocia con mayores tasas de muerte cardiovascular o infarto de miocardio a 30 días y 1 año. Con base en estos hallazgos se sustenta la utilización de PAPP-A como marcador pronóstico en pacientes con síndrome coronario agudo y la investigación del mismo con fines terapéuticos.⁴⁷ El objetivo de este estudio es: determinar la asociación entre las concentraciones plasmáticas de la proteína PAPP-A a nivel coronario y periférico en pacientes con diagnóstico de cardiopatía isquémica secundaria a aterosclerosis y en pacientes sin la enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio observacional, prospectivo, transversal, de casos y controles al que se incluyeron pacientes con cateterismo cardiaco para tratamiento de obstrucción coronaria secundaria a aterosclerosis o para corrección de defectos intracavitarios. Se obtuvieron muestras de sangre a nivel coronario y periférico (arterial radial o femoral) a través de un microcatéter cerebral durante la intervención percutánea coronaria. El análisis de las concentraciones plasmáticas de PAPP-A se realizó con un equipo manual de ELISA ultrasensible DRG®.

RESULTADOS

En el Cuadro 1 se aprecia la distribución porcentual de las características clínico-patológicas de la población de estudio. Entre los hallazgos más relevantes destaca que de los 65 pacientes reclutados, 35 conformaron el grupo de casos y 30 el de controles. Por lo que hace a la distribución por sexos: 52% fueron masculinos. En

cuanto a edad: 60% menores o mayores de 60 años. En escolaridad, 50% con primaria. Más de 70% tuvo diagnóstico nutricional normal o en sobrepeso, según el índice de masa corporal. El 72% tuvo presión arterial sistólica descontrolada; 50% hipertensos sin saberlo. En cuanto a los antecedentes patológicos de importancia: 62.5% de los pacientes reportaron tabaquismo activo. El 47.7% consumía bebidas alcohólicas con frecuencia. El 58.5% eran diabéticos y solo 38.5% había padecido un infarto de miocardio previo.

En el análisis por subgrupos se demostró una coexistencia de antecedentes personales patológicos.

En el análisis por subgrupos según las características clínico-patológicas de los pacientes, en las concentraciones plasmáticas de la proteína PAPP-A se observaron valores mayores en las muestras a nivel coronario que en el periférico. En el grupo de casos se observaron valores mayores que en el grupo de controles; el sexo masculino tuvo mayores concentraciones que el femenino. También se observó un aumento en pacientes de la tercera edad, en quienes tenían presión arterial sistólica ≥ 140 mmHg, con tabaquismo, alcoholismo, hipertensión arterial sistémica, cardiopatía isquémica, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia. Sin embargo, no se observó aumento significativo en pacientes con antecedente de diabetes mellitus e hiperglucemia. Tampoco se observó correlación en los grados de escolaridad, de hipertensión y de diagnóstico nutricional según el IMC (con excepción de 1 paciente desnutrido). Asimismo, en pacientes con múltiples antecedentes patológicos (tabaquismo, alcoholismo, diabetes mellitus, hipertensión arterial sistémica y cardiopatía isquémica) se observaron concentraciones mayores que en pacientes con un solo antecedente. Cuadro 2

Para determinar si existe asociación entre las concentraciones plasmáticas de PAPP-A a nivel

**Cuadro 1.** Distribución porcentual de las características clínico-patológicas de los pacientes

Característica	n	(%)
Diagnóstico de cardiopatía isquémica		
Con (casos)	35	53.8
Sin (controles)	30	46.2
Sexo		
Masculino	34	52.3
Femenino	31	47.7
Edad		
31 a 59 años	26	40.0
≥60 años	39	60.0
Escolaridad		
Primaria	33	50.8
Secundaria	13	20.0
Media superior	12	18.5
Superior	7	10.8
Diagnóstico nutricional según IMC		
Desnutrición (<18.5)	1	1.5
Normal (18.5 a 24.9)	21	32.3
Sobrepeso (25 a 29.9)	27	41.5
Obesidad grado I, II y III (≥30.0)	16	24.6
Presión arterial sistólica		
≤ 129 mmHg	18	27.7
130 a 139 mmHg	14	21.5
≥ 140 mmHg	33	50.8
Clasificación de hipertensión arterial (sistólica-diastólica; mmHg)		
Óptimo (<120 / <80)	10	15.4
Normal (120 a 129 / 90 a 84)	13	19.7
Prehipertensión arterial (130 a 139 / 85 a 89)		20.0
Hipertensión arterial grado I, II, III y sistólica aislada (≥140 / ≥90)		50.8
Antecedentes personales patológicos		
Tabaquismo		
Con	40	62.5
Sin	25	38.5
Alcoholismo		
Con	31	47.7
Sin	34	52.3
Diabetes mellitus		
Con	38	58.5
Sin	27	41.5
Hipertensión arterial sistémica		
Con	47	72.3
Sin	18	27.7
Cardiopatía isquémica		
Con	25	38.5
Sin	40	61.5
Tabaquismo + Alcoholismo	23	35.4
Tabaquismo + Alcoholismo + Diabetes	12	18.5
Tabaquismo + Alcoholismo + Hipertensión	17	26.2
Tabaquismo + Alcoholismo + Hipertensión + Cardiopatía isq.	23	35.4
Alcoholismo + Cardiopatía isq.	23	35.4
Hipertensión + Diabetes mellitus	19	29.2
Característica	n	(%)
Hipertensión + Cardiopatía isquémica+Diabetes mellitus + Cardiopatía isquémica Hipertensión + Diabetes + Cardiopatía isq.	18	29.2
Cardiopatía isq.	12	18.5
Cardiopatía isq.	1	1.5
Tabaquismo + Alcoholismo + DM + HAS + CI	1	1.5
Química sanguínea		
Glucosa (mg/dL)		
70 a 125	19	29.2
≥126	46	70.8
Colesterol (mg/dL)		
<180	12	18.5

Cuadro 2. Valores de la concentración plasmática de la proteína PAPP-A a nivel periférico y coronario según las características clínico-patológicas de los pacientes (Continúa en la siguiente página)

Característica	n (%)	Periférica de PAPP-A (ng/mL)	Coronaria de PAPP-A (ng/mL)
Diagnóstico de cardiopatía isquémica			
Con (casos)	35 (53.8)	247.88 (11.58-560.75)	324.99 (9.46-635.88)
Sin (controles)	30 (46.2)	158.72 (4.58-335.58)	206.98 (15.30-466.53)
Sexo			
Masculino	34 (52.3)	227.91 (4.95-560.75)	291.68 (9.46-635.88)
Femenino	31 (47.7)	183.51 (4.58-455.88)	247.31 (52.32-539.21)
Edad			
31 a 59 años	26 (40.0)	181.86 (4.58-535.25)	221.56 (15.30-572.15)
≥60 años	39 (60.0)	223.31 (11.58-560.75)	303.16 (9.46-635.88)
Escolaridad			
Primaria	33 (50.8)	207.03 (4.58-535.25)	273.55 (15.30-575.25)
Secundaria	13 (20.0)	231.73 (88.95-385.77)	291.34 (135.58-425.55)
Media superior	12 (18.5)	184.35 (11.58-560.75)	240.53 (9.46-635.88)
Superior	10 (10.8)	197.25 (15.05-405.25)	269.00 (35.07-498.65)
Diagnóstico nutricional según IMC			
Desnutrición (<18.5)	1 (1.5)	32.86	102.60
Normal (18.5 a 24.9)	21 (32.3)	210.13 (4.58-497.13)	265.86 (15.30-575.25)
Sobrepeso (25 a 29.9)	27 (41.5)	207.35 (11.58-560.75)	278.48 (9.46-635.88)
Obesidad grado I, II y III (≥30.0)	16 (24.6)	212.09 (15.05-535.25)	273.71 (35.07-572.15)
Presión arterial sistólica			
≤129 mmHg	18 (27.7)	194.72 (4.58-560.75)	261.89 (9.46-635.88)
130 a 139 mmHg	14 (21.5)	138.76 (4.95-330.11)	201.07 (15.30-466.53)
≥140 mmHg	33 (50.8)	242.12 (32.86-535.25)	304.70 (78.98-572.15)
Clasificación de hipertensión arterial (sistólica / diastólica; mmHg)			
Óptimo (<120 / <80)	10 (15.4)	242.50 (11.58-560.75)	300.60 (9.46-635.88)
Normal (120 a 129 / 90 a 84)	9 (13.8)	129.75 (4.58-325.10)	224.79 (35.07-415.80)
Prehipertensión arterial (130 a 139 / 85 a 89)	13 (20.0)	142.69 (4.95-330.11)	192.29 (15.30-466.53)
Hipertensión arterial grado I, II, III y sistólica aislada (≥140 / ≥90)	33 (50.8)	242.12 (32.86-535.25)	304.70 (78.98-572.15)
Antecedentes personales patológicos			
Tabaquismo			
Con	40 (62.5)	212.36 (4.58-560.75)	283.62 (15.30-635.88)
Sin	25 (38.5)	197.72 (11.58-385.77)	249.57 (9.46-488.69)
Alcoholismo			
Con	31 (47.7)	240.77 (4.58-535.25)	319.22 (52.32-575.25)
Sin	34 (52.3)	175.69 (4.95-560.75)	226.12 (9.46-635.88)
Diabetes mellitus			
Con	38 (58.5)	206.03 (4.58-560.75)	258.74 (9.46-635.88)
Sin	27 (41.5)	207.72 (32.86-535.25)	287.10 (86.20-572.15)
Hipertensión arterial sistémica			
Con	47 (72.3)	225.53 (11.58-560.75)	291.57 (9.46-635.88)
Sin	18 (27.7)	157.64 (4.58-330.11)	215.56 (15.30-466.53)
Cardiopatía isquémica			
Con	25 (38.5)	223.98 (4.95-535.25)	287.51 (15.30-572.15)
Sin	40 (61.5)	195.95 (4.58-560.75)	259.91 (9.46-635.88)
Tabaquismo + Alcoholismo	23 (35.4)	230.55 (4.58-535.25)	310.26 (52.32-575.25)
Tabaquismo + Alcoholismo + Diabetes	12 (18.5)	250.74 (4.58-497.13)	318.11 (52.32-575.25)
Tabaquismo + Alcoholismo + Hipertensión	17 (26.2)	255.71 (32.86-535.25)	345.23 (102.60-575.25)



Cuadro 2. Valores de la concentración plasmática de la proteína PAPP-A a nivel periférico y coronario según las características clínico-patológicas de los pacientes (Continuación)

Característica	n (%)	Periférica de PAPP-A (ng/mL)	Coronaria de PAPP-A (ng/mL)
Tabaquismo + Alcoholismo + Cardiopatía isquémica	8 (12.3)	265.09 (77.08-535.25)	356.41 (109.19-572.15)
Hipertensión + Diabetes mellitus	23 (35.4)	248.19 (11.58-560.75)	298.86 (9.46-635.88)
Hipertensión + Cardiopatía isquémica	19 (29.2)	244.57 (77.08-535.25)	313.23 (78.98-572.15)
Diabetes mellitus + Cardiopatía isquémica	18 (27.7)	207.54 (4.95-455.88)	258.35 (15.30-539.21)
Hipertensión + Diabetes + Cardiopatía isquémica	12 (18.5)	231.93 (85.58-455.88)	284.50 (78.98-539.21)
Química sanguínea			
Glucosa (mg/dL)			
70 a 125	19 (29.2)	216.59 (41.49-497.13)	311.87 (135.58-575.25)
≥126	46 (70.8)	202.66 (4.58-560.75)	253.44 (9.46-635.88)
Colesterol (mg/dL)			
<180	12 (18.5)	154.79 (4.95-399.45)	240.24 (9.46-488.57)
180 a 200	14 (21.5)	147.03 (4.58-355.85)	206.82 (52.32-488.69)
>200	39 (60.0)	244.14 (15.05-560.75)	302.71 (35.07-635.88)
Triglicéridos (mg/dL)			
100 a 149	14 (21.5)	135.74 (4.95-306.42)	176.98 (9.46-379.87)
≥150	51 (78.5)	226.22 (4.58-560.75)	296.20 (35.07-635.88)
Glucosa ≥126 + Colesterol >200 + Triglicéridos ≥150	28 (43.0)	241.85 (15.05-560.75)	296.87 (35.07-635.88)

coronario y periférico en el grupo de casos y en los controles, se realizó una prueba t de Student para muestras independientes. De acuerdo con el análisis, ambos grupos cumplen con el supuesto de homocedasticidad (prueba de Levene) y existe una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo de casos y el control, según el sitio de obtención de la muestra a nivel periférico o coronario ($p = 0.007$ y $p = 0.001$, respectivamente). Cuadro 3

Debido a que el análisis previo fue estadísticamente significativo según el sitio de obtención de la muestra en los grupos de comparación, se decidió evaluar si las variables previas continuaban con significación estadística al segmentarlas con las características clínico-patológicas de los pacientes. De esta forma, se realizó una prueba t de Student para muestras independientes donde se analizaron las concentraciones plasmáticas

de PAPP-A a nivel coronario y periférico, según el diagnóstico de cardiopatía isquémica (casos y controles) y segmentadas de acuerdo con el sexo del paciente. Solo el sexo femenino tuvo homocedasticidad y significación estadística con un valor de $p = 0.016$ a nivel periférico y un valor de $p = 0.005$ a nivel coronario. Cuadro 4

De igual forma se realizó un análisis segmentado por edad con la misma prueba estadística, donde se demostró que solo los límites de edad entre 31 y 59 años tuvieron una diferencia estadísticamente significativa a nivel coronario ($p = 0.006$) y periférico ($p = 0.003$). Cuadro 5

En el análisis segmentado, según los valores categorizados de la presión arterial sistólica, fue notable una significación estadística en los pacientes con cifras hipertensivas, a nivel coronario ($p = 0.012$) y periférico ($p = 0.014$). Cuadro 6

Cuadro 3. Análisis estadístico de las concentraciones plasmáticas de PAPPa a nivel coronario y periférico según el grupo de estudio

Sitio de obtención de la muestra	Prueba de Levene (homocedasticidad)		t de Student para muestras independientes			
	F	Significación	t	gl	Significación	IC 95%
Concentración periférica de PAPP-A (ng/mL)	3.318	0.073	-2.8	63	0.007*	-152.7 a -25.5
Concentración coronaria de PAPP-A (ng/mL)	1.786	0.186	-3.3	63	0.001*	-187.6 a -48.3

Cuadro 4. Análisis estadístico de las concentraciones plasmáticas de PAPPa a nivel coronario y periférico según el grupo de estudio segmentado por sexo

Sitio de obtención de la muestra	Sexo	Prueba de Levene		t de Student para muestras independientes			
		F	Sig.	t	gl	Sig.	IC 95%
Concentración periférica de PAPP-A (ng/mL)	Masculino	4.56	0.04	-1.72	31	0.095	-187.3 a 15.7
	Femenino	0.211	0.65	-2.55	29	0.016*	-160.5 a -17.7
Concentración coronaria de PAPP-A (ng/mL)	Masculino	1.492	0.231	-2.02	31	0.051	-234.7 a 0.49
	Femenino	0.259	0.615	-3.07	29	0.005*	-192.2 a -38.6

Cuadro 5. Análisis estadístico de las concentraciones plasmáticas de PAPPa a nivel coronario y periférico según el grupo de estudio segmentado por edad

Sitio de obtención de la muestra	Edad (años)	Prueba de Levene		t de Student para muestras independientes			
		F	Sig.	t	gl	Sig.	IC 95%
Concentración periférica de PAPP-A (ng/mL)	31 a 59 ≥60	0.363	0.552	-3.35	24	0.003*	-252.9 a -60.0
		1.553	0.221	-0.889	37	0.38	-145.1 a 56.6
Concentración coronaria de PAPP-A (ng/mL)	31 a 59 ≥60	0.067	0.798	-3.04	24	0.006*	-263.4 a -50.6
		0.680	0.415	-1.23	37	0.225	-177.8 a 43.1

Cuadro 6. Análisis estadístico de las concentraciones plasmáticas de PAPPa a nivel coronario y periférico según el grupo de estudio segmentado por presión arterial sistémica categorizada

Sitio de obtención de la muestra	Presión arterial sistémica (mmHg)	Prueba de Levene		t de Student para muestras independientes			
		F	Sig.	t	gl	Sig.	IC 95%
Concentración periférica de PAPP-A (ng/mL)	≤129	0.066	0.80	-0.538	16	0.598	-213.1 a 126.9
	130-139	2.489	0.141	0.960	12	0.356	-74.6 a 192.2
	≥140	0.948	0.338	-2.6	31	0.014*	-202.6 a -24.4
Concentración coronaria de PAPP-A (ng/mL)	≤129	0.001	0.974	-0.986	16	0.339	-271.1 a 98.9
	130-139	0.003	0.958	-0.447	12	0.663	-230.9 a 152.3
	≥140	1.957	0.172	-2.666	31	0.012*	-226.7 a -30.1

Al analizar la clasificación de hipertensión arterial sistémica no se observó significación estadística en los pacientes en condiciones óptimas, normales o con prehipertensión. Sin embargo, congruente con los resultados

obtenidos en el análisis de la presión arterial sistémica, los pacientes hipertensos sí mostraron diferencias significativas a nivel coronario (p=0.012) y periférico (p=0.014). Cuadro 7



Cuadro 7. Análisis estadístico de las concentraciones plasmáticas de PAPP-A a nivel coronario y periférico según el grupo de estudio segmentado por clasificación de hipertensión arterial sistémica

Sitio de obtención de la muestra	Clasificación de hipertensión arterial sistémica	Prueba de Levene		t de Student para muestras independientes			
		F	Sig.	t	gl	Sig.	IC 95%
Concentración periférica de PAPP-A (ng/mL)	Óptima	1.855	0.210	-0.003	8	0.998	-311.6 a 310.9
	Normal	7.366	0.03	-0.054	7	0.959	-193.9 a 185.5
	Prehipertensión	-	-	0.668	11	0.518	-133.6 a 250.1
	Hipertensión	0.948	0.338	-2.6	31	0.014*	-202.6 a -24.4
Concentración coronaria de PAPP-A (ng/mL)	Óptima	1.613	0.240	-0.246	8	0.812	-381.7 a 308.2
	Normal	17.741	0.004	-1.211	7	0.279	-330.3 a 117.7
	Prehipertensión	-	-	0.342	11	0.738	-223.0 a 350.2
	Hipertensión	1.957	0.172	-2.666	31	0.012*	-226.7 a -30.1

En el análisis segmentado por antecedentes personales patológicos se observó que ni la diabetes ni el antecedente de infarto influyen en los valores plasmáticos de PAPP-A. Sin embargo, el antecedente de tabaquismo sí influyó notablemente en las concentraciones de PAPP-A a nivel coronario ($p=0.002$) y periférico ($p=0.011$). Otro hallazgo de interés fue que el alcoholismo no influyó en las concentraciones periféricas de PAPP-A pero sí en las coronarias ($p=0.05$). Cuadro 8

DISCUSIÓN

La proteína PAPP-A es una metaloproteinasa de la superfamilia de la metzincina y de la subfamilia de las papalinas; se aisló en 1974 en el plasma de mujeres embarazadas.⁴⁸ En 1999 se determinó su función proteolítica y su papel en la regulación de la biodisponibilidad de IGF-1.⁴⁹ Este hallazgo permitió inferir un nuevo mecanismo involucrado en el proceso aterogénico.

A pesar de que en estudios clínicos previos se ha podido demostrar una diferencia significativa entre los valores séricos de PAPP-A a nivel periférico en pacientes con cardiopatía isquémica (infarto y angina inestable) y en controles, aún no se ha demostrado si la expresión de la proteína es sistémica o localizada en los sitios de ateromas.

En el mismo sentido, no se ha demostrado si la elevación en las concentraciones séricas se debe exclusivamente a la cardiopatía isquémica y no a otro padecimiento concomitante.

En la actualidad en México no existen datos experimentales o clínicos del efecto aterogénico de la proteína PAPP-A. Este trabajo es el primero en su clase porque al igual que en los estudios previos se obtuvo una muestra de sangre a nivel periférico (radial o femoral), pero además se lograron recolectar muestras de sangre a nivel coronario inmediatamente contiguas al sitio de obstrucción. Además, se evaluó si existe asociación entre las muestras coronarias y periféricas de cada enfermo, y con pacientes controles (análisis intergrupos e intragrupos).

En estudios previos se cometió el error de utilizar equipos de ELISA para la detección de PAPP-A durante el embarazo donde circula como un complejo heterotetramérico con la proteína proMBP (500 kDa). Esto incrementa considerablemente la posibilidad de falsos positivos y sobreestimación de las concentraciones séricas de PAPP-A.⁴⁹ A diferencia de estos antecedentes, en este estudio se utilizó un equipo de ELISA ultrasensible para la detección de PAPP-A en su estado proteolítico activo (dímero de 400 kDa) con efectos proaterogénicos.

Cuadro 8. Análisis estadístico de las concentraciones plasmáticas de PAPP-A a nivel coronario y periférico según el grupo de estudio segmentado por antecedentes personales patológicos y no patológicos

Sitio de obtención de la muestra	Antecedente personal patológico	Prueba de Levene		t de Student para muestras independientes			
		F	Sig.	t	gl	Sig.	IC 95%
Tabaquismo							
Concentración periférica de PAPP-A (ng/mL)	Sin antecedente	0.416	0.525	-0.9	23	0.373	-120.8 a 47.0
	Con antecedente	2.207	0.146	-2.6	38	0.011*	-215.6 a -29.5
Concentración coronaria de PAPP-A (ng/mL)	Sin antecedente	0.182	0.674	-1.079	23	0.292	-163.6 a 51.4
	Con antecedente	1.385	0.247	-3.258	38	0.002*	-249.4 a -58.2
Alcoholismo							
Concentración periférica de PAPP-A (ng/mL)	Sin antecedente	3.105	0.088	-1.688	32	0.101	-153.6 a 14.3
	Con antecedente	0.003	0.956	-1.771	29	0.087	-194.7 a 13.9
Concentración coronaria de PAPP-A (ng/mL)	Sin antecedente	2.046	0.162	-2.13	32	0.041*	-195.6 a -4.3
	Con antecedente	0.509	0.481	-2.046	29	0.05*	-214.1 a -0.04
Diabetes							
Concentración periférica de PAPP-A (ng/mL)	Sin antecedente	2.311	0.141	-1.419	25	0.168	-167.8 a 30.9
	Con antecedente	1.088	0.304	-2.410	36	0.021*	-192.0 a -16.5
Concentración coronaria de PAPP-A (ng/mL)	Sin antecedente	0.195	0.663	-2.761	25	0.011*	-206.7 a -30.0
	Con antecedente	1.077	0.306	-2.306	36	0.027*	-224.7 a -14.4
Cardiopatía Isquémica							
Concentración periférica de PAPP-A (ng/mL)	Sin antecedente	0.550	0.463	-2.116	38	0.041*	-166.0 a -3.6
	Con antecedente	4.272	0.05	-1.669	23	0.109	-204.7 a 21.8
Concentración coronaria de PAPP-A (ng/mL)	Sin antecedente	0.559	0.459	-2.442	38	0.019*	-200.3 a -18.7
	Con antecedente	1.610	0.217	-2.204	23	0.038*	-248.2 a -7.8

En los resultados obtenidos se demostró la asociación entre las concentraciones plasmáticas de PAPP-A a nivel coronario y periférico en el análisis intragrupos, con valores mayores a nivel coronario ($p < 0.05$). Al igual que en otros estudios se demostró una diferencia estadísticamente significativa entre los valores del grupo de casos y controles ($p < 0.05$). Por lo tanto, es evidente que las concentraciones plasmáticas de PAPP-A son mayores en pacientes con cardiopatía isquémica (infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST, infarto agudo de miocardio sin elevación del segmento ST y angina inestable) y el hecho de que se asocien las concentraciones coronarias con las periféricas hace viable proponer su uso como marcador diagnóstico o predictivo.

También se demostró que las concentraciones plasmáticas de PAPP-A se ven afectadas significativamente por factores como: tabaquismo, alcoholismo, hiperglucemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, obesidad, diabetes mellitus, hipertensión arterial sistémica e infarto previo ($p < 0.05$). De hecho, existe un antecedente que demostró una disminución significativa en los valores de PAPP-A en pacientes tratados con altas dosis de atorvastatina a seis meses de seguimiento.^{47,48}

CONCLUSIONES

Los resultados demuestran que los pacientes con cardiopatía isquémica tienen concentraciones plasmáticas de PAPP-A superiores a las de pacientes sin la enfermedad. También se demostró



que las concentraciones plasmáticas de PAPP-A son superiores en pacientes con antecedentes personales patológicos y no patológicos de: tabaquismo, alcoholismo, hiperglucemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, obesidad, diabetes mellitus, hipertensión arterial sistémica e infarto de miocardio previo.

Perspectivas

Con base en los resultados obtenidos es viable implementar la proteína PAPP-A como marcador diagnóstico o predictivo de cardiopatía isquémica, sin dejar de lado la necesidad de realizar estudios en una muestra más grande, estratificada por subgrupos según el riesgo cardiaco y con seguimiento a corto, mediano y largo plazo. Resulta interesante investigar cómo afecta el tratamiento farmacológico de la hipertensión, diabetes, obesidad, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia en las concentraciones plasmáticas de PAPP-A y su posible beneficio.

Conflicto de intereses. Los recursos para este proyecto los proporcionó la Secretaría de la Defensa Nacional de México a través del programa SEDENA-CIDEFAM. Programa Presupuestario A022-2014: "Investigación y desarrollo militar en coordinación con universidades públicas, instituciones públicas de educación superior y/o demás centros públicos de investigación".

Agradecimientos: al Centro de Investigación y Desarrollo del Ejército y Fuerza Aérea Mexicanos (C.I.D.E.F.A.M.) que en todo momento nos apoyó y gestionó para que se autorizará el financiamiento con cargo al programa presupuestario "A022 Investigación y desarrollo militar en coordinación con universidades públicas, instituciones públicas de educación superior y/o demás centros públicos de educación superior.

REFERENCIAS

1. Alwan, A. Global status report on non communicable diseases. Geneva: World Health Organization, 2011;343-368.
2. A. Alwan, T. Armstrong, D. Bettcher, T. Boerma, F. Branca, J. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. Geneva: World Health Organization, 2011;211-216.
3. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med* 2006;3:e442.
4. SINAI. Principales causas de mortalidad general 2000-2008. In: www.sinais.salud.gob.mx, ed. México: Secretaría de Salud.
5. Ávila-Burgos L, Cahuana-Hurtado L, González-Domínguez D. Cuentas en diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares y obesidad. México: Instituto Nacional de Salud Pública, Centro de Investigación en Sistemas de Salud, 2006; 235:10128-10131.
6. INEGI. Estadísticas a propósito del día mundial del corazón. México DF, 2009.
7. Bayes-Genis A, Conover CA, Overgaard MT, Bailey KR, Christiansen M, Holmes DR Jr, et al. Pregnancy-associated plasma protein A as a marker of acute coronary syndromes. *NEJM*. 2001;345(14):1022-1029.
8. Conti E, Andreotti F, Zuppi C. Pregnancy-associated plasma protein a as predictor of outcome in patients with suspected acute coronary syndromes. *Circulation* 2004;109:e211-2.
9. Heesch C, Dimmeler S, Hamm CW, Fichtlscherer S, Simoons ML, Zeiher AM. Pregnancy-associated plasma protein-A levels in patients with acute coronary syndromes: comparison with markers of systemic inflammation, platelet activation, and myocardial necrosis. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45(2):229-237.
10. Sierra-Vázquez G. Manual de Anatomía Humana. 2a ed. Chihuahua: México: Imprenta Universitaria, 2004;643-651.
11. Erbel R, Heusch G. Coronary microembolization. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36(1):22-24.
12. Clifton-Guyton A, Hall J. Textbook of Medical Physiology. 11 ed. Madrid: Elsevier, 2006; 463-466.
13. Arriaga NR. Cardiopatía isquémica crónica. En: Ruesga: Cardiología. 1 ed. México: El Manual Moderno, 2005;354-357.
14. IMSS. Guía de Práctica Clínica. Diagnóstico y Tratamiento de la Cardiopatía Isquémica Crónica. México, 2009.
15. Cheitlin MD, McAllister HA, de Castro CM. Myocardial infarction without atherosclerosis. *JAMA* 1975;231:951-959.
16. Wijeyundera HC, Machado M, Farahati F, Wang X, Witteman W, van der Velde G, et al. Association of temporal trends in risk factors and treatment uptake with coronary heart disease mortality, 1994-2005. *JAMA* 2010;303:1841-1847.
17. US Department of Health and Human Services. HDS-2: reduce coronary heart disease deaths. Healthy People 2020. Washington, DC: US Department of Health and Human Services; 2011.
18. Minino AM, Murphy SL, Xu J, Kochanek KD. Deaths: final data for 2008. National vital statistics reports: from the Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Health Statistics, National Vital Statistics System 2011;59:122-126.
19. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, et al. Heart disease and stroke statistics--2013 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2013;127(1):e6-e245.

20. Heidenreich PA, Trogon JG, Khavjou OA, et al. Forecasting the future of cardiovascular disease in the United States: a policy statement from the American Heart Association. *Circulation* 2011;123:933-944.
21. Binder CJ, Shaw PX, Chang MK, et al. The role of natural antibodies in atherogenesis. *Journal of lipid research* 2005;46:1353-1363.
22. Garcia-Moll X. [Inflammation, atherosclerosis, classic cardiovascular risk factors, biostatistics, clinical significance. Where are we?]. *Revista española de cardiología* 2007;60:1220-1222.
23. Gimbrone MA, Jr., Garcia-Cardena G. Vascular endothelium, hemodynamics, and the pathobiology of atherosclerosis. *Cardiovascular pathology*: 2013;22:9-15.
24. Lonn ME, Dennis JM, Stocker R. Actions of "antioxidants" in the protection against atherosclerosis. *Free radical biology & medicine* 2012;53:863-884
25. Incalcaterra E, Accardi G, Balistreri CR, et al. Pro-inflammatory genetic markers of atherosclerosis. *Current atherosclerosis reports* 2013;15:3329-3331.
26. Bertelsen S. Problems Concerning the Definition and Grading of the Aortic Atherosclerosis. *Acta pathologica et microbiológica Scandinavica* 1964;61:249-260.
27. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *Journal of the American College of Cardiology* 2009;54:2129-2138.
28. Fuhrman B. The urokinase system in the pathogenesis of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2012;222:8-14.
29. Santovito D, Mezzetti A, Cipollone F. MicroRNAs and atherosclerosis: new actors for an old movie. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: NMCD* 2012;22:937-943.
30. Fitzgerald ML, Mujawar Z, Tamehiro N. ABC transporters, atherosclerosis and inflammation. *Atherosclerosis* 2010;211:361-370.
31. Ntaios G, Gatselis NK, Makaritsis K, Dalekos GN. Adipokines as mediators of endothelial function and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2013;227:216-221.
32. Blasi C. The autoimmune origin of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2008;201:17-32.
33. Sigal LH. Basic science for the clinician 44: atherosclerosis: an immunologically mediated (autoimmune?) disease. *Journal of clinical rheumatology: practical reports on rheumatic & musculoskeletal diseases* 2007;13:160-168.
34. Shoenfeld Y, Gerli R, Doria A, et al. Accelerated atherosclerosis in autoimmune rheumatic diseases. *Circulation* 2005;112:3337-3347.
35. Abou-Raya A, Abou-Raya S. Inflammation: a pivotal link between autoimmune diseases and atherosclerosis. *Autoimmunity reviews* 2006;5:331-337.
36. El-Jack SS, Suwatachai P, Stewart JT, Ruygrok PN, Ormiston JA, West T, et al. Epidermal growth factor and Pathology of the vulnerable plaque. *Nature*. (8 Suppl):C13-C18.
37. Cheng H, Deng Z, Wang Z, Zhang W, Su J. MTHFR C677T polymorphisms are associated with aberrant methylation of the IGF-2 gene in transitional cell carcinoma of the bladder. *Journal of biomedical research* 2012;26:77-83.
38. Renard E, Langbour-Remy C, Klein M, Le Bouc Y, Weryha G, Cuny T. Severe hypoglycemia with "Big"-IGF-2 oversecretion by a giant phyllode tumor of the breast: a rare case of non-islet cell tumor-induced hypoglycemia (NICTH). *Annales d'endocrinologie* 2012;73:488-491.
39. Lu L, Katsaros D, Shaverdashvili K, et al. Pluripotent factor lin-28 and its homologue lin-28b in epithelial ovarian cancer and their associations with disease outcomes and expression of let-7a and IGF-II. *Eur J Cancer* 2009;45:2212-2228.
40. Ravenel JD, Broman KW, Perlman EJ, Niemitz EL, Jayawardena TM, Bell DW. Loss of imprinting of insulin-like growth factor-II (IGF2) gene in distinguishing specific biologic subtypes of Wilms tumor. *J Natl Cancer Inst*. 2001;93(22):1698-1703.
41. Cui H, Niemitz EL, Ravenel JD, et al. Loss of imprinting of insulin-like growth factor-II in Wilms' tumor commonly involves altered methylation but not mutations of CTCF or its binding site. *Cancer research* 2001;61:4947-4950.
42. Liou JM, Wu MS, Lin JT, et al. Loss of imprinting of insulin-like growth factor II is associated with increased risk of proximal colon cancer. *Eur J Cancer* 2007;43:1276-1282.
43. Tricoli JV, Rall LB, Karakousis CP, et al. Enhanced levels of insulin-like growth factor messenger RNA in human colon carcinomas and liposarcomas. *Cancer research* 1986;46:6169-6173.
44. Lambert S, Vivario J, Boniver J, Gol-Winkler R. Abnormal expression and structural modification of the insulin-like growth-factor-II gene in human colorectal tumors. *International journal of cancer Journal international du cancer* 1990;46:405-410.
45. Rikhof B, van Doorn J, Suurmeijer AJ, et al. Insulin-like growth factors and insulin-like growth factor-binding proteins in relation to disease status and incidence of hypoglycaemia in patients with a gastrointestinal stromal tumour. *Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 2009;20:1582-1588.
46. Rikhof B, van der Graaf WT, Suurmeijer AJ, et al. 'Big'-insulin-like growth factor-II signaling is an autocrine survival pathway in gastrointestinal stromal tumors. *The American journal of pathology* 2012;181:303-312.
47. Hahn H, Wojnowski L, Specht K, Kappler R, Calzada-Wack J, Potter D, et al. Patched target Igf2 is indispensable for the formation of medulloblastoma and rhabdomyosarcoma. *J Biol Chem*. 2000;275(37):28341-28344.
48. Hartmann W, Koch A, Brune H, Waha A, Schüller U, Dani I, et al. Insulin-like growth factor II is involved in the proliferation control of medulloblastoma and its cerebellar precursor cells. *Am J Pathol*. 2005;166(4):1153-1162.
49. LeRoith D, Baserga R, Helman L, Roberts CT Jr. Insulin-like growth factors and cancer. *Ann Intern Med*. 1995;122:54-59.