



ORIGINAL

La osteopontina como biomarcador de riesgo neurológico en la enfermedad carotídea



J.A. González Fajardo^{c,*}, N. Zamora González^a, B. Aguirre Gervás^a,
H. Marcos Sánchez^a, I. Vidriales Vicente^a, M.D. Calvo Nieves^a y C. Vaquero Puerta^b

^a Servicio de Laboratorio y Análisis Clínicos, Hospital Clínico Universitario, Valladolid, España

^b Servicio de Angiología y Cirugía Vascular, Hospital Clínico Universitario, Valladolid, España

^c Servicio de Angiología y Cirugía Vascular, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España

Recibido el 26 de abril de 2016; aceptado el 1 de junio de 2016

Disponible en Internet el 1 de julio de 2016

PALABRAS CLAVE

Osteopontina;
Estenosis carotídea;
Placa inestable

Resumen

Introducción: La osteopontina (OPN) incrementa el reclutamiento, migración y adhesión de los macrófagos y modula la expresión de citocinas proinflamatorias e interleucinas. Actualmente, no está definida su asociación con la inestabilidad de la placa de ateroma carotídea y la sintomatología clínica de los pacientes.

Objetivos: Estudiar los niveles en plasma de OPN de pacientes intervenidos quirúrgicamente de endarterectomía carotídea (ECA) y correlacionarlos con la sintomatología clínica preoperatoria, con el fin de valorar el riesgo neurológico y la inestabilidad de placa.

Material y métodos: Se diseñó un estudio prospectivo con una muestra de pacientes consecutivos intervenidos quirúrgicamente de ECA, previamente evaluados por el neurólogo o con la realización de una TAC o RMN cerebral. Los pacientes se dividieron en 2 grupos (sintomáticos y asintomáticos) y se compararon con un grupo control. Se excluyeron aquellos con enfermedades intercurrentes. La OPN se determinó mediante enzimoanálisis. Se utilizó para el análisis estadístico el programa SPSS v. 18.0. Las variables categóricas se describen como frecuencias y las cuantitativas como media y desviación estándar en el caso de utilizar pruebas paramétricas, y como mediana y rango intercuartil en el caso de utilizar pruebas no paramétricas. Se estableció que la relación fue estadísticamente significativa si p era inferior a 0,05.

Resultados: Durante el periodo de estudio, 44 pacientes (39 hombres, 5 mujeres), de edad media $75 \pm 6,62$ años, fueron intervenidos de ECA por presentar una placa de ateroma que producía una estenosis significativa ($>70\%$ con ecodoppler). De acuerdo con sus antecedentes cerebrovasculares, 24 fueron sintomáticos y 20 asintomáticos. El grupo control fue de 25 sujetos sanos. La OPN en el grupo control fue de $60 \pm 6,62$ ng/mL, de $74,3 \pm 60,8$ ng/mL en asintomáticos y de $90,3 \pm 45,4$ ng/mL en sintomáticos ($p = 0,003$).

* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: jafajardo@jet.es, jagf1961@orange.es (J.A. González Fajardo).

KEYWORDS

Osteopontin;
Carotid stenosis;
Unstable plaque

Conclusiones: La (OPN) se comporta como un buen indicador de riesgo cerebrovascular en pacientes con placa carotídea, a pesar de que sus niveles y los mecanismos moleculares de expresión no están del todo aclarados.

© 2016 SEACV. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Osteopontin as a neurological risk marker in carotid diseases

Abstract

Introduction: Osteopontin (OPN) increases recruitment, migration and adhesion of macrophages and modulates the expression of proinflammatory cytokines and interleukins. Its association with the instability of carotid atheromatous plaque and the clinical symptoms of patients is currently not defined.

Aims: To study plasma levels of OPN in patients operated on by carotid endarterectomy (ECA) and correlate them with preoperative clinical symptoms, in order to assess the neurological risk and instability of plaque.

Material and methods: A prospective study was designed with a sample of consecutive patients who underwent surgery by ECA, and previously evaluated by a neurologist and/or by performing a CT or MRI brain scan. Patients were divided into 2 groups (symptomatic and asymptomatic) and compared with a control group. Those with intercurrent diseases were excluded. OPN was determined by enzyme immunoassay. Windows SPSS v. 18.0 program was used for statistical analysis. Categorical variables are described as frequencies, and quantitative variables as mean and standard deviation, in the case of using parametric tests, and median and interquartile range when using non-parametric tests. A $P < .05$ was established as a statistically significant relationship.

Results: During the study period, 44 patients (39 males, 5 females), mean age 75 ± 6.62 years old, were operated on by ECA due to having a plaque that produced a significant stenosis ($> 70\%$ with echodoppler). According to their stroke history, 24 were symptomatic and 20 asymptomatic. The control group was 25 healthy subjects. The OPN in the control group was 60 ± 6.62 ng/mL, 74.3 ± 60.8 ng/mL in asymptomatic, and 45.4 ± 90.3 ng/mL in symptomatic patients ($P = .003$).

Conclusions: OPN behaves as a good indicator of stroke risk in patients with carotid plaque, even though its levels and molecular mechanisms of expression are not entirely clear.

© 2016 SEACV. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

Numerosos biomarcadores de inestabilidad de placa carotídea han sido descritos en la literatura. El objeto ha sido ayudar al clínico en la determinación de la vulnerabilidad de la placa en relación con la sintomatología neurológica. La osteopontina (OPN) es una glicoproteína N-ligada perteneciente a la familia SIBLING. Los miembros de la familia SIBLING (proteínas N-glicosiladas con ligandos de unión de integrina) son glicoproteínas sintetizadas por células óseas con actividad de conexión celular^{1,2}. Fue identificada por primera vez en 1986 como una proteína de la matriz del hueso en los osteoblastos y se expresa en varias células inmunes y vasculares. En condiciones proinflamatorias o de cicatrización de heridas, la expresión de OPN se incrementa cerca de las células inflamatorias. La OPN se asocia con la migración y proliferación y regula la quimiotaxis de la célula inflamatoria. La OPN se produce como una citocina en células T activadas y macrófagos, favorece el reclutamiento de monocitos/macrófagos y regula la producción de citocinas, por lo cual se señala que tiene un papel importante en la modulación de la inflamación (fig. 1).

Su expresión en vasos sanguíneos y corazón sanos es muy baja, pero aumenta considerablemente en respuesta al daño y predice una función cardíaca pobre. Los niveles plasmáticos de OPN se correlacionan con la extensión de la aterosclerosis coronaria y tiene implicación en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular^{3,4}. Se encuentra como componente de las placas de ateroma y está asociada con su calcificación⁵. Por todo esto, se piensa que la OPN participa

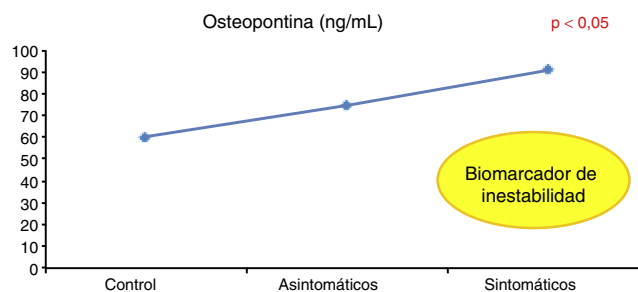


Figura 1 Elevación significativa de los niveles según el riesgo neurológico.

en la inflamación, aterosclerosis y calcificación vascular y que tiene importancia en la progresión de la enfermedad^{5,6}.

Por esta razón, hemos diseñado este estudio en el que la hipótesis general postula que existen diferencias en cuanto a los niveles de inflamación en los pacientes sintomáticos y en aquellos que permanecen asintomáticos, aunque ambos padezcan aterosclerosis carotídea. El objetivo ha sido valorar la OPN como marcador en la aparición de la enfermedad aterosclerótica y su repercusión clínica neurológica, con la idea de utilizarla como marcador diagnóstico y pronóstico que ayude a la identificación de pacientes asintomáticos con riesgo neurológico que precisen de un tratamiento quirúrgico precoz.

Material y métodos

Diseño del estudio

Se diseñó un estudio prospectivo de casos y controles de pacientes consecutivos intervenidos de endarterectomía carotídea (ECA) en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid durante el periodo de enero a junio de 2012. Los sujetos controles procedieron de Salud Laboral. A todos se les realizó una historia clínica en la que se recogieron las principales características demográficas y una extracción sanguínea para estudio analítico.

Todos los pacientes dieron su consentimiento escrito para la realización de este estudio que fue aprobado por la Comisión de Ética e Investigación del Hospital Clínico. Este estudio contó con la financiación económica del Proyecto de la Gerencia Regional de Salud de la Junta de Castilla y León GRS 367/A/09.

Sujetos incluidos en el estudio

Se incluyó en el estudio a todos los pacientes mayores de 18 años que iban a ser intervenidos de ECA. Fueron evaluados por un neurólogo o con prueba de imagen preoperatoria (angio-TAC o RNM). Los criterios de exclusión del estudio fueron: pacientes oncológicos, gestantes, pacientes en tratamiento con corticoides o inmunosupresores y pacientes trasplantados.

El grupo control consistió de sujetos voluntarios, sanos, procedentes de Salud Laboral.

Determinaciones

A los pacientes que accedieron a participar en el estudio y a los controles se les realizó una historia clínica detallada donde se recogieron sus antecedentes, características demográficas y medicación actual. Estos datos fueron contrastados con los informes médicos que en su caso ellos aportaban, lo que acentúa la validez de la información.

Se les tomó una muestra sanguínea (10 ml en tubo de gel sin anticoagulante para las determinaciones en suero y 20 ml en tubo con EDTA para las determinaciones en plasma) en la hora previa a la cirugía con objeto de que no interfiriese el estrés quirúrgico en las determinaciones. La muestra se trasladó al laboratorio en condiciones de frío a 4°C, donde se centrifugó a 3.500 rpm durante 15 min y fue alicuotada

para su posterior análisis. Al grupo control se le realizaron las mismas extracciones y estudios analíticos que al grupo quirúrgico.

Las mediciones en suero se realizaron en el autoanalizador Cobas C711 Hitachi de Roche Diagnostics® mediante los reactivos proporcionados por Roche Diagnostics®, a excepción del colesterol LDL (mg/dL) que se obtuvo de forma calculada mediante la fórmula de Friedwald. La OPN se determinó mediante enzoinmunoanálisis (ng/mL) en laboratorio externo (Reference).

Análisis estadístico

Todos los datos recogidos de la población estudiada se introdujeron en una base de datos Microsoft Excel®. Posteriormente fueron analizados mediante el paquete estadístico SPSS® versión 18.0.

En el análisis descriptivo se presentaron los datos en tablas de frecuencia. Las variables categóricas se describen como frecuencias y las cuantitativas como media y desviación estándar en el caso de utilizar pruebas paramétricas, y como mediana y rango intercuartil en el caso de utilizar pruebas no paramétricas. Tras realizar un estudio de distribución (normalidad) de las variables continuas, y en función del resultado, se utilizaron pruebas paramétricas o no paramétricas. Se estableció que la relación es estadísticamente significativa si p es inferior a 0,05.

Resultados

Sujetos

El grupo tratado consistió de un total de 44 pacientes consecutivos, 39 hombres y 5 mujeres, intervenidos quirúrgicamente de ECA por el Servicio de Angiología y Cirugía Vasculardel Hospital Clínico Universitario de Valladolid, con una edad media de 75,02 años \pm 6,62. El grupo control fue un grupo de 25 individuos voluntarios, 14 hombres y 11 mujeres, procedentes de Salud Laboral, con una edad lógicamente inferior de 59,32 años \pm 9,49.

Síntomas neurológicos

En el subgrupo de pacientes sintomáticos ($n=24$), estos se distribuyeron de acuerdo con la valoración clínica neurológica o las pruebas de imagen en: 11 presentaron un accidente isquémico transitorio, lo que supone un 45,8%, 11 presentaron un accidente cerebrovascular agudo, lo que supone un 45,8% y 4 presentaron amaurosis fugax, lo cual supone un 16,7%. Como se puede apreciar, 2 de los individuos tuvieron más de un tipo de sintomatología. Veinte pacientes asintomáticos ($n=20$) fueron operados mediante ECA por presentar una estenosis mayor o igual al 70%, con base en datos hemodinámicos de ecodoppler o pruebas objetivas de imagen (angio-TAC o angiografía). EL 94,7% de los pacientes sintomáticos presentaron una estenosis mayor o igual al 70%.

El intervalo de tiempo entre la presencia de clínica y la intervención quirúrgica fue de 3 a 90 días, con una mediana de 16 días y un rango intercuartil de 13-30 días.

Tabla 1 Controles, asintomáticos y sintomáticos. Datos demográficos

	Control (n = 25)	Asintomáticos (n = 20)	Sintomáticos (n = 24)	p
Edad ^a (años)	59,32 (9,49)	74,47 (8,13)	75,46 (5,28)	<0,001
Sexo ^b (varones) % (n)	56 (14)	95 (19)	83,3 (20)	0,006
Fumador ^c % (n)	44 (11)	100 (8)	55 (6)	0,005
Enfermedad del sistema nervioso ^c % (n)	0 (0)	10,5 (2)	4,3 (1)	0,175
Enfermedad psiquiátrica ^c % (n)	4 (1)	10 (2)	0 (0)	0,194
Enfermedad coronaria/cardiopatía isquémica ^b % (n)	0 (0)	50 (10)	33,3 (8)	<0,001
Aterosclerosis ^b % (n)	4 (1)	75 (15)	54,2 (13)	<0,001
Diabetes mellitus ^b % (n)	4 (1)	30 (6)	50 (12)	0,001
Enfermedad renal ^c % (n)	8 (2)	20 (4)	8,3 (2)	0,409
Enfermedad reumatológica ^c % (n)	4 (1)	33,3 (3)	25 (2)	0,061
Hta ^b % (n)	0 (0)	90 (18)	95,8 (23)	<0,001
EPOC ^c % (n)	0 (0)	10,5 (2)	16,7 (4)	0,046
Aas/antiagregantes ^b % (n)	4 (1)	85 (17)	96 (23)	<0,001
AINE ^c % (n)	4 (1)	15 (3)	13 (3)	0,374
Estatinas ^b % (n)	16 (4)	85 (17)	100 (23)	<0,001
Anticoagulantes ^c % (n)	0 (0)	25 (5)	20,8 (5)	0,007

Se muestran porcentajes con el número de pacientes (entre paréntesis), excepto en la edad, donde se muestran medias con su desviación estándar (entre paréntesis).

^a Significación estadística mediante prueba de Kruskal-Wallis.

^b Prueba de Chi-cuadrado de Pearson.

^c Razón de verosimilitudes o estadístico exacto de Fisher.

Relación estadísticamente significativa si p es inferior a 0,05.

Los principales resultados aparecen descritos en las [tablas 1 y 2](#). Aunque se encontraron diferencias estadísticas entre los distintos grupos en diversas variables, que no son objeto de este manuscrito, centraremos el estudio en los valores de OPN, que fueron de $60,0 \pm 25$ ng/mL en el grupo control, de $74,3 \pm 60,8$ ng/mL en los pacientes asintomáticos y de $90,3 \pm 45,4$ ng/mL en los pacientes sintomáticos, con valores significativos ($p = 0,003$).

Discusión

Como es bien conocido por todos, el primer mecanismo de ictus relacionado con la arteria carótida es un evento

ateroembólico que proviene de la rotura de una placa aterosclerótica inestable⁷.

Los factores implicados en la patogenia del ictus isquémico de origen carotídeo son básicamente el estado de la circulación intracerebral, el grado de estenosis de la arteria carótida interna y la morfología de la placa. Es conocido que en la modificación de estos factores influyen, por una parte, los hábitos y antecedentes patológicos de los individuos y, por otra parte, los cambios de una serie de parámetros que podemos medir, ya sea en la circulación sanguínea o directamente en la placa de aterosclerosis. En nuestro estudio hemos realizado un amplio análisis de estos parámetros, aunque este manuscrito se centre en el papel de la OPN.

Tabla 2 Controles, asintomáticos y sintomáticos. Variables bioquímicas

	Control (n = 25)	Asintomáticos (n = 20)	Sintomáticos (n = 24)	p
Triglicéridos (mg/dL)	93,0 (34,0)	126,7 (68,0)	88,1 (46,7)	0,249
Colesterol total ^a (mg/dL)	207,7 (26,9)	155,6 (29,0)	129,7 (40,0)	<0,001
LDL ^a (mg/dL)	130,2 (28,8)	92,2 (23,3)	74,3 (30,8)	<0,001
HDL (mg/dL)	49,0 (15,0)	36,3 (10,8)	30,5 (10,3)	<0,001
Proteínas totales (g/dL)	7,0 (0,0)	5,9 (1,0)	5,8 (0,8)	<0,001
Urea (mg/dL)	32,0 (12,0)	48,3 (53,2)	51,9 (40,9)	<0,001
Creatinina (mg/dL)	1,0 (0,0)	1,1 (0,7)	0,9 (0,6)	0,144
Glucosa (mg/dL)	101,0 (9,0)	116,7 (31,0)	127,3 (35)	<0,001
Osteopontina (ng/mL)	60,0 (25,0)	74,3 (60,8)	90,3 (45,4)	0,003

Se muestran medias con desviación estándar (entre paréntesis) en el caso de distribuciones normales y medianas con rango intercuartil (entre paréntesis) en el caso de distribuciones no normales. Significación estadística mediante ANOVA en distribuciones normales y prueba de Kruskal-Wallis en distribuciones no normales. Relación estadísticamente significativa si p es inferior a 0,05.

^a Distribución normal.

Con respecto a la edad, podemos observar que la diferencia entre los grupos es importante, significativamente menor en la población control, ya que estos procedían de Salud Laboral, con lo cual se trata de trabajadores en activo y, por tanto, más jóvenes que la media de los enfermos reclutados. Este factor influye en la distribución de otras comorbilidades tales como la cardiopatía isquémica, hipertensión o diabetes.

La proporción de varones en nuestro estudio, como en otros^{8,9}, es mayor en enfermos que en controles, lo cual es lógico atendiendo a que el sexo masculino representa un factor de riesgo para la enfermedad aterosclerótica.

Respecto al hábito de fumar, para lo que describimos como «fumador», obtenemos proporciones claramente superiores entre los enfermos, lo cual concuerda con la bibliografía¹⁰, ya que el tabaco supone uno de los factores de riesgo más importantes para la enfermedad, tal y como se describió previamente. Podemos observar cómo el porcentaje de fumadores es casi el doble entre los asintomáticos, lo cual indica que los pacientes sintomáticos son, probablemente, más conscientes de su enfermedad y del riesgo que supone el tabaco en su evolución, por lo que habrían seguido con más entusiasmo la recomendación de abandonar este hábito nocivo. Lo mismo sucede con el consumo de fármacos antiagregantes plaquetarios o estatinas.

La relación de asociación entre la aterosclerosis y EPOC ya está previamente descrita¹¹ y en nuestro estudio así se corrobora. La EPOC es más frecuente en enfermos con aterosclerosis carotídea que en los sujetos control.

Como señalan todas las guías, tanto en pacientes asintomáticos como en sintomáticos, con o sin tratamiento de revascularización, el manejo óptimo de la ECA requiere, además de cambios en el estilo de vida (dejar de fumar y controlar la hipertensión, la hiperlipidemia y la diabetes), el tratamiento con antiagregantes y estatinas.

Es conocido que la OPN tiene una buena correlación con la inflamación y la incidencia de eventos cardiovasculares relacionados con la aterosclerosis. En este estudio hemos pretendido correlacionarla con la sintomatología cerebrovascular, demostrando una elevación progresiva y significativa entre sujetos controles, pacientes asintomáticos y sintomáticos. Sus niveles en plasma, que se incrementan en situaciones de estrés oxidativo, se pueden utilizar, por tanto, como marcador de aterosclerosis en pacientes con enfermedad arterial carotídea. Nuestros resultados están en concordancia con otros estudios que analizan su relación con eventos cardiovasculares coronarios. No obstante, conviene señalar, en relación con otros autores^{11,4,12,13}, que los niveles predictores son variables dependiendo de la técnica inmunoenzimática utilizada. En nuestro estudio, niveles superiores a los 70 ng/mL son sugestivos de riesgo.

La aterosclerosis es un proceso inflamatorio crónico que conduce a la formación de la placa en condiciones de disfunción endotelial y a elevados niveles de colesterol en sangre. Estas placas tienen un componente inflamatorio importante con macrófagos infiltrados y otras células del sistema inmune. La OPN, que se encuentra en lesiones ateroscleróticas, especialmente asociada con los macrófagos y células espumosas (*foam cell*), puede ser un biomarcador de riesgo vascular, ya que participa en la progresión de la enfermedad, el remodelado vascular y la reestenosis^{6,14}.

En conclusión, este trabajo propone la OPN como biomarcador novedoso y útil para la enfermedad carotídea. En pacientes con enfermedad aterosclerótica carotídea, los niveles plasmáticos de OPN se incrementan al aumentar el estrés oxidativo (mayor en enfermos sintomáticos que en pacientes asintomáticos o sanos), por lo que puede considerarse un marcador de aterosclerosis. La determinación en plasma de sus niveles puede ser útil para caracterizar a aquellos pacientes con riesgo de ictus. Sin embargo, los mecanismos moleculares de expresión de la OPN no están del todo aclarados^{6,15-17}.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Coloma JL, Ros C, Castelo-Blanco C. Osteoporosis. Fisiología y patología-1. REVMCOG. 2009;14:178-87.
- Lamour V, Nokin M-J, Henry A, Castronovo V, Bellahcène A. SIBLING proteins: Molecular tools for tumor progression and angiogenesis. Médecine Sci MS. 2013;29:1018-25.
- Cho H-J, Cho H-J, Kim H-S. Osteopontin: A multifunctional protein at the crossroads of inflammation, atherosclerosis, and vascular calcification. Curr Atheroscler Rep. 2009;11:206-13.
- Ohmori R, Momiyama Y, Taniguchi H, Takahashi R, Kusuhara M, Nakamura H, et al. Plasma osteopontin levels are associated with the presence and extent of coronary artery disease. Atherosclerosis. 2003;170:333-7.
- Mazière C, Gomila C, Mazière J-C. Oxidized low-density lipoprotein increases osteopontin expression by generation of oxidative stress. Free Radic Biol Med. 2010;48:1382-7.
- Cho H-J, Cho H-J, Kim H-S. Osteopontin: A multifunctional protein at the crossroads of inflammation, atherosclerosis, and vascular calcification. Curr Atheroscler Rep. 2009;11:206-13.
- Bazan HA, Smith TA, Donovan MJ, Sternbergh WC. Future management of carotid stenosis: Role of urgent carotid interventions in the acutely symptomatic carotid patient and best medical therapy for asymptomatic carotid disease. Ochsner J. 2014;14:608-15.
- Yahagi K, Davis HR, Arbustini E, Virmani R. Sex differences in coronary artery disease: Pathological observations. Atherosclerosis. 2015;239:260-7.
- Brown MM, Czuriga-Kovács KR. Carotid artery: Overview on current trials -selecting the low-risk patient. J Cardiovasc Surg (Torino). 2015;56:177-88.

10. Tsialtas D, Bolognesi MG, Tecchio T, Azzarone M, Quaini F, Bolognesi R. Clinical, electrocardiographic and echocardiographic features in patients with major arterial vascular disease assigned to surgical revascularization. *Vasa*. 2014;43:443–9.
11. Romme EA, McAllister DA, Murchison JT, van Beek EJ, Petrides GS, Price CO, et al. Associations between COPD related manifestations: A cross-sectional study. *Respir Res*. 2013;14:129–33.
12. Kadoglou NP, Gerasimidis T, Golemati S, Kapelouzou A, Karayannacos PE, Liapis CD. The relationship between serum levels of vascular calcification inhibitors and carotid plaque vulnerability. *J Vasc Surg*. 2008;47:55–62.
13. Berezin AE, Kremzer AA. Circulating osteopontin as a marker of early coronary vascular calcification in type 2 diabetes mellitus patients with known asymptomatic coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2013;229:475–81.
14. Isoda K, Nishikawa K, Kamezawa Y, Yoshida M, Kusuvara M, Moroi M, et al. Osteopontin plays an important role in the development of medial thickening and neointimal formation. *Circ Res*. 2002;91:77–82.
15. Georgiadou P, Iliodromitis EK, Varounis C, Mavroidis M, Kolokathis F, Andreadou I, et al. Relationship between plasma osteopontin and oxidative stress in patients with coronary artery disease. *Expert Opin Ther Targets*. 2008;12:917–20.
16. Rosenberg M, Zugck C, Nelles M, Juenger C, Frank D, Remppis A, et al. Osteopontin, a new prognostic biomarker in patients with chronic heart failure. *Circ Heart Fail*. 2008;1:43–9.
17. Abdel-Azeez HA, Al-Zaky M. Plasma osteopontin as a predictor of coronary artery disease: Association with echocardiographic characteristics of atherosclerosis. *J Clin Lab Anal*. 2010;24:201–6.