

Procesos moleculares patogénicos de la aterosclerosis y alternativas terapéuticas para su control

Pathogenic molecular processes of atherosclerosis and therapeutic alternatives for control

MSc. Livan Delgado Roche,^I Dra. C. Ana María Vázquez López,^{II} Dr. C. Gregorio Martínez-Sánchez^{III}

^I Centro de Estudios para las Investigaciones y Evaluaciones Biológicas, Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana. La Habana, Cuba.

^{II} Centro de Inmunología Molecular. La Habana, Cuba.

^{III} MediNat srl. Ancona, Italia.

RESUMEN

La aterosclerosis es una enfermedad vascular crónica que afecta las bifurcaciones de las grandes arterias. Las enfermedades cardiovasculares asociadas a esta afección representan la primera causa de mortalidad en el mundo occidental. La fisiopatología de la aterosclerosis interrelaciona una serie de fenómenos moleculares y celulares complejos que aún no están del todo esclarecidos. Sin embargo, se han postulado algunas hipótesis para dar explicación a los procesos patogénicos que tienen lugar durante la aterogénesis. El objetivo del presente trabajo es ofrecer una actualización sobre los principales cambios moleculares que ocurren durante el inicio y progreso de esta enfermedad, así como las alternativas terapéuticas para su tratamiento y control. Para ello se realizó una revisión de publicaciones científicas en la base de datos MEDLINE durante los últimos 10 años. Se profundizó en la complejidad de dicha afección y se demostró que aún no existe una terapia totalmente eficaz para su tratamiento.

Palabras clave: aterosclerosis, estrés oxidativo, lipoproteínas de baja densidad oxidadas, inflamación, enfermedad autoinmune, antioxidantes.

ABSTRACT

Atherosclerosis is a chronic vascular disease which affects bifurcations of major arteries. Atherosclerosis-associated cardiovascular diseases represent the first cause of mortality in the western world. The physiopathology of atherosclerosis associates a variety of molecular and cellular complex events, which are not completely understood. However, some hypothesis have been postulated to explain the pathogenic events during atherogenesis. The objective of the present article is to offer an updating on the principal molecular events during the atherosclerosis development and therapeutic alternatives for its treatment and control. To this end, a literature review was made in MEDLINE database, which covered the scientific publications of the last 10 years. The complexity of this illness was analyzed in depth and it was demonstrated that there was not any completely effective therapy to treat it.

Key words: atherosclerosis, oxidative stress, low density lipoproteins, inflammation, autoimmune disease, antioxidants.

INTRODUCCIÓN

La aterosclerosis y las complicaciones que de ella se derivan representan la causa más frecuente de muerte en el mundo occidental.¹ Esta es una enfermedad vascular crónica que afecta las arterias de mediano y gran calibre, la cual comienza en la vida fetal, progresa lentamente durante la niñez y la adolescencia, y su desarrollo se acelera en la vida adulta.² En la aterosclerosis, la inflamación y el estrés oxidativo (EO) desempeñan una función importante en cada una de sus etapas.³

La fisiopatología de la aterosclerosis interrelaciona procesos moleculares y celulares complejos que aún no están del todo esclarecidos. Sin embargo, se han postulado hipótesis en aras de lograr una mayor comprensión de su patogenia. En la actualidad son reconocidas la hipótesis sobre la modificación oxidativa de las lipoproteínas de baja densidad (LDL),⁴ la teoría de la retención de las LDL,⁵ la de respuesta al daño⁶ y la que aborda el carácter autoinmune de la enfermedad.⁷ Aun cuando las diferentes hipótesis centran su atención en aspectos diferentes, los procesos descritos en cada una de ellas condicionan el origen de una respuesta sistémica que los interrelaciona.

La formación de placas ateroscleróticas caracteriza el desarrollo de la enfermedad y estas consisten en lesiones focales de la íntima arterial, en las cuales se produce acumulación intracelular y extracelular de colesterol, fibrosis e inflamación.⁸ En el ser humano, la aterosclerosis transita por varias etapas que van desde los procesos subclínicos más tempranos, como la disfunción endotelial y formación de estrias grasas, hasta estadios más avanzados donde se produce el engrosamiento de la íntima, fibrosis y remodelación del tejido, acumulación de restos necróticos, de células T, macrófagos y lipoproteínas aterogénicas oxidadas, calcificación de la placa y finalmente la ruptura de esta.⁹

El presente trabajo tiene como objetivo ofrecer una actualización sobre los principales procesos moleculares que ocurren durante el inicio y progreso de esta enfermedad, así como las alternativas terapéuticas para su tratamiento y control.

Para ello se realizó una revisión de publicaciones científicas en la base de datos MEDLINE durante los últimos 10 años.

MECANISMOS INVOLUCRADOS EN LA FORMACIÓN DE LA LESIÓN ATEROSCLERÓTICA

La experiencia acumulada durante las últimas décadas ha permitido formular varias hipótesis que intentan explicar la etiología y patogénesis de la aterosclerosis, entre las de mayor aceptación se encuentran:

1. Hipótesis de la modificación oxidativa de las LDL.
2. Hipótesis de la respuesta a la retención de las LDL.
3. Hipótesis de la respuesta al daño.
4. Hipótesis autoinmune.

Cabe destacar que estas hipótesis han contribuido a lograr un mejor entendimiento del proceso aterosclerótico y poder explicar los procesos fisiopatológicos involucrados en su patogenia. Sin embargo, si se hace un análisis cuidadoso de estas hipótesis se puede constatar que no son mutuamente excluyentes, puesto que lo descrito en cada una de ellas condicionan el origen de una respuesta sistémica que los interrelaciona.

Hipótesis de la modificación oxidativa de las LDL

En 1989, *Steinberg* y otros postularon la hipótesis sobre la modificación oxidativa de las LDL.⁴ Esta teoría tiene sus antecedentes en las investigaciones realizadas por dos grupos de investigadores de los Estados Unidos. El primero de ellos demostró que las LDL provocaban daños a células endoteliales en cultivo,¹⁰ donde la condición suficiente y necesaria para que esto sucediera era el hecho de que las LDL sufrieran un proceso de oxidación.¹¹ Por otra parte, en la Universidad de California, un segundo grupo de investigadores demostró que las LDL presentes en un medio de cultivo de células endoteliales, comenzaban a ser reconocidas por receptores basurero (RB) de macrófagos¹² y esto sucedía debido a la modificación oxidativa de estas partículas.¹³ De ahí que la hipótesis formulada en torno a estos hallazgos sugirió que la LDL-ox era capaz de promover la formación de células espumosas, a través de su captación por los RB de los macrófagos, lo cual constituía un evento temprano y fundamental para que tuviera lugar el inicio y desarrollo del proceso aterosclerótico.

Este tipo de receptor, antes mencionado, fue caracterizado por primera vez a finales de la década de los 80 y se ha podido comprobar que los macrófagos expresan varios tipos de RB tales como LOX-1, CD36, SR-PSOX, SR-A,¹⁴ entre otros.

Hipótesis de la respuesta a la retención de las LDL

Esta hipótesis postula que el evento molecular clave en la aterogénesis es la retención subendotelial de lipoproteínas (Lp) aterogénicas, en particular de LDL; lo cual es necesario y suficiente para que se produzca el inicio de la lesión en una arteria normal.⁵

La retención en el espacio subendotelial ocurre por la interacción de aminoácidos básicos específicos, presentes en la apoproteína B100 (ApoB100), con los grupos cargados negativamente de los PG que forman parte de la matriz extracelular (MEC) de la íntima arterial.¹⁵ Los fenómenos oxidativos afectan los residuos de lisina de la ApoB100, y como resultado de esto se produce un aumento de la carga negativa neta de las partículas de LDL y con ello dejan de ser reconocidas por el receptor ApoB100/E (regulado mediante un mecanismo de retroalimentación negativa dependiente del contenido de colesterol intracelular) y los PG,¹⁶ lo cual favorece su internalización por parte de los RB. La retención de estas Lp incrementa su tiempo de residencia en la íntima arterial y por tanto, la posibilidad de sufrir modificaciones hidrolíticas y oxidativas en su estructura, con lo cual aumenta su poder aterogénico. A pesar de que esta hipótesis fue planteada luego de que *Steinberg* y otros enunciaran la hipótesis oxidativa, es sin lugar a duda, la que describe y aborda desde un punto de vista fenomenológico y cronológico el evento molecular patogénico clave en la aterogénesis.

Hipótesis de la respuesta al daño

Esta hipótesis fue planteada a finales de la década de los 90, en la cual se asume que los daños provocados al endotelio vascular son responsables de la fase de activación endotelial y con ello del inicio del proceso aterosclerótico.⁶ De acuerdo con esta teoría, entre las principales alteraciones que sufre el endotelio se encuentran el aumento de la permeabilidad, particularmente a lipoproteínas aterogénicas y la expresión de moléculas de adhesión como la E-selectina, P-selectina, molécula de adhesión de células endoteliales vasculares-1 (VCAM-1) y la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1). Estas moléculas se unen a sus correspondientes receptores en monocitos y linfocitos T circulantes e inducen el reclutamiento de estas células al sitio de la lesión.

Entre las causas más relevantes de daño se pueden citar el estrés hemodinámico al cual están sometidas las bifurcaciones de las grandes arterias (acentuado en la HTA), el estrés metabólico (hiperglicemia, hipercolesterolemia, homocisteinemia), así como la presencia de infecciones persistentes (citomegalovirus o *Chlamydia pneumoniae*).¹⁷ El proceso inflamatorio que se desencadena, en respuesta a estos y otros daños, afecta la integridad endotelial, no solo desde el punto de vista estructural, sino también funcional. Esto provoca adherencia y agregación plaquetaria, proliferación de CMLV y la acumulación de tejido conectivo y lípidos en la íntima arterial.¹⁸

La hipótesis de respuesta al daño o hipótesis inflamatoria, como también se le conoce, ha sido recientemente enriquecida con nuevos hallazgos experimentales, que sugieren la activa participación de la túnica adventicia frente al daño a la pared arterial.¹⁹ Los fibroblastos, principal población celular presente en la adventicia, poseen características histológicas, bioquímicas y funcionales particulares que contribuyen a regular la respuesta vascular ante un daño. Se ha demostrado que, bajo condiciones de estrés, los fibroblastos pueden activarse y promover una serie de cambios funcionales en la vasculatura. En respuesta a estos daños, los fibroblastos generan grandes cantidades de ERO, lo cual favorece el incremento de los fenómenos proliferativos y la afectación del tono vascular.²⁰

Por otra parte, los fibroblastos regulan la composición de la MEC de la adventicia y es conocido que en el desarrollo de la aterosclerosis se ve afectada esta composición. Estos cambios, conjuntamente con la producción de citocinas pro-inflamatorias como el factor transformante del crecimiento-beta1 (TGF- β 1), estimulan la transformación de los fibroblastos en miofibroblastos. Estos últimos son capaces de migrar hacia la capa media, incluso hasta la íntima de las arterias

y contribuir al engrosamiento y la neovascularización.²¹ Todos estos hallazgos apuntan hacia una necesaria atención a los cambios que tienen lugar en la adventicia de las arterias, como parte de los fenómenos que ocurren durante el desarrollo y progreso de la aterosclerosis.

Hipótesis autoinmune

Esta hipótesis presenta sus bases en los procesos de la respuesta inmunológica que tienen lugar ante los diferentes estímulos aterogénicos. En las lesiones ateroscleróticas se ha podido observar la existencia de complejos de anticuerpos, antígenos y proteínas del sistema del complemento en el espacio subendotelial, mientras que se han identificado linfocitos B en los bordes de las lesiones. También se ha comprobado que las etapas más tempranas de la aterosclerosis se caracterizan por una reacción inmunológica probablemente causada por autoantígenos. En esta etapa es posible identificar linfocitos T presentes en la lesión, incluso, antes que se produzca el desarrollo de la placa. Posteriormente se produce una infiltración al espacio subendotelial de células mononucleares, como linfocitos T auxiliares CD4+ (Th1), aunque también pueden estar presentes linfocitos CD8+, monocitos, macrófagos y mastocitos.^{22,23}

En la aterosclerosis existen auto-Ag primarios como la LDL-ox y las proteínas de estrés térmico (HSP) y secundarios como la β 2-glicoproteína y componentes estructurales de algunos microorganismos.

De estos autoantígenos los más estudiados han sido la LDL-ox y las HSP. Estas últimas están presentes en todos los organismos vivos y su función biológica responde a la necesidad de autoprotección celular. Las HSP se localizan en diferentes compartimentos celulares como la mitocondria, el núcleo, el retículo endoplasmático y el citoplasma. Estas proteínas han sido conservadas a través del proceso evolutivo y participan en el recambio, reparación y aclaramiento de proteínas que han sido dañadas o inactivadas, de ahí que se sintetizan en altas concentraciones cerca de regiones donde se produzca estrés celular, como en el endotelio vascular y los procesos inflamatorios.²⁴

Las HSP protegen las células endoteliales del estrés hemodinámico, el cual afecta la homeostasis vascular. Sin embargo, este intento por salvar a las células puede ser revertido en un proceso totalmente contrario. La presencia en la superficie celular de HSP60/65 constituye una señal para que el sistema inmunitario la reconozca, se active y la célula sea destruida.²⁵ En personas jóvenes se ha comprobado que la presencia de anticuerpos anti-HSP60 posee un valor predictivo sobre la presencia de un desarrollo aterogénico temprano y la ocurrencia de fenómenos cardiovasculares adversos.²⁶

Durante la oxidación de las LDL se producen cambios estructurales en las proteínas que las conforman, así como aldehídos reactivos que poseen un elevado poder inmunogénico. Se ha observado que existe una interrelación entre las LDL-ox y las HSP, puesto que las primeras pueden, por sí mismas, desencadenar la producción de HSP por parte de las células endoteliales.²⁷ En el suero de pacientes con enfermedades cardiovasculares de origen aterotrombótico se han podido identificar anticuerpos anti-LDL-ox, así como linfocitos T reactivos contra las LDL-ox, los cuales pueden ser utilizados como marcadores clínicos de estas enfermedades. Por otra parte, las LDL-ox pueden interactuar con proteínas plasmáticas como la β 2-glicoproteína I y favorecer la formación de complejos. La unión de autoanticuerpos a estos complejos antigénicos, a nivel del endotelio vascular, provoca su activación y una respuesta inmunológica del tipo inflamatoria.²⁸

Finalmente, otro aspecto que debe destacarse es el hecho de que la inmunidad innata también desempeña una función fundamental en el proceso aterosclerótico.²⁹ Las células de la inmunidad innata tienen la capacidad de reconocer patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP).³⁰ Las LDL-ox y las HSP forman parte de estos PAMP, por lo cual son capaces de activar las primeras líneas de defensa inmunológica. Estos PAMP pueden ser reconocidos por receptores celulares como los RB y los receptores del tipo *toll* (TLR), presentes en la superficie de células presentadoras de antígenos (APC), como macrófagos, células dendríticas y endoteliales. Estas presentan el antígeno a las células T efectoras y estimulan la producción de anticuerpos por parte de linfocitos B.³¹

Basados en estas y otras muchas evidencias, varios autores coinciden en que la aterosclerosis cumple con los criterios planteados para definir una enfermedad autoinmune, los cuales son: la existencia de autoantígenos conocidos (LDL-ox, HSP-60); la posibilidad de inducir la enfermedad en animales vírgenes con dichos autoAg; la existencia de autoanticuerpos; el desarrollo de la enfermedad en animales vírgenes a través de una transferencia pasiva de células T; y la disminución de los síntomas de la enfermedad mediante la inmunomodulación de animales de experimentación con aterosclerosis.³²

Estas dos últimas hipótesis han sido aceptadas por la comunidad científica, como fenómenos que giran en torno al proceso de retención y oxidación de las LDL, si bien según nuestro criterio no representa la causa primaria, tampoco podemos plantear que son menos importantes. A la hora de dar explicación a una serie de procesos moleculares que tiene lugar una vez que el detonante de la enfermedad es exacerbado por factores de riesgo y estilos de vida inadecuados, estos fenómenos patogénicos que son descritos en estas hipótesis, contribuyen decisivamente con el progreso de la enfermedad.

PROTEOGLICANOS EN LA ATEROSCLEROSIS

La retención de las LDL en la capa íntima de las arterias constituye un proceso fundamental en el desarrollo de la aterosclerosis.⁵ Estas partículas pueden ser retenidas por varios componentes de la MEC de la vasculatura, tales como la elastina, las fibras colágenas y los PG. Estos últimos constituyen importantes moléculas biológicas compuestas por un núcleo proteico unido covalentemente a cadenas de glucosaminoglicanos (GAG). Los GAG son de estructura lineal, cargados negativamente y pueden dividirse en dos subclases, los GAG sulfatados (condroitin sulfato, keratan sulfato, dermatán sulfato, heparina y heparán sulfato) y los GAG no sulfatados (ácido hialurónico). Por su parte, los PG se han clasificado de acuerdo con el tamaño, la localización y el número de cadenas de GAG que presentan en: perlecano, sindecano, glipicano, versicano, biglicano y decorina.³³

En la MEC, los PG pueden estar anclados a la membrana o encontrarse de forma soluble. Los PG pericelulares están anclados a la membrana citoplasmática, mientras que las formas solubles forman parte del espacio extracelular y usualmente no están físicamente conectados a las células. El versicano, biglicano y decorina son PG extracelulares; mientras el perlecano, de gran tamaño, y los de pequeño tamaño, sindecano y glipicano, constituyen las formas pericelulares.³⁴

Las CMLV, las células endoteliales y los macrófagos son responsables de la producción de PG en la pared arterial y existen varios factores que modulan su síntesis, como algunos componentes de la MEC, el TGF- β 1, el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), la LDL-ox y los ácidos grasos no esterificados. En el

sistema cardiovascular, los PG realizan una amplia gama de funciones como conferir propiedades viscoelásticas y actuar como receptores y correceptores en el metabolismo de las lipoproteínas.³⁵

Las lipoproteínas unidas a PG en la MEC de la íntima arterial son más susceptibles a sufrir oxidación e hidrólisis enzimática, tanto en su porción lipídica como proteica, con lo que aumenta la probabilidad de ser fagocitadas por macrófagos y con ello, su potencial aterogénico. La unión tiene lugar a través de interacciones iónicas entre los residuos de lisina y arginina de la ApoB100, cargados positivamente, y los grupos sulfatos y carboxilos, cargados negativamente, presentes en los GAG.³⁶

EL ESTRÉS OXIDATIVO Y SU RELACIÓN CON EL PROCESO ATEROSCLERÓTICO

El EO es reconocido como un contribuyente fundamental del proceso aterosclerótico.³⁷ Este fenómeno se produce por un desbalance a corto o largo plazo del equilibrio antioxidantes/pro-oxidantes, lo cual provoca una disrupción de los mecanismos de señalización y control celular.³⁸

Las ERO desempeñan una función decisiva en el daño celular que tiene lugar en la aterosclerosis. La cadena de transporte electrónico mitocondrial constituye la fuente generadora principal de ERO en la vasculatura, conjuntamente con la actividad enzimática de la NADPH oxidasa, la óxido nítrico sintasa (NOS), la mieloperoxidasa (MPO) (presente en macrófagos), la xantina oxidasa (XO), la lipoxigenasa (LOX) y la cicloxigenasa (COX). Estas entidades químicas, de alta reactividad y tiempos de vida media muy cortos, son capaces de provocar daños a moléculas de gran importancia biológica como lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos.³⁹

Es conocido que, bajo condiciones de EO, se produce la oxidación de las LDL y sus productos son altamente tóxicos para las células del endotelio y las CMLV. Los oxisteroles constituyen un grupo de metabolitos que se forman durante la oxidación del colesterol, entre los que se destacan el 7 β -hidroxicolesterol (7 β -OH) y el 7ceto-colesterol (7-ceto).⁴⁰ Ambos oxisteroles inducen la muerte celular (por mecanismos apoptóticos y necróticos) de macrófagos y células de la pared arterial, al mismo tiempo que provocan un aumento en la generación de ERO y una disminución de grupos sulfhidrilos.⁴¹ En las lesiones ateroscleróticas se ha podido identificar la abundante presencia de estos metabolitos, lo cual demuestra que los procesos oxidativos mediados por ERO están estrechamente relacionados con el inicio y desarrollo de la aterosclerosis.⁴²

Por otra parte, el EO produce la activación de rutas de señalización celular, especialmente a través de factores de transcripción, que a su vez son capaces de promover la expresión de genes relacionados con la respuesta inflamatoria y el propio EO.⁴³

Uno de los factores de transcripción proinflamatorios que es activado por la LDL-ox es el activador de proteínas 1 (AP1). La actividad de AP1 está bajo el control del estado redox celular y se conoce que su activación también puede ser inducida por ERO como el radical hidroxilo (\cdot OH).⁴⁴ Este factor está constituido por las subunidades c-fos/c-jun y está implicado en el control del crecimiento celular y la carcinogénesis. La activación de AP1 por la LDL-ox ha sido demostrada en CMLV, fibroblastos y células endoteliales.⁴⁵ El AP1 regula la expresión de genes que codifican para citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- β) y la interleuquina 1-beta (IL1- β).⁴⁶ También se ha demostrado que la activación de AP1 induce procesos inflamatorios mediados por angiotensina II en

ratas y modula los niveles intracelulares de colesterol a través de la expresión de ABCA1, un transportador de membrana que facilita el flujo de colesterol a través de esta.⁴⁷

En tanto, el factor de transcripción nuclear kappa B (NFκB) está igualmente sujeto al control redox y puede ser activado por la LDL-ox y el peróxido de hidrógeno (H₂O₂).⁴⁸ Este factor de transcripción nuclear está involucrado en varias etapas del proceso aterosclerótico, como son la adhesión de monocitos al endotelio vascular, la formación de células espumosas y la inflamación. Estos efectos del NFκB han sido demostrados mediante la identificación en su forma activa en placas ateromatosas y es conocido que la inhibición selectiva de este, tributa en una reducción de la formación de células espumosas en animales de experimentación.⁴⁹

El EO provoca una afectación de la vasodilatación dependiente del endotelio, lo cual representa la manifestación funcional más importante en la disfunción endotelial. Además, se puede producir un estado de activación de las células endoteliales, caracterizado por la proliferación celular, inflamación y fenómenos procoagulantes. Se ha demostrado que los factores relajantes derivados del endotelio vascular (EDRF), como el óxido nítrico (NO[•]) y el factor hiperpolarizante derivado del endotelio vascular (H₂O₂), protegen la vasculatura contra el daño aterogénico.⁵⁰ Sin embargo, en aquellas situaciones donde incrementa el EO, se produce un desequilibrio entre estos factores, caracterizado por una disminución en la biodisponibilidad de NO[•].

La biodisponibilidad del NO[•] puede verse afectada por la capacidad que tiene el radical anión superóxido (O₂^{•-}) de reaccionar con él para formar el peroxinitrito (ONOO⁻).⁵¹ Este potente agente oxidante ha sido relacionado con mecanismos de muerte celular en una serie de afecciones, como la isquemia-reperusión⁵² y la aterosclerosis.⁵³ El ONOO⁻ ejerce sus efectos perjudiciales sobre las células del endotelio vascular a través de la oxidación de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, así como la nitración de los residuos tirosina de las proteínas.⁵⁴ En dependencia de la severidad de estos procesos, las células vasculares pueden morir por mecanismos de apoptosis o necrosis.⁵⁵ Ambos provocan la pérdida de la integridad estructural y funcional de estas células y con ellos contribuir al desarrollo de la aterosclerosis.

Por otra parte, el EO favorece la quimiotaxis de células inmunocompetentes y el establecimiento de un medio procoagulante. En este sentido, la producción de quimiocinas como la proteína quimiotáctica de monocitos (MCP-1), promueve el reclutamiento de monocitos hacia sitios lesionados en el endotelio vascular. Este fenómeno facilita la adherencia y extravasación de estas células hacia el espacio subendotelial, donde se diferencian en macrófagos residentes y contribuyen a la formación de células espumosas.¹⁸

El daño oxidativo mediado por ERO es, sin lugar a duda, un evento que interrelaciona varios fenómenos en la fisiopatología de la aterosclerosis. Los daños inducidos por estas entidades químicas, comprometen el adecuado funcionamiento vascular y con ello se ve favorecida la instauración y desarrollo del proceso aterosclerótico, el cual puede desencadenar afecciones cardiovasculares que comprometen la vida de los pacientes.⁵⁶

ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS EN LA ATEROSCLEROSIS

Antioxidantes y aterosclerosis

Estudios clínicos observacionales de carácter prospectivo, han demostrado que existe una asociación entre la suplementación con antioxidantes (vitaminas A, C, E,

ácido fólico, β -caroteno, selenio y zinc) y la disminución de los riesgos de mortalidad cardiovascular.^{57,58} Sin embargo, la utilización de terapias antioxidantes en la aterosclerosis ha sido centro de atención y fuertes controversias, debido fundamentalmente a los diversos resultados obtenidos.

Por una parte, varios ensayos clínicos controlados han demostrado que la suplementación de antioxidantes ha reducido los riesgos de fenómenos cardiovasculares adversos, así como el progreso de las lesiones ateroscleróticas. En el estudio IEISS, la combinación de vitamina A, E, C y β -caroteno, administrada en las primeras horas de síntomas de un infarto agudo del miocardio, redujo la talla de infarto y la muerte de células del miocardio.⁵⁹ Igualmente, el MVP⁶⁰ y el WACS,⁶¹ demostraron que la administración de suplementos antioxidantes a pacientes con enfermedades aterotrombóticas redujo la progresión de la enfermedad.

En contraste con lo anteriormente descrito, varios ensayos clínicos de cohorte han demostrado la ineficacia del tratamiento antioxidante en la prevención primaria y secundaria de las ECV. Recientemente, un metanálisis llevado a cabo en el 2007,⁶² reforzó los resultados previamente descritos.

Estas divergencias sobre la suplementación con antioxidantes en la prevención de las ECV, pueden deberse a la diversidad de dosis empleadas, la naturaleza química de los diferentes antioxidantes, la preexistencia de riesgos cardiovasculares en los pacientes involucrados, así como el tiempo de análisis de los tratamientos; todo ello puede contribuir a que las conclusiones a las cuales se arriban difieran entre un estudio y otro.

Terapias inmunomoduladoras

Una de las estrategias utilizadas ha sido el uso de Ac anti-CD3, ellos pueden provocar inmunosupresión, dada la capacidad que tienen de modular la expresión del complejo CD3/receptor de célula T (TCR). Estos Ac han sido utilizados en ratones ApoE^{-/-} y en ratones deficientes en receptores de LDL (LDLR^{-/-}), en los que se ha podido observar un retardo en la progresión de la enfermedad.⁶³

La modulación de las señales coestimuladoras para la activación de células T, también ha sido tomada en cuenta como un posible blanco terapéutico. Por ejemplo, se ha podido observar que la expresión de moléculas coestimuladoras como son CD40 y CD40L, juega un papel fundamental en el progreso de la aterosclerosis. Estas moléculas son expresadas por varias células involucradas en la aterogénesis, tales como células endoteliales, macrófagos, CMLV y linfocitos T. El tratamiento con Ac anti-CD40L en ratones LDLR^{-/-}, suplementados con una dieta rica en colesterol, si bien no redujo el número de linfocitos T y macrófagos en la lesión, sí favoreció la adopción de un fenotipo más estable de la placa. Otro ejemplo de señales coestimuladoras, implicadas en la aterosclerosis, lo constituye la expresión de las moléculas OX40/OX40L, familia del TNF y presentes en linfocitos CD4⁺ y CD8⁺ activados, células endoteliales y APC. Estudios experimentales en ratones LDLR^{-/-} demostraron que el tratamiento con Ac anti-OX40L redujo en un 50 % la aparición de lesiones ateroscleróticas.⁶⁴

Otra de las estrategias ensayadas experimentalmente es la inmunización pasiva con Ac antifosforilcolina. En este sentido, se ha demostrado que la administración de IgM purificada en ratones ApoE^{-/-} induce una reducción significativa de la formación de lesiones ateroscleróticas, lo cual demuestra el efecto protector de Ac anti-LDL-ox en este tipo de modelo animal. En tanto, la inmunización pasiva con IgG1 humana recombinante anti-LDL-ox mostró efectos muy positivos en un modelo de

aterosclerosis en ratones ApoE^{-/-}, en el que se pudo constatar que este Ac produjo la regresión de las lesiones, aunque no pudo ser dilucidado el mecanismo responsable de este efecto.⁶⁵

Sin embargo, cabe destacar que aunque se han desarrollado diversas estrategias inmunoterapéuticas, muchas de ellas solo han sido ensayadas a nivel preclínico, estudios en humanos serán necesarios para comprobar su eficacia. Además, es muy importante tener en cuenta que la modulación de la respuesta inmunológica deberá ser muy cuidadosa, pues ello puede tener efectos no deseados; sobretodo en el caso de terapias inmunosupresoras, en la cual existe la probabilidad que aparezcan infecciones oportunistas u otras enfermedades.

La aterosclerosis y las enfermedades cardiovasculares que de ella se derivan aún representan las primeras causas de morbilidad y mortalidad en el mundo occidental. Varios hallazgos experimentales han permitido conocer que en esta enfermedad juegan un papel muy importante los procesos inflamatorios, el EO y la activación del sistema inmunológico. Aunque actualmente las terapias están dirigidas a la disminución de los niveles sanguíneos de colesterol, así como al tratamiento convencional de las complicaciones derivadas del proceso aterosclerótico, es de señalar que las terapias antioxidantes e inmunomoduladoras emergen como una alternativa muy atrayente y con resultados muy alentadores. La individualización de la terapia y la reducción o eliminación de los hábitos de vida nocivos a la salud serán la clave del éxito en el tratamiento de la aterosclerosis y las complicaciones cardiovasculares que de ella se derivan.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Paim BA, Velho JA, Castillo RF, Oliveira H, Vercesi AE. Oxidative stress in hypercholesterolemic LDL (low density lipoprotein) receptor knockout mice is associated with low content of mitochondrial NADP-linked substrates and is partially reversed by citrate replacement. *Free Radic Biol Med.* 2008;44:444-51.
2. Shalhoub J, Falck-Hansen MA, Davies AH, Monaco C. Innate immunity and monocyte-macrophage activation in atherosclerosis. *J Inflamm* 2011;8(1):9. Available from: <http://www.journal-inflammation.com/content/8/1/9>
3. Tavori H, Aviram M, Khatib S, Musa R, Nitecki S, Hoffman A, et al. Human carotid atherosclerotic plaque increases oxidative state of macrophages and low density lipoproteins, whereas paraoxonase (PON1) decreases such atherogenic effects. *Free Radic Biol Med.* 2009;46:607-15.
4. Steinberg D, Parthasarathy S, Crew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol: modification of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med.* 1989;320:915-24.
5. Tabas I, Williams KJ, Borén J. Subendothelial lipoprotein retention as the initiating process in atherosclerosis: Update and therapeutic implications. *Circulation.* 2007;116:1832-44.
6. Ross R. Atherosclerosis-and inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340:115-26.
7. Wick G, Perschinka H, Millonig G. Atherosclerosis as an autoimmune disease: an update. *TRENDS Immunol.* 2001;22:665-9.

8. Stemme S, Rymo L, Hansson GK. Polyclonal origin of T lymphocytes in human atherosclerotic plaques. *Lab Invest.* 1991;65:654-60.
9. Virmani R, Burke AP, Farb A, Kolodgie FD. Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47:17-38.
10. Hessler JR, Robertson AL Jr, Chisolm GM. LDL-induced cytotoxicity and its inhibition by HDL in human vascular smooth muscle and endothelial cells in culture. *Atherosclerosis.* 1979;32:213-29.
11. Morel DW, DiCorleto PE, Chisolm GM. Endothelial and smooth muscle cells alter low density lipoprotein in vitro by free radical oxidation. *Arteriosclerosis.* 1984;4:357-64.
12. Henriksen T, Mahoney EM, Steinberg D. Enhanced macrophage degradation of low-density lipoprotein previously incubated with cultured endothelial cells: recognition by receptor for acetylated low-density lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1981;78:6499-503.
13. Streinbrecher VP, Parthasarathy S, Leake DS, Witztum JL, Steinberg D. Modification of low-density lipoprotein by endothelial cells involves lipid peroxidation and degradation of low-density lipoprotein phospholipids. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1984;81:3883-7.
14. Skalén K, Gustafsson M, Rydberg EK, Hultén LM, Wiklund O, Innerarity TL, et al. Subendothelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis. *Nature.* 2002; 417:750-4.
15. Nakajima K, Nakano T, Tanaka A. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: the comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta.* 2006;367:36-47.
16. Blasi C. The autoimmune origin of atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2008;201:17-32.
17. Xu F, Ji J, Li L, Chen R, Hu W. Activation of endothelial fibroblasts contributes to the early development of atherosclerosis: a novel hypothesis that complements the "Response-to-injury hypothesis" and the "Inflammation hypothesis". *Med Hypotheses.* 2007;69:908-12.
18. Xu F, Ji L, Chen R, Hu W. JE mRNA expression and MCP-1 expression in the adventitial fibroblasts of aortic root in ApoE knockout mice before the intimal lesion formation. *Atherosclerosis Supp.* 2006;7:203.
19. Federico E, Patrick J. The reactive adventitia fibroblast oxidase in vascular function. *Atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:1962-71.
20. Gao PJ, Li Y, Sun AJ, Lin JJ, Ji KD, Zhang YZ, et al. Differentiation of vascular myofibroblasts induced by transforming growth factor beta1 requires the involvement of protein kinase C alpha. *J Mol Cell Cardiol.* 2003;35:1105-12.
21. Hansson GK, Libby P. The immune response in atherosclerosis: a doubled edged sword. *Nat Rev Immunol.* 2006;6:508-18.
22. Mackay IR, Leskovsek N, Rose NR. Cell damage and autoimmunity: a critical appraisal. *J Autoimm.* 2008;30:5-11.

23. Miller YI, Choi SH, Wiesner P, Fang L, Harkewicz R, Hartvigsen K, et al. Oxidation-specific epitopes are danger-associated molecular patterns recognized by pattern recognition receptors of innate immunity. *Circ Res*. 2011;108:235-48.
24. Xiao Q, Mandal K, Schett G. Association of serum-soluble heat shock protein 60 with carotid atherosclerosis. *Stroke*. 2005;36:2571-6.
25. Zhu J, Katz RJ, Quyummi AA. Association of serum antibodies to heat-shock protein 65 with coronary calcification levels. Suggestion of pathogen-triggered autoimmunity in early atherosclerosis. *Circulation*. 2004;109:36-41.
26. Alard JE, Dueymes M, Youinou P, Jamin C. Modulation of endothelial cell damages by anti-HSP60 autoantibodies in systemic autoimmune diseases. *Autoimm Rev* 2007;6:438-43.
27. Riganó R, Profumo E, Buttari B. Heat shock proteins and autoimmunity in patients with carotid atherosclerosis. *Ann NY Acad Sci*. 2007;1107:1-10.
28. Zhang G, Ghosh S. Toll-like receptor-mediated NF- κ B activation: a phylogenetically conserved paradigm in innate immunity. *J Clin Invest*. 2001;107:13-9.
29. Schoenfeld Y. Atherosclerosis as autoimmune condition. *Harefuah*. 2001;140:720-2.
30. Schonferr E, Zhao B, Hausser H, Muller M, Langer C, Wagner WD, et al. Lipoprotein lipase-mediated interactions of small proteoglycans and low-density lipoprotein. *Eur J Cell Biol*. 2000;79:689-96.
31. Lemire JM, Braun KR, Maurel P, Kaplan ED, Schwartz SM, Weight TN. Versican/PG-M isoforms in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:1630-9.
32. Schaefer L, Schaefer RM. Proteoglycans: from structural compounds to signaling molecules. *Cell Tissue Res*. 2009; doi: 10.1007/s00441-009-0821-y.
33. Wight TN, Merriles MJ. Proteoglycans in atherosclerosis and restenosis: key roles for versican. *Circ Res*. 2004;94:1158-67.
34. Moore KJ, Tabas I. Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis. *Cell* 2011;145:341-55.
35. Delgado L, Martínez-Sánchez G. Nuevos enfoques sobre el papel de las lipoproteínas plasmáticas en las enfermedades de origen aterotrombótico. *Rev Cubana Farm*. 2010;44:235-48.
36. Jones DP. Redefining oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*. 2006;8:1865-79.
37. Singh U, Jialal I. Oxidative stress and atherosclerosis. *Pathophysiology*. 2006;13:129-42.
38. León OS, Martínez G, Candelario EJ, García I, Bilbao T, Ledesma L. Balance antioxidante- prooxidante: salud y enfermedad. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2005. p. 60-65, 84.
39. Habets KLL, van Puijvelde GHM, van Duivenvoorde LM, van Wanrooij EJA, de Vos P, Tervaert JWC. Vaccination using oxidized low-density lipoprotein-pulsed

dendritic cells reduces atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *Cardiovasc Res.* 2010;85:622-30.

40. Larsson DA, Baird S, Nyahlah JD, Yuan XM, Li W. Oxysterol mixtures, in atheroma-relevant proportions, display synergistic and proapoptotic effects. *Free Radic Biol Med.* 2006;41:902-10.

41. Mazière C, Mazière JC. Activation of transcription factors and gene expression by oxidized-low density lipoproteins. *Free Radic Biol Med.* 2009;46:127-37.

42. Gu Q, Bowden GT, Normolle D, Sun Y. SAG/ROC2 E3 ligase regulates skin carcinogenesis by stage-dependent targeting of c-Jun/AP1 and I κ B α /NF κ B. *J Cell Biol.* 2007;39:1009-23.

43. Serkkola E, Hurme M. Synergism between protein-kinase C and c-AMP dependent pathways in the expression of the interleukin-1 beta gene is mediated via the activator protein-1 (AP-1) enhancer activity. *Eur J Biochem.* 1993;213:243-9.

44. Chen Y, Currie RW. Heat shock treatments suppress angiotensin II-induced AP-1 and SP-1 and stimulate Oct-1 DNA-binding activity in heart. *Inflamm Res.* 2005;54:338-43.

45. Ma Q. Transcriptional responses to oxidative stress: pathological and toxicological implications. *Pharmacol Therap.* 2010;125:376-93.

46. Ferreira V, Van Dijk KW, Groen AK, Vos RM, Van der Kaa J, Gijbels MJ et al. Macrophage-specific inhibition of nuclear factor-kappa B activation reduces foam cells formation. *Atherosclerosis.* 2007;192:283-90.

47. Inoue T, Node K. Vascular failure: a new clinical entity for vascular disease. *J Hypertens.* 2006;24:2121-30.

48. Obrosova IG. Peroxynitrite and cardiomyocyte cell death: An evolving story. *Free Radic Biol Med.* 2006;41:866-8.

49. Szabo G, Bahrle S. Role of nitrosative stress and poly (ADP-ribose) polymerase activation in myocardial reperfusion injury. *Curr Vasc Pharmacol.* 2005;3:215-20.

50. Rubbo H, O'Donnell V. Nitric oxide peroxynitrite and lipoxygenase in atherogenesis: mechanistic insights. *Toxicology.* 2005;208:305-17.

51. Denicola A, Radi R. Peroxynitrite and drug-dependent toxicity. *Toxicology.* 2005;208:273-88.

52. Levrant S, Vannay-Bouchiche C, Pesse B, Pacher P, Feihl F, Waeber, et al. Peroxynitrite is a major trigger of cardiomyocyte apoptosis *in vitro* and *in vivo*. *Free Radic Biol Med.* 2006;41:886-95.

53. Delgado L, Martínez-Sánchez G, Díaz A. Determinación de marcadores de estrés oxidativo en pacientes con enfermedades cardiovasculares. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 2009;43:307-13.

54. Katsiki N, Manes C. Is there a role for supplemented antioxidants in the prevention of the atherosclerosis? *Clin Nutr.* 2009;28:3-9.

55. Jialal I, Devaraj S. Antioxidants and atherosclerosis: don't throw out the baby with the bath water. *Circulation*. 2003;107:926-8.
56. Halliwell B. The wanderings of a free radical. *Free Radic Biol Med*. 2010;46:531-42.
57. Tardif JC, Coté G, Lespérance J, Bourassa M, Lambert J, Doucet S, et al. Probucol and multivitamins in the prevention of reestenosis after coronary angioplasty: multivitamins and Probucol study group. *N Engl J Med*. 1997;337:365-72.
58. Cook NR, Albert CM, Gaziano JM, Zaharris E, MacFadyen J, Danielson E, et al. A randomized factorial trial of vitamins C and E and beta carotene in the secondary prevention of cardiovascular events in women. *Arch Intern Med*. 2007;167:1610-8.
59. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analyses. *JAMA*. 2007;297:842-57.
60. Ait-Oufella H, Herbin O, Bousaziz JD, Binder CJ, Uyttenhove C, Laurans L, et al. B cell depletion reduces the development of atherosclerosis in mice. *J Exp Med*. 2010;207:1579-87.
61. Delgado L. Role of the immunological system in the initiation and progression of atherosclerosis. *Pharmacologyonline*. 2010;2:282-97.
62. Steffens S, Burger F, Pelli G, Dean Y, Elson G, Kosco-Vilbois M, et al. Short-term treatment with anti-CD3 antibody reduces the development and progression of atherosclerosis in mice. *Circulation*. 2006;114:1977-84.
63. De Jager SCA, Kuiper J. Vaccination strategies in atherosclerosis. *Thromb Haemost*. 2011;106:796-803.
64. Den Dekker WK, Cheng C, Pasterkamp G, Duckers HJ. Toll like receptor 4 in atherosclerosis and plaque destabilization. *Atherosclerosis*. 2010;209:314-20.
65. Wanrooij EJ, Puijvelde GH, Vos P, Yageta H, Berkeld TJ, Kuiper J. Interruption of the Tnfrsf4/Tnfsf4 (OX40/OX40L) pathway attenuates atherogenesis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:204-10.

Recibido: 24 de noviembre de 2011.

Aprobado: 29 de diciembre de 2011.

Livan Delgado Roche. Centro de Estudios para las Investigaciones y Evaluaciones Biológicas, Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana. Avenida 23 No. 21425 e/ 214 y 222, La Coronela, La Lisa, La Habana 4, Cuba. CP 13600. Correo electrónico: ldelgado@ifal.uh.cu
