



Arteriosclerosi i remodelatge vascular. Impacte dels lípids i de la matriu extracel·lular en la patologia cel·lular vascular

**Marta Otero-Viñas, Vicenta Llorente-Corté,
Teresa Padró, Lina Badimon**

Centre d'Investigació Cardiovascular, CSIC-Institut Català de Ciències
Cardiovasculares, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona

Patogènia de l'aterosclerosi

L'arteriosclerosi és un procés multifactorial que cursa amb l'engruiximent i enduriment de les artèries amb la conseqüent reducció de la llum del vas. El desenvolupament de la malaltia afecta l'arbre arterial de manera difosa, i lesiona fonamentalment les artèries que irriguen el cor (coronàries), el cervell (caròtides, vertebrals i cerebrals) i les extremitats inferiors (aorta, ilíaqües i femorals). Quan afecta artèries de mitjà i gran calibre és anomenada *aterosclerosi*, i es caracteritza per lesions circumscrites a la paret arterial anomenades *plaques d'ateroma*, formades principalment per lípids, teixit fibrós, cèl·lules musculars llises (CML) i cèl·lules inflamatòries. L'aterosclerosi generalment es complica per la ruptura de la placa i la formació d'un trombe a la seva superfície. La presència del trombe potencia l'obstrucció del vas, indueix l'aparició d'isquèmia o necrosi de la zona irrigada pel vas obstruït, fet

responsable de les manifestacions clíniques. Així, doncs, també s'empra el terme *malaltia aterotrombòtica* en constatar la implicació dels dos processos: aterosclerosi i trombosi.

Les malalties vasculars són la primera causa de mort a Europa, els Estats Units i gran part d'Àsia. Cal dir, però, que la malaltia aterotrombòtica forma part de l'espècie humana des dels seus inicis, però no ha estat fins al segle xx que la incidència d'aquesta malaltia ha assolit una magnitud epidèmica. La principal causa de l'augment en la incidència de l'aterosclerosi ha estat l'augment en l'esperança de vida, atès l'augment de les malalties associades a l'envelliment, però, sobretot, hi ha influït el substancial canvi en l'estil de vida, és a dir, en els hàbits alimentaris, el grau d'activitat física i l'estrès, entre altres aspectes.

S'han descrit un gran nombre de factors de risc que contribueixen a la iniciació i/o progressió del procés ateroscleròtic. Entre ells, es troben nivells plasmàtics elevats de lipoproteïnes de baixa densitat (LDL, de l'anglès *low-density lipoproteins*), hipertensió, tabaquisme, diabetis, obesitat, manca d'activitat física, nivells elevats de lipoproteïna (A), i hiperhomocistinèmia, resposta immunitària a processos infecciosos de virus o bacteris com *C. pneumoniae*. Tot i això, existeixen altres factors de risc, que, malgrat no poder ser modificats, són de gran importància, com l'edat, el sexe i els antecedents familiars (determinats marcadors genètics).

L'associació de l'aterosclerosi a diferents factors de risc generarà la hipòtesi de «resposta al dany», que pretén explicar la gènesi i el desenvolupament de les lesions ateroscleròtiques. Segons aquesta hipòtesi, un dels primers esdeveniments que porten a la iniciació de l'aterogènesi és l'acumulació de LDL en la paret vascular i la seva modificació. Les LDL modificades alteren la funcionalitat de l'endoteli amb la conseqüent modificació de les propietats anti-aterogèniques d'aquest teixit (figura 1A) [1]. A més, incrementen l'expressió de les molècules d'adhesió en les cèl·lules endotelials, afavoreixen així un major reclutament de monòcits circulants i faciliten la seva migració a l'íntima arterial.

Els monòcits infiltrats es diferencien dels macròfags (MØ) a causa de l'estimulació que exerceixen les LDL modificades i les diferents citocines secretades per les cèl·lules endotelials, les CML i els limfòcits. D'altra banda, la retenció i modificació de LDL a la paret vascular i la seva captació pels MØ i les CML, a través de diferents receptors, facilita la formació de cèl·lules escumoses que s'acumulen a l'espai subendotelial (figura 1B). Tot i que l'acumulació de cèl·lules escumoses en l'íntima arterial és una característica dels estadis inicials de la malaltia (estria de greix), aquestes cèl·lules també contribueixen a l'evolució de la lesió ateroscleròtica. Si bé la progressiva acumulació lipídica és un dels processos clau en el desenvolupament de la lesió, també ho és la migració i proliferació de les CML, processos induïts per múltiples factors de creixement, citocines i altres substàncies produïdes per les cèl·lules endotelials, les CML, els MØ i els limfòcits T [2]. Així, doncs, l'increment en el contingut lipídic de la lesió i la resposta fibroproliferativa resultat de la migració i proliferació cel·lulars entorn del nucli lipídic, porten a la formació de plaques ateroscleròtiques més complexes que, a llarg termini, cursen amb símptomes isquèmics (figura 1C).

Observacions clíniques i patològiques evidencien que, en el desenvolupament dels símptomes aguts, és més important la composició de la placa ateroscleròtica (tipus de placa) que el grau d'estenosi (grandària de la placa) que aquesta provoca [3]. Així mateix, estudis histològics han demostrat que les plaques estables es caracteritzen per tenir poc contingut lipídic i una gruixuda càpsula fibrosa rica en CML i en matriu extracel·lular (MEC) [3]. Les CML migren de la mitja cap a l'íntima arterial, on sofreixen canvis fenotípics que les porten a incrementar la secreció de MEC, responsable de l'estabilitat de les plaques. Les plaques amb tendència a trencar-se (plaques vulnerables) estan formades per un gran nucli lipídic i una prima coberta fibrosa amb poc contingut de CML, escassa quantitat de col·lagen i un important infiltrat inflamatori [4]. Aquest nucli està format per lípid intracel·lular, internalitzat pels MØ i les CML, i per lípid extracel·lular, procedent de la reten-

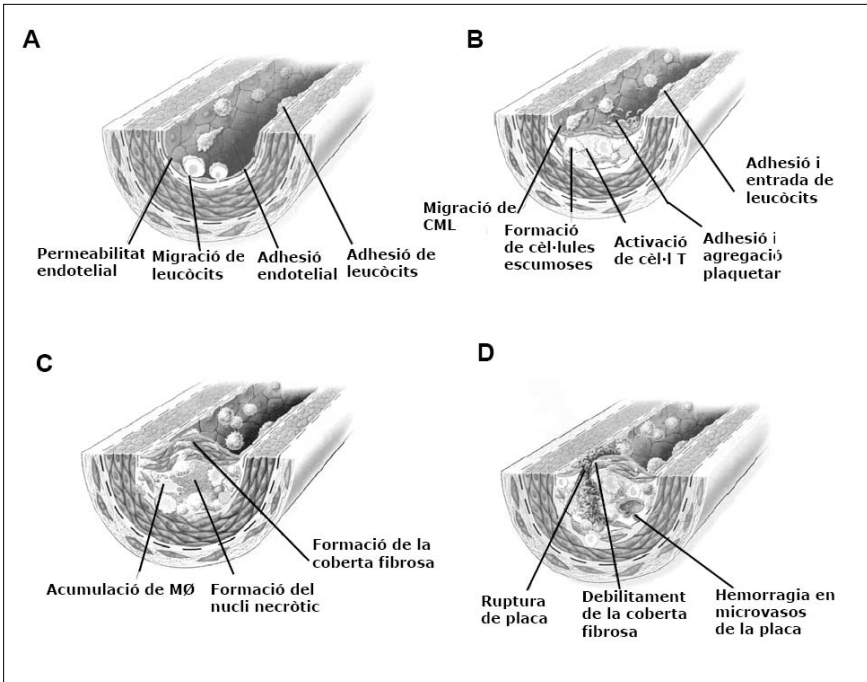


Figura. 1. Progressió de la lesió ateroscleròtica. (A) lesió inicial: canvis microscòpics sense lesió en el teixit; (B) estria de greix (lesions tipus I-II) i placa fibrosa (lesions tipus III-IV): microscòpicament s'evidencia cert desordre cel·lular i la lesió tissular que progressa massivament en l'íntima; (C) lesió avançada (lesions tipus V): Aquestes plaques acostumen a ser asimptomàtiques; (D) ruptura de la placa: té lloc la ruptura de la coberta fibrosa i la formació del trombe mural. S'obstrueix parcialment o completament la llum del vas, dóna lloc a manifestacions clíniques agudes. La reorganització del trombe per teixit connectiu i posteriors dipòsits de calci evolucionarà augmentant l'oclusió del vas amb l'aparició de manifestacions isquèmiques [1].

ció de les lipoproteïnes circulants i/o d'allò que és alliberat per les cèl·lules escumoses que pateixen necrosi. De fet, l'evolució de les lesions cap a plaques avançades porta a una davallada en el contingut de CML i a un increment en el contingut lipídic, el qual estimula la secreció de metal·loproteases per part dels MØ, que degraden la MEC que conforma la coberta fibrosa, i afavoreixen així

la ruptura de la placa (figura 1D). La ruptura o ulceració de les plaques inestables, procoagulants i protrombòtiques, provoca l'activació de plaquetes i la formació de trombes, fet que pot desencadenar en complicacions clíniques o contribuir al creixement de la placa de manera asimptomàtica [5].

Paper de les lipoproteïnes en l'aterogènesi

La iniciació de la lesió ateroscleròtica es caracteritza per l'acumulació de lípid en la MEC de l'íntima arterial. Els lípids acumulats procedeixen fonamentalment de lipoproteïnes plasmàtiques, especialment LDL que travessen l'endoteli mitjançant un procés anomenat *transcitosi*.

Tot i que en la iniciació i progressió de l'aterosclerosi intervenen diversos factors de risc, la «hipòtesi de resposta a la retenció» estableix que la retenció subendotelial de les lipoproteïnes plasmàtiques és el procés patogènic central que provoca la iniciació de l'aterogènesi [7]. En artèries sanes existeix un equilibri entre les lipoproteïnes del plasma i les del fluid extracel·lular de l'íntima, fet que impedeix l'acumulació de lípid en l'artèria. Però en produir-se un desequilibri en aquest balanç, s'incrementa l'entrada i/o permeabilitat de les lipoproteïnes que evoluciona cap a una major interacció i/o retenció amb la MEC.

La retenció de LDL en l'íntima arterial es veu modulada per factors sistèmics com la hipertensió i/o la hipercolesterolèmia, que afavoreixen la penetració i retenció de les lipoproteïnes a l'íntima arterial. Però cal destacar també el paper fonamental de la MEC, els components de la qual conformen una densa malla que facilita la unió i retenció de les LDL. Els principals components de la MEC que hi contribueixen són: el teixit connectiu (col·lagen, elastina, glucosaminoglicans i proteoglicans), els elements estructurals (fibronectina i fibrina), els enzims lipolítics, la lipoproteïna lipasa i l'esfingomielinasa. És important esmentar també el paper de les CML i dels MØ en la retenció de les LDL, perquè aquestes cèl·lules

són responsables de la síntesi i secreció de la major part d'enzims i proteïnes presents en la paret vascular.

La retenció de les lipoproteïnes augmenta el seu temps de residència en l'íntima arterial, cosa que incrementa la susceptibilitat d'ésser modificades. Les LDL pateixen processos de modificació en interaccionar amb els components de la MEC, o bé per acció de determinats agents oxidants (lipoxigenases, mieloperoxidasa, radicals lliures, etc.), i per l'activitat d'enzims proteolítics (quimasa, tripsa, metal·loproteases, trombina, etc.), d'enzims lipolítics (esfingomielinasa, fosfolipasa A₂, fosfolipasa C, etc.) i d'enzims hidrolítics (esterases). D'aquesta manera es donen determinats processos químics i/o estructurals que generen diferents tipus de LDL modificades [8].

La presència de concentracions aterogèniques de LDL, o de determinades LDL modificades retingudes en la paret del vas, pot alterar la funcionalitat de l'endoteli (disfunció endotelial). L'endoteli contribueix a mantenir l'homeòstasi de la paret vascular mitjançant la producció de molècules vasodilatadores com l'òxid nítric i la prostaciclina, i de substàncies vasoconstrictores com l'endotelina i l'angiotensina II, i té propietats antitrombòtiques. S'han descrit nombroses repercussions de la presència de LDL modificades en la paret arterial sobre la funció endotelial: una disminució de la disponibilitat d'òxid nítric, un increment de l'expressió de molècules d'adhesió en la membrana de les cèl·lules endotelials que afavoreix el reclutament dels monòcits circulants, la secreció de citocines i de radicals lliures, determinades LDL modificades resulten citotòxiques per a les cèl·lules endotelials, també incrementen la permeabilitat endotelial, es genera una resposta disminuïda a la dilatació depenent d'endoteli, influeixen en la protecció antiaterogènesi que exerceix l'endoteli, i alteren el to vascular per modificació dels nivells d'endotelina, i afavoreixen l'activitat protrombòtica mitjançant la inducció de factors implicats en el control de vies de coagulació i la inducció de l'agregació plaquetària.

A més, la modificació de les lipoproteïnes evoluciona cap a l'acu-

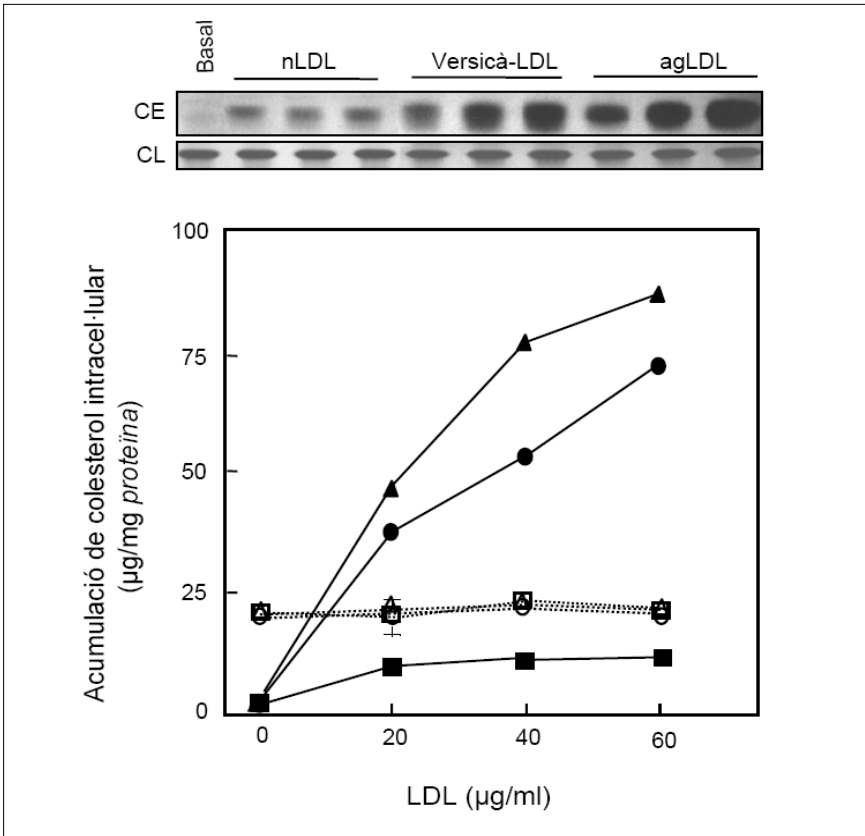


Figura 2. Acumulació lipídica intracel·lular en CML humanes per la incorporació de concentracions creixents de LDL natives (nLDL) i LDL modificades per agregació (agLDL) o per incubació amb el PG versicà (versicà-LDL). A la part superior es mostra l'anàlisi per cromatografia en capa fina de l'acumulació de colesterol lliure (CL) i de colesterol esterificat (CE) induïda per la incubació de les CML amb les diferents lipoproteïnes durant divuit hores. A sota s'indica la quantificació densitomètrica, on l'acumulació de CE (símbols negres) induïda per les diferents lipoproteïnes, nLDL (quadrats), agLDL (triangles) i versicà-LDL (cercles) es normalitza pels valors de CL (símbols blancs). Els resultats s'expressen en micrograms de colesterol per mil·ligram de proteïna [10].

mulació de colesterol extracel·lular en forma d'agregats de lipoproteïnes o d'estructures lipídiques vesiculars i facilita l'acumulació

intracel·lular. A diferència de les LDL natives, les LDL modificades són captades per receptors no regulats a la baixa pel colesterol intracel·lular, fet que porta a incrementar l'acumulació lipídica intracel·lular i a la conseqüent transformació de les cèl·lules vasculars (CML i MØ) en cèl·lules escumoses [9, 10]. L'acumulació de lípid intracel·lular porta a la formació de l'estria de greix, primer estadi de la lesió. La formació de cèl·lules escumoses en la paret vascular pot derivar de monòcits que travessen l'endoteli i es diferencien a MØ o, especialment en plaques més avançades, deriven també de CML que migren de la mitja a l'íntima arterial. Tot i això, en estudis recents s'ha descrit que l'acumulació lipídica intracel·lular en les CML requereix necessàriament l'agregació de les LDL (figura 2) [10]. Cal fer esment, però, que l'excés de colesterol intracel·lular pot evolucionar cap a la mort per necrosi de les cèl·lules escumoses, fet que contribueix a incrementar el nucli lipídic acel·lular propi de les lesions avançades [11]. Les plaques ateroscleròtiques més riques en lípid presenten un major índex d'inestabilitat, cosa que sembla ser una de les causes principals dels incidents cardíacs. Per tant, és primordial entendre el procés de formació de cèl·lules escumoses i la seva participació en la formació i ruptura de les plaques per tal de dissenyar noves estratègies terapèutiques.

La retenció de LDL modificades també pot afectar la biosíntesi o degradació dels diferents components de la MEC. La MEC és responsable de les propietats mecàniques de la paret vascular i també està implicada en determinats processos biològics com l'adhesió, la regulació i proliferació cel·lular, i la interacció cèl·lula-cèl·lula. Cal dir també que la MEC juga un paper fonamental en les lesions avançades, ja que forma la coberta fibrosa al voltant del nucli lipídic que contribueix a l'estabilitat de les plaques ateroscleròtiques. Així, doncs, és fonamental mantenir un balanç adequat entre la síntesi i degradació de la MEC perquè un desequilibri pot afavorir el desenvolupament del procés ateroscleròtic. Un dels principals components de la MEC és el col·lagen. Durant la progressió de la lesió ateroscleròtica s'ha observat un increment en la síntesi de

col·lagen en la paret arterial d'animals hipercolesterolèmics que es localitza principalment en les regions riques en lípid [12]. El manteniment dels nivells de col·lagen en la paret vascular és fonamental, ja que una davallada en la seva quantitat, o defectes en la seva síntesi i deposició, poden portar a un debilitament de la coberta fibrosa, fet que facilitaria la ruptura de la placa o, fins i tot, la formació d'aneurismes i la ruptura arterial. Un altre factor que intervé en l'estabilitat de la MEC és l'activitat de gran varietat d'enzims anomenats *metal·loproteases*, enzims capaços de degradar la MEC [13]. L'increment en l'expressió i activitat de metal·loproteases s'associa a un trencament del cap fibrós de les lesions amb la conseqüent ruptura de la placa. En aquest sentit, la captació de LDL modificades (LDL oxidades) pels MØ és un element clau, ja que incrementa l'expressió d'aquests enzims [14]. Per altra banda, s'ha descrit que la modificació de LDL també pot modular la síntesi de proteoglicans, també components de la MEC. Així, la captació de LDL acetilades incrementa la biosíntesi i la secreció de proteoglicans heparan sulfat i de proteoglicans condroitin sulfat en els MØ [15], fet que afavoriria la retenció de lipoproteïnes en l'íntima arterial.

Paper dels components de la paret vascular en l'aterogènesi

L'organització de la paret vascular és semblant en totes les artèries. La paret sana consta de tres capes concèntriques: l'íntima, la capa més interna, constituïda per una monocapa de cèl·lules endotelials orientades longitudinalment, sota les quals es troba la làmina basal i la MEC; la capa mitja, formada per capes de CML rodejades de MEC; i l'adventícia, la capa més externa, formada per fibroblasts, fibres elàstiques i feixos de col·lagen, a més de petits vasos (*vasa vasorum*) encarregats de nodrir les cèl·lules de la capa mitja. Aquesta capa s'integra en el teixit conjuntiu que acompanya tots els vasos sanguinis. Tot i això, en l'íntima arterial de les lesions ateroscleròtiques, a part de les cèl·lules esmentades, s'hi poden trobar monòcits/MØ, limfòcits T i CML, així com acumulació de

lípid extracel·lular i intracel·lular. Seguidament, s'aprofundirà en els diferents components de la paret.

Lípid. La presència de lípid en la paret arterial no és un element clau únicament en les plaques ateroscleròtiques més vulnerables, sinó que també té una elevada importància en els primers estadis de la lesió (formació de l'estria de greix). Els principals lípids presents en les plaques ateroscleròtiques són el colesterol i els seus èsters, que poden trobar-se com a lípid intracel·lular o extracel·lular. Cal dir, però, que les estries de greix estan formades principalment per cèl·lules escumoses i poca o nul·la presència de lípid extracel·lular, el qual és característic de lesions ateroscleròtiques avançades que presenten un important nucli lipídic envoltat d'una coberta fibrosa [8].

S'han trobat tres tipus de components lipídics extracel·lulars en l'íntima ateroscleròtica arterial [8, 16]: partícules semblants a les LDL plasmàtiques derivades de la retenció i/o modificació de les LDL plasmàtiques que s'acumulen en l'íntima, petites gotes lipídiques derivades de LDL plasmàtiques, que es caracteritzen per tenir una grandària (20-400 nm) inferior al de les gotes intracel·lulars presents en les cèl·lules escumoses (> 400 nm), de les quals també es diferencien per la composició química, i petites vesícules lipídiques de les quals es desconeix l'origen, encara que s'ha proposat que podrien derivar de tres possibles fonts, que són: les lipoproteïnes de molt baixa densitat (VLDL, de l'anglès *very low density lipoproteins*) o de LDL, les vesícules secretades per cèl·lules escumoses, o bé podrien derivar de la mort per necrosi de les cèl·lules escumoses.

Pel que fa a la presència de lípid intracel·lular en l'íntima arterial sana, els lípids procedents de les lipoproteïnes són metabolitzats per les cèl·lules vasculars i no s'acumulen, ja que el contingut de colesterol intracel·lular està altament regulat. Però en les lesions ateroscleròtiques, els mecanismes de regulació del colesterol estan inhibits, i el colesterol i els seus èsters són acumulats intracel·lularment i donen a la cèl·lula un aspecte escumós (microscòpicament), per això que el seu nom és *cèl·lules escumoses*.

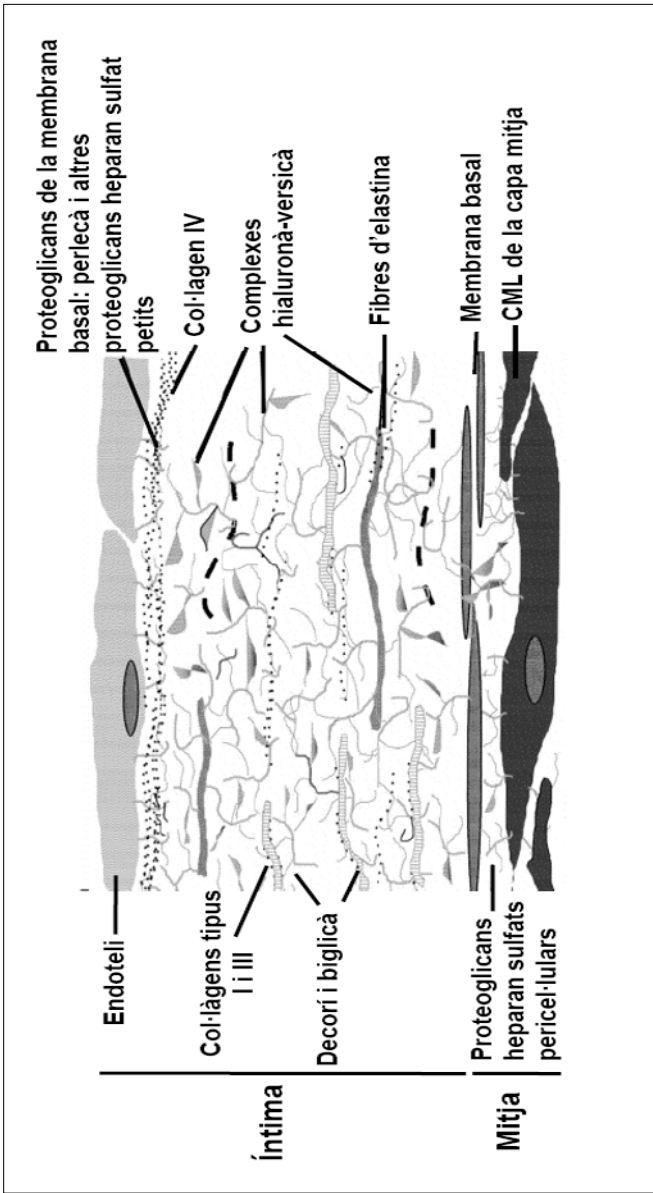


Figura 3. Esquema de l'estructura de la paret vascular. S'indiquen les capes que conformen la paret vascular i es fa èmfasi en els diferents components que conformen la matriu extracel·lular de l'espai subendotelial [17].

Matriu extracel·lular. La MEC és un ampli compartiment constituït per fibres de col·lagen i fibres elàstiques incloses en un gel viscoelàstic (figura 3) [17, 18]. Tots aquests components interactuen entre ells, i s'entrecreuen formant un polímer reticular actiu que confereix a la paret les seves propietats biomecàniques, com la capacitat tensora i compressiva, així com la viscoelasticitat. També presenta la capacitat d'unir lipoproteïnes plasmàtiques, factors de creixement, citocines i altres enzims presents en l'espai intimal que li permeten modular el metabolisme de la paret vascular. Per altre costat, la interacció de la MEC amb les cèl·lules vasculars, la fa participar en el desenvolupament de la placa ateroscleròtica, ja que contribueix a la regulació de l'adhesió, migració i proliferació de les cèl·lules vasculars. Els components majoritaris de la MEC són els proteoglicans i el col·lagen.

La principal font de col·lagen en l'íntima i paret arterial mitja són les CML, tot i que altres tipus cel·lulars, com les cèl·lules endotelials, els fibroblasts o els MØ, també en sintetitzen [12]. S'han descrit dinou tipus de col·làgens, tretze dels quals s'han trobat en la paret vascular o s'expressen en cèl·lules de la paret vascular *in vitro* [18, 19]. A la taula 2 es mostren els més rellevants, així com la seva localització en diferents estructures de la MEC. El col·lagen és essencial per al manteniment de la integritat i l'elasticitat de la paret vascular, però també participa en diverses funcions cel·lulars. Està implicat en processos de diferenciació cel·lular, adhesió, migració, proliferació i apoptosi [12, 19], d'aquí el seu impacte en l'aterogènesi. D'altra banda, els col·làgens poden estar implicats en la retenció de proteïnes plasmàtiques, lipoproteïnes, factors de creixement i calci en les lesions ateroscleròtiques. A més, durant la progressió de la lesió ateroscleròtica s'ha observat un increment en la síntesi de col·lagen en la paret arterial d'animals hipercolesterolèmics, que es localitzen principalment en les regions riques en lípids [12]. Cal esmentar també que la glicosilació dels col·làgens pot ser un dels agents promotors de l'aterogènesi, especialment l'associada a diabetis, ja que afavoreix la retenció de les LDL [12]. Però on juga un paper clau és en les plaques ateroscleròtiques avançades, perquè un increment en

la síntesi de col·lagen en aquestes regions estabilitza les plaques, encara que en redueix la llum vascular. Així, un defecte en la síntesi i/o deposició de col·lagen en les plaques avançades pot evolucionar cap a un debilitament i/o ruptura de la placa.

Els proteoglicans són una àmplia família de molècules hidrofòbiques que també formen part de la MEC [20]. La principal font de proteoglicans en la paret vascular són les CML, encara que les cèl·lules endotelials, els fibroblasts, els mastòcits, els limfòcits i els monòcits també poden sintetitzar-ne. Els proteoglicans són substàncies biològicament molt actives que intervenen en el control de les propietats físiques vasculars —confereixen viscoelasticitat i turgència a l'artèria— i en la permeabilitat i homeostasi de la paret arterial, i intervenen en el metabolisme lipídic i en la trombosi. Però, d'altra banda, interaccionen amb factors de creixement i citocines que els permeten regular l'adhesió, migració, diferenciació i proliferació cel·lular [21]. La distribució dels proteoglicans en la paret arterial és variable, i es localitzen fonamentalment a l'íntima arterial, i en menor grau en la mitja i l'adventícia. En l'íntima arterial els proteoglicans formen part de l'espai pericel·lular —ancorats a la membrana plasmàtica— o bé són secretats i esdevenen el component majoritari de la MEC. Els diferents tipus de proteoglicans presenten localitzacions diferents en les lesions ateroscleròtiques, fet que seria indicatiu que cada tipus de proteoglicà podria tenir un determinat paper biològic en la patogènia de l'aterosclerosi. Així mateix, s'ha observat que durant la progressió de la lesió, l'expressió d'uns proteoglicans es troba augmentada mentre que la d'altres es troba disminuïda [22]. Els proteoglicans heparan sulfat i condroitin sulfat són dos dels tipus de proteoglicans més abundants en la MEC, motiu pel qual ha estat àmpliament estudiada la seva contribució en els processos patològics que tenen lloc en la paret vascular. Els proteoglicans condroitin sulfat són els principals proteoglicans estructurals de la MEC i són considerats importants elements aterogènics, ja que tenen una elevada capacitat per interaccionar, retenir i agregar lipoproteïnes riques en colesterol [10]. L'íntima

normal i les regions propenses a desenvolupar lesió són inicialment riques en grans proteoglicans condroitin sulfat, com el versicà, que presenta una elevada afinitat per les LDL [10, 20].

Recentment hem demostrat que la interacció *in vitro* de les LDL amb versicà induïx la fusió i agregació de les LDL [10]. Les LDL modificades tenen una major avidesa per ser captades pels MØ i les CML, fet que converteix els proteoglicans condroitin sulfat en elements clau en la formació de les cèl·lules escumoses. D'altra banda, els proteoglicans heparan sulfat poden ésser secretats o mantenir-se ancorats a la superfície cel·lular [23, 25], cosa que els diferencia dels proteoglicans condroitin sulfat.

De la mateixa manera que els proteoglicans condroitin sulfat, la concentració dels heparan sulfat en la paret vascular es veu alterada per determinats processos com l'edat, l'aterosclerosi, la inflamació, la presència de nivells aterogènics de nLDL i LDL modificades i la diabetis, que porten a una disminució de la seva síntesi [24]. A diferència dels proteoglicans condroitin sulfat, que tenen gran rellevància en la retenció de LDL en la paret arterial, els proteoglicans heparan sulfat actuen com a molècules dinàmiques que faciliten la unió i el catabolisme de determinats lligands, ja que el fet d'estar ancorats a la membrana cel·lular els permet funcionar com a receptors cel·lulars de factors de creixement, de citocines i d'altres enzims vasculars [25]. També poden modular la interacció de determinats lligands proteics extracel·lulars amb els seus receptors, mitjançant processos anomenats de transferència de lligand a receptors lipoproteics, com és el LRP [25]. Els proteoglicans heparan sulfat poden modular també esdeveniments relacionats amb l'aterogènesi, com el metabolisme lipídic, el reclutament de monòcits, la proliferació de les CML i la trombosi. Així, doncs, la regulació de l'expressió dels proteoglicans heparan sulfat vasculars podria jugar un paper clau en la modulació de l'aterogènesi.

Components cel·lulars. Els principals components cel·lulars que formen part de la paret vascular són les cèl·lules endotelials, les

CML i els MØ. En la paret arterial sana, l'endoteli vascular exerceix de barrera permeable i selectiva a través de la qual s'intercanvien macromolècules amb el plasma, i constitueix una activa superfície antitrombogènica. L'endoteli és un òrgan complex i dinàmic que respon a estímuls ambientals i a substàncies vasoactives, a agents vasoconstrictors com l'angiotensina II i vasodilatadors com l'òxid nítric, a substàncies que també modulen l'estructura i la funció vascular i influeixen en el creixement i/o apoptosi de les CML, a l'adhesió de monòcits i leucòcits i en la trombosi. Haurem de destacar també que l'endoteli juga un paper clau en l'angiogènesi. Determinats estímuls arterials porten a la disfunció endotelial contribuint a la iniciació i progressió de l'aterosclerosi. Entre aquests estímuls es troben la hipertensió, l'activació per citocines i endotoxina bacterial, la infecció per virus, els productes finals de la glicosilació avançada —en diabetis i envelliment—, la hiperhomocisteïnèmia, la hipercolesterolèmia i les LDL modificades, l'estrès mecànic i determinades forces bioquímiques generades pel volum sanguini.

D'altra banda, les VLDL alteren la regulació de la fibrinòlisi que realitza l'endoteli, ja que modifiquen la secreció de l'activador tissular del plasminogen (t-PA) i del seu inhibidor (PAI-1). A més, l'endoteli activat per agents inflamatoris expressa valors més elevats de molècules d'adhesió i de substàncies quimiotàctiques que faciliten la unió i migració de leucòcits circulants. L'endoteli sembla ser també un element rellevant en els processos de formació de nous vasos sanguinis —neoangiogènesi—, que tenen lloc en les plaques ateroscleròtiques avançades. El procés de neovascularització requereix la migració i proliferació de les cèl·lules endotelials a fi de generar nous vasos a l'interior de les lesions. En aquest sentit, estudis recents realitzats pel nostre grup han demostrat que la presència de neovasos en les lesions d'artèries coronàries correlaciona positivament amb àrees vasculars riques en deposició lipídica [26].

Els monòcits/MØ estan implicats en menor o major grau en tots els estadis del desenvolupament de la lesió ateroscleròtica, des de la

gènesi fins a la ruptura de les plaques. Un dels primers esdeveniments que porten a la formació de les lesions ateroscleròtiques és l'adhesió dels monòcits circulants a l'endoteli i la seva migració en l'íntima arterial [2]. L'increment en la unió dels monòcits a l'endoteli és causa de l'augment en les molècules d'adhesió que expressa l'endoteli activat. Els monòcits adherits migren cap a l'íntima atrets per les LDL modificades i per substàncies quimiotàctiques, i es diferencien dels MØ. La presència de MØ a l'íntima arterial contribueix a dos estadis en la formació i progressió del nucli lipídic. L'elevada capacitat que presenten els MØ per internalitzar LDL modificades —mitjançant els receptors *scavenger*— porta a la formació i acumulació de cèl·lules escumoses en la paret del vas. Però l'acumulació lipídica intracel·lular en els MØ és limitada, fet que a llarg termini desencadena la seva mort que contribueix al nucli lipídic acel·lular.

L'aterosclerosi també ha estat considerada un procés inflamatori crònic [27]. En aquesta línia, els MØ són els principals mediadors de la inflamació en l'aterogènesi, ja que participen en les respostes immunitàries locals que es donen en el procés ateroscleròtic. A més a més, els MØ contribueixen a la inestabilitat i ruptura de les plaques ateroscleròtiques avançades, perquè són responsables de la secreció d'enzims capaços de degradar el teixit connectiu que conforma la coberta fibrosa que recobreix el nucli lipídic.

Les CML són el component cel·lular majoritari de la paret vascular sana, de les lesions inicials i també de la neoíntima de les plaques restenòtiques. Constitueixen l'únic tipus cel·lular en la capa mitja de la paret vascular sana. Així, en la paret arterial sana o en lesions inicials, les CML representen un 90-95% del component cel·lular, percentatge que decau fins a un 50% en les plaques ateroscleròtiques avançades [28]. En les artèries sanes les CML presenten un «fenotip contràctil» caracteritzat per respondre a agents agonistes que produeixen la vasoconstricció o la vasodilatació del vas i es caracteritzen per donar suport estructural a les artèries. A més, les CML amb fenotip contràctil presenten un baix índex proliferatiu i una reduïda capacitat secretora de matriu extracel·lular. Però

durant l'aterogènesi les CML de la capa mitja són activades i pateixen una transformació fenotípica [2]. Així, les CML de fenotip contràctil no proliferatiu es transformen en cèl·lules que proliferen activament (fenotip sintètic), que migren atretes per agents quimio-tàctics i que tenen incrementada la síntesi de MEC [29]. Aquest fet actualment qüestiona la rellevància de la proliferació de les CML en l'aterosclerosi espontània i fa especular sobre el possible paper protector que exerceixen, sobretot per la seva capacitat de sintetitzar les proteïnes de la MEC que conformen la coberta fibrosa de les plaques.

La implicació de les CML en diversos aspectes clínics rellevants en la malaltia coronària arterial ha estat àmpliament estudiada. S'ha descrit que les CML intervenen tant en la iniciació com en la progressió de les lesions ateroscleròtiques. En resposta a múltiples estímuls, les CML de la túnica mitja són activades, cosa que afavoreix els processos de migració i proliferació cel·lulars, processos que tenen lloc des dels estadis inicials de l'aterogènesi. Durant la progressió de la lesió ateroscleròtica, les CML internalitzen lipoproteïnes retingudes en l'íntima arterial i es transformen en cèl·lules escumoses que s'acumulen, i contribueixen així a augmentar el nucli lipídic i la progressió de les plaques ateroscleròtiques que, a llarg termini, redueixen la llum vascular i les conseqüents complicacions isquèmiques. Però les CML juguen també un paper significatiu en l'estabilitat de les plaques ateroscleròtiques avançades. La predisposició de les plaques a la ruptura depèn fonamentalment de la seva composició cel·lular. Així, en les plaques amb un alt contingut en CML, aquestes cèl·lules semblen exercir un paper protector enfront de la trombosi i, per tant, aquestes plaques seran més estables; en canvi, les plaques avançades amb una càrrega inflammatòria important són més susceptibles a la ruptura, ja que les cèl·lules inflammatòries són font de citocines que poden induir el procés apoptòtic en les CML, o poden inhibir-los la proliferació i la seva producció de col·lagen, fet que perjudica la formació de la coberta fibrosa i contribueix a la ruptura de la placa.

Tot i que durant la progressió de la lesió ateroscleròtica s'observa una davallada en el contingut de CML, estudis recents realitzats pel nostre grup han evidenciat que l'acumulació lipídica intracel·lular per si mateixa no és la responsable de la mort per apoptosi de les CML [28]. Les CML contribueixen també a la reorganització de les plaques després de la seva ruptura, ja sigui espontània o com a resultat de la seva erosió. La formació del trombe fomenta la migració i proliferació de les CML i la síntesi de MEC. Així, es dona la reorganització del trombe per la proliferació de CML, de la deposició de MEC i de la neovascularització resultant amb l'estabilització de la lesió trombogènica. Cal dir, però, que aquest procés de reparació desencadena un ràpid episodi d'expansió de la placa ateroscleròtica. La reorganització de la placa que es produeix després d'un procés trombòtic és semblant al que té lloc després d'una intervenció de revascularització (angioplàstia/estent), processos que desencadenen hiperplàsia neointimal i el remodelat vascular que condueixen a la restenosi. Podríem dir, doncs, que les CML tenen un paper fonamental en les respostes de regeneració de la paret vascular associades als diferents estadis de la progressió de l'aterogènesi.

Receptors lipoproteics

La captació de LDL natives pel seu receptor està regulada a la baixa pels nivells intracel·lulars de colesterol, dades que suggereixen que podrien estar implicada(es) una(es) altra(es) via(es) d'internalització de colesterol independent/s del receptor de les LDL (LDLr) en la formació de cèl·lules escumoses. S'han identificat diferents receptors cel·lulars que podrien estar involucrats en la captació de LDL modificades i la conseqüent transformació de les cèl·lules vasculars en cèl·lules escumoses, entre els quals es troben els receptors *scavenger*, el receptor de les VLDL (VLDLr) i el receptor LRP (proteïna relacionada amb el receptor de les LDL) [10, 25, 30, 31]. Aquests receptors, a diferència del LDLr, estan altament expressats en les lesions ateroscleròtiques. El LDLr i el VLDLr són receptors

amb una especificitat de lligand elevada. El LDLr internalitza LDL natives i LDL modificades per proteoglicans, i el VLDLr internalitza VLDL i b-VLDL, mentre que el receptor LRP i els receptors *scavenger* internalitzen una gran varietat de lligands [10, 25, 32].

Existeixen diferències significatives pel que fa a l'expressió d'aquests receptors en els diferents tipus de cèl·lules vasculars. Així, els receptors *scavenger* es troben altament expressats en els MØ, mentre que és necessari estimular les CML per obtenir-ne uns nivells detectables [33]. Per contra, com demostren estudis recents realitzats pel nostre grup, el receptor LRP es troba altament expressat en les CML [34].

LRP: proteïna relacionada amb el receptor de les LDL. El LRP, també anomenat *receptor de l' α_2 -macroglobulina*, és un receptor endocític multifuncional que pertany a la família del gen del LDLr. Rep el nom de proteïna relacionada amb el LDLr per causa de l'estreta similitud estructural i bioquímica que presenta amb aquest receptor. A diferència de la resta de receptors de la mateixa família, el LRP es caracteritza per no tenir una especificitat de lligand restringida. El LRP internalitza una gran quantitat de lligands amb estructures i característiques diverses [10, 25, 34]. La gran varietat de lligands del LRP evidencia la multitud de processos fisiològics i patològics amb els quals pot intervenir. Així, la internalització d'apolipoproteïnes i lipases fa que el LRP jugui un paper significatiu en el metabolisme lipídic.

D'altra banda, el LRP internalitza proteases i els complexos d'aquestes amb els seus inhibidors, proteïnes implicades en el sistema fibrinolític que controlen processos tan importants com la migració cel·lular. La unió del LRP al complex TF-TFPI fa que tingui gran rellevància en els processos trombogènics. El LRP, en unir la trombospondina, permet la regulació de processos d'agregació plaquetària, d'adhesió i creixement cel·lular, i l'angiogènesi.

S'ha observat que el LRP s'expressa en CML i en MØ presents en les lesions ateroscleròtiques humanes [35], cèl·lules de les quals deriven les cèl·lules escumoses presents en les plaques d'ateroma.

De fet, s'ha descrit que el LRP està altament expressat tant en les lesions ateroscleròtiques com en els vasos sans, encara que la seva expressió es veu incrementada amb la progressió de la lesió ateroscleròtica, durant la qual també es troba augmentada la deposició lipídica [28, 35]. Estudis recents realitzats pel nostre grup han evidenciat que l'expressió del LRP es troba incrementada en la paret vascular d'animals amb hipercolesterolèmia, i que l'acumulació lipídica intracel·lular (en CML) indueix una forta regulació a l'alça en l'expressió del LRP en les CML [36]. Altres estudis *in vivo* han demostrat també que dietes riques en colesterol produeixen un increment en els nivells de mRNA del LRP en cèl·lules mononuclears sanguínies [37]. Per tant, el LRP podria tenir un paper clau en el desenvolupament del procés ateroscleròtic.

Receptors *scavenger*. Els receptors *scavenger* (SR) són una família de glicoproteïnes de membrana capaces d'unir lipoproteïnes modificades [38]. La família de SR està constituïda per proteïnes transmembrana multidomini que se subclassifiquen en 6 subgrups (SR-A, SR-B, SR-C, SR-D, SR-E i SR-F) segons la seva estructura terciària [32]. Una de les característiques dels receptors SR és la seva elevada afinitat per una gran diversitat de lligands (taula 5) [32]. Cal dir que la major part de lligands que internalitzen són molècules polianióniques, la càrrega negativa de les quals permet la unió de les partícules al SR [32]. En la taula 5 es mostren alguns (no tots) dels lligands més coneguts per diversos SR. La majoria de lligands dels SR són proteïnes, poliribonucleòtids, polisacàrids i lípids [32]. Però els SR també poden reconèixer agents patògens com bacteris grampositius i gramnegatius.

Els SR-A s'han descrit com a receptors propis de MØ, malgrat que alguns estudis han evidenciat que les CML expressen nivells significatius de SR-A únicament quan són estimulades amb èsters de forbol o citocines [33]. Els SR-A es troben altament expressats en les lesions ateroscleròtiques [39] i juguen un paper clau en els processos de formació de cèl·lules escumoses, ja que internalitzen

LDL modificades retingudes en la paret vascular i faciliten així l'acumulació lipídica intracel·lular en els MØ i la conseqüent transformació en cèl·lules escumoses. Per tant, la modificació dels nivells d'expressió dels SR-A pot influir en l'evolució del procés ateroescleròtic.

S'ha observat que els SR-B estan altament expressats en les lesions ateroescleròtiques [39]. Concretament, el CD36 s'expressa en gran nombre de tipus cel·lulars, entre ells en monòcits/MØ, en cèl·lules endotelials i en les plaquetes, i estan implicats en la internalització de lipoproteïnes, com les LDL oxidades que indueixen acumulació de colesterol intracel·lular en el MØ i, per tant, la seva transformació en cèl·lula escumosa [32, 40, 41]. Estudis *in vitro* en MØ en cultiu posaren de manifest que l'exposició dels MØ a LDL oxidades indueix l'expressió dels CD36 a nivell de mRNA i de proteïna [42]. Els SR-BI s'expressen fonamentalment en monòcits/MØ però també en cèl·lules endotelials i CML, tanmateix no està clara la seva contribució en el metabolisme lipídic en la paret vascular [43]. Els SR-BI tenen capacitat d'internalitzar, per endocitosi, LDL modificades com la resta de SR, però a diferència d'aquests, els SR-BI també són capaços d'internalitzar les lipoproteïnes d'alta densitat (HDL, de l'anglès *high-density lipoproteins*), fet que els converteix en elements fonamentals en el procés de transport revers de colesterol i, per tant, en la funció ateroprotectora de les HDL. Així, la regulació a l'alça del SR-BI en cèl·lules endotelials i en CML podria incrementar la captació selectiva de colesterol esterificat i, per tant, afavorir la retirada de colesterol. Però, d'altra banda, una regulació a la baixa podria reduir el flux de colesterol en la paret vascular. El fet que els SR-BI s'expressin en gran varietat de teixit, i que estiguin implicats en el transport revers de colesterol, ha fet que es proposi com a possible diana terapèutica en estratègies antiateroescleròtiques [43].

Paper ateroprotector de les HDL

Estudis epidemiològics i d'experimentació amb animals han posat de manifest el paper ateroprotector de les HDL vers el desenvolupa-

ment i la progressió de la patologia coronària arterial [44, 47]. Tot i les evidències del paper protector de les HDL, actualment encara es desconeix el mecanisme exacte mitjançant el qual les HDL exerceixen l'efecte beneficiós en la prevenció de la patologia ateroscleròtica.

Està altament acceptat que el principal efecte ateroprotector que produeixen les HDL és per causa del seu paper com a acceptor de colesterol en el procés anomenat *transport revers de colesterol* [45, 49]. Aquest mecanisme facilita l'eliminació de l'excés de colesterol des dels teixits perifèrics cap al fetge, d'on és secretat a la bilis o reutilitzat per a la síntesi de noves lipoproteïnes. No es poden descartar, però, altres propietats de les HDL que les relacionen amb una reducció del risc cardiovascular i que constitueixen també possibles dianes terapèutiques. Les HDL poden tenir efectes antiinflamatoris sobre les cèl·lules vasculars, per la seva capacitat indirecta d'inhibir l'oxidació de les LDL [46]. Les propietats antioxidants associades a l'apolipoproteïna E (Apo E) i l'apolipoproteïna A-I (Apo A-I) de les HDL, i l'activitat dels enzims paraoxonasa i acetilhidroxilasa del factor activador de plaquetes [47], permeten reduir l'oxidació de les LDL, i l'activitat d'aquests enzims facilita la degradació dels lípids oxidats de les LDL i n'impedeix l'acumulació en la paret vascular. D'altra banda, les HDL prevenen la disfunció endotelial, ja que inhibeixen l'expressió de molècules d'adhesió endotelial [47] i, conseqüentment, inhibeixen la migració subendotelial dels monòcits; inhibeixen l'apoptosi, l'activació plaquetària i l'activació del factor X de la coagulació. A més, les HDL estimulen la proliferació de les cèl·lules endotelials i de les CML i la síntesi de molècules antiaterogèniques vasodilatadores endògenes com ara l'òxid nítric i la prostaciclina (PGI₂), que és també un inhibidor de l'agregació plaquetària i contribueix a reparar la tromboresistència de les artèries danyades [48]. Aquests fets posen de manifest la rellevància del paper de les HDL com a element ateroprotector, no només com a reguladors del transport revers de colesterol.

S'ha descrit que uns nivells baixos de colesterol HDL (cHDL) són un factor independent de risc cardiovascular i s'han definit com el

millor marcador lipídic de malaltia cardiovascular en poblacions occidentals. De manera universal, s'han acceptat mesures dirigides a modificar l'estil de vida que influeixen eficientment en la modificació dels nivells de cHDL, com la restricció calòrica per tal de disminuir l'obesitat i assolir el pes ideal, practicar exercici físic aeròbic regularment, eliminar el consum de tabac i consumir una dieta mediterrània. Pel que fa a la intervenció farmacològica, la major part d'esforços es concentren en aconseguir una reducció del colesterol LDL més que a augmentar el cHDL. Tot i això, diversos estudis s'han centrat en la cerca de nous fàrmacs que actuïn sobre dianes terapèutiques que permetin modificar els nivells i la funcionalitat de les HDL [47]. En aquest sentit, les evidències clíniques actuals han posat de manifest que els derivats de l'àcid fíbric (fibrats: gemfibrozil, fenofibrat i bezafibrat) són la millor teràpia farmacològica que es coneix per tal d'augmentar els nivells de cHDL [49].

Una altra estratègia terapèutica que s'aplica actualment en relació als efectes beneficiosos de les HDL és el tractament amb Apo A-I (Milano). L'Apo A-I (Milano) recombinant emprada en teràpia és una variant de l'Apo A-I de les HDL, que es caracteritza per presentar una elevada permanència en el plasma i una major efectivitat per mobilitzar el colesterol de la paret vascular [50]. Actualment són diversos els estudis clínics i d'experimentació amb animals que han posat de manifest que l'administració d'Apo A-I (Milano) augmenta de manera significativa els nivells de cHDL i redueix els nivells de cLDL, però especialment té un efecte en la reducció de la mida de la lesió ateroscleròtica, amb la consegüent regressió de la patologia cardiovascular [50]. Tot i això, queda molt per fer a fi d'analitzar si aquest tractament podrà reduir a llarg termini la morbiditat i mortalitat que s'associen a la patologia vascular.

Agraïments. Aquest treball i el projecte original descrit ha estat possible gràcies al continuat ajut del Plan Nacional de Salud-Biomedicina (MEC), Fondo de Investigaciones Sanitarias (Ministeri de Sanitat), Merck Sharp and Dohme-Spain (Unrestricted Cardiovascular Grant) i la Fundació d'Investigació Cardiovascular-

Catalana Occident. M. Otero-Viñas és beneficiària d'una beca DURSI (2003) de la Generalitat de Catalunya.

Bibliografia

1. Ardans JA, et al. (2002) Oxidized low-density and high-density lipoproteins regulate the production of matrix metalloproteinase 1 and 9 by activated monocytes. *J Leukoc Biol* 71:1012-1008.
2. Badimon L, Chesebro JH, Badimon JJ (1992) Thrombus formation on ruptured atherosclerotic plaques and rethrombosis on evolving thrombi. *Circulation* 86 (SuplIII):74-85.
3. Barnes MJ, Farndale RW (1999) Collagens and atherosclerosis. *Exp Gerontol* 34:513-525.
4. Bihari-Varga M (1998) Proteoglycan-lipoprotein interactions. Ed: Jacotot B, Mathè D, Fruchart CC. Elsevier Science Pte Ltd *Atherosclerosis* XI 307-310.
5. Boucher P, et al. (1998) Effect of dietary cholesterol on low density lipoprotein receptor, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase and low density lipoprotein receptor-related protein mRNA expression in healthy humans. *Lipids* 33:1177-1186.
6. Camejo G, et al. (1998) Association of apoB lipoproteins with arterial proteoglycans: pathological significance and molecular basis. *Atherosclerosis* 139:205-222.
7. Cherchi GM, et al. (1990) Structural and functional modifications of human aorta proteoglycans in atherosclerosis. *Matrix* 10:362-372.
8. Chiesa G, Sirtori CR (2003) Recombinant apolipoprotein A-I (Milano): a novel agent for the induction of regression of atherosclerotic plaques. *Ann Med* 35:267-273.
9. Febbraio M, Hajjar DP, Silverstein RL (2001) CD36: a class B scavenger receptor involved in angiogenesis, atherosclerosis, inflammation, and lipid metabolism. *J Clin Invest* 108:785-791.
10. Freeman MW (1994) Macrophage scavenger receptors. *Curr Opin Lipid* 5:143-148.
11. Ghiselli G, Lindahl U, Salmivirta M. (1998) Foam cell conversion of macrophages alters the biosynthesis of heparan sulfate. *Biochem Biophys Res Commun* 247:790-795.
12. Goldberg IJ, et al. (1998) Lipoprotein association with cells and matrix: modulation by lipase and proteoglycans. *Atherosclerosis* XI 1998. International Congress Series 1155.

13. Goldstein JL, et al. (1979): Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. *Proc Natl Acad Sci USA* 76:333-337.
14. Gong Q, Pitas RE (1995) Synergistic effects of growth factors on the regulation of smooth muscle cell scavenger receptor activity. *J Biol Chem* 270:21672-21678.
15. Gotto AM, Brininton EA (2004) Assessing low levels of high-density lipoprotein cholesterol as a risk factor in coronary heart disease. *JACC* 43:717-724.
16. Greaves DR, Gough PJ, Gordon S (1998) Recent progress in defining the role of scavenger receptors in lipid transport, atherosclerosis and host defence. *Curr Opin Lipidol* 9:425-432.
17. Guyton JR, Klemp KF (1996) Development of the lipid-rich core in human atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 16:4-11.
18. Han J, et al. (1997) Native and modified low density lipoproteins increase the functional expression of the macrophage class B scavenger receptor, CD36. *J Biol Chem* 272:21654-21659.
19. Hiltunen TP, et al. (1998) Expression of LDL receptor, VLDL receptor, LDL receptor-related protein, and scavenger receptor in rabbit atherosclerotic lesions: marked induction of scavenger receptor and VLDL receptor expression during lesion development. *Circulation* 97:1079-1086.
20. Iozzo RV (1999) The biology of the small leucine-rich proteoglycans. Functional network of interactive proteins. *J Biol Chem* 274:18843-18846.
21. Jerome WG, Yancey PG (2003) The role of microscopy in understanding atherosclerotic lysosomal lipid metabolism. *Microsc Microanal* 9:54-67.
22. Juan-Babot JO, et al. (2003) Neovascularización en arterias coronarias humanas con distintos grados de lesión. *Rev Esp Cardiol* 56:978-986.
23. Kullo IJ, Edwards ED, Schwartz RS (1998) Vulnerable plaque: pathobiology and clinical implications. *Ann Intern Med* 129:1050-1060.
24. Libby P, et al. (1996) Macrophages and atherosclerotic plaque stability. *Curr Opin Lipidol* 7:330-335.
25. Libby P, Aikawa M (1998) New insights into plaque stabilisation by lipid lowering. *Drugs* 56 (Suppl1):9-13.
26. Libby P (2002) Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 420:868-874.
27. Llorente-Cortés V, Martínez-González J, Badimon L (2000) LDL receptor-related protein mediates uptake of aggregated LDL in human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20:1572-1579.
28. Llorente-Cortés V, et al. (2002) Human coronary smooth muscle cells internalize versican-modified LDL through LDL receptor-related protein and LDL receptors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 22:387-393.

29. Llorente-Cortés V, Otero-Viñas M, Badimon L (2002) Differential role of heparan sulfate proteoglycans on aggregated LDL uptake in human vascular smooth muscle cells and mouse embryonic fibroblasts. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 22:1905-1911.
30. Llorente-Cortés V, et al. (2002) Low-density lipoprotein upregulates low-density lipoprotein receptor-related protein expression in vascular smooth muscle cells. Possible involvement of sterol regulatory element binding protein-2-dependent mechanism. *Circulation* 106:3104-3110.
31. Llorente-Cortés V, et al. (2004) Intracellular lipid accumulation, Low density lipoprotein receptor-related protein expression, and cell survival in vascular smooth muscle cells derived from normal and atherosclerotic human coronaries. *Eur J Clin Invest* 34:182-190.
32. Luoma J, et al. (1994) Expression of α_2 -macroglobulin receptor/low density lipoprotein receptor-related protein and scavenger receptor in human atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 93:2014-2021.
33. Nicholson AC (2004) Expression of CD36 in macrophages and atherosclerosis. The role of lipid regulation of PPAR γ signaling. *Trends Cardiovasc Med* 14:8-12.
34. Örne K, et al. (2000) Aggregation, fusion, and vesicle formation of modified low density lipoprotein particles: molecular mechanisms and effects on matrix interactions. *J Lipid Res* 41:1703-1714.
35. Peiser L, Gordon S (2001) The function of scavenger receptors expressed by macrophages and their role in the regulation of inflammation. *Microbes Infection* 3:149-159.
36. Proctor SD, Vine DF, Mamo JCL (2002) Arterial retention of apolipoprotein B₄₈- and B₁₀₀-containing lipoproteins in atherogenesis. *Curr Opin Lipidol* 13:461-470.
37. Rader DJ (2003) Regulation of reverse cholesterol transport and clinical implications. *Am J Cardiol* 92 (suppl):42-49.
38. Rekhater MD (1999) Collagen synthesis in atherosclerosis: too much and not enough. *Cardiovasc Res* 41:376-384.
39. Rhoads D, Brissette L (2004) The role of scavenger receptor class B type I (SR-BI) in lipid trafficking. Defining the rules for lipid traders. *Inter J Biochem Cell Biol* 36:39-77.
40. Rong JX, Fisher EA (2000) High-density lipoprotein: gene-based approaches to the prevention of atherosclerosis. *Ann Med* 32:642-651.
41. Ross R (1999) Atherosclerosis—an inflammatory disease. *New England J Med* 340:115-126.

42. Ross R (1993) The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 362:801-808.
43. Skalén K, et al. (2002) Subendothelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis. *Nature* 417:750-754.
44. Stein O, Stein Y (1999) Atheroprotective mechanisms of HDL. *Atherosclerosis* 144:285-301.
45. Thyberg J (1996) Differentiated properties and proliferation of arterial smooth muscle cells in culture. *Int Rev Cyt* 169:183-265.
46. Viles-Gonzalez JF, et al. (2003) Emerging importance of HDL cholesterol in developing high-risk coronary plaques in acute coronary syndromes. *Curr Opin Cardiol* 18:286-294.
47. Viñals M, Martínez-González J, Badimon L (1997) HDL-induced prostacyclin release in smooth muscle cells is dependent on cyclooxygenase-2 (Cox-2). *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:3481-3488.
48. Wight TN, Kinsella MG, Qwarnström X (1992) The role of proteoglycans in cell adhesion, migration and proliferation. *Curr Opin Cell Biol* 4:793-801.
49. Wight TN (1996) The vascular extracellular matrix. In: Fuster V, Ross R, Topol E (eds.) *Atherosclerosis and coronary artery disease*. Philadelphia: Lippincott-Raven 1:421-440.
50. Winther MPJ, et al. (2000) Macrophage scavenger receptor class A. A multi-functional receptor in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20:290-297.