

Bases celulares y moleculares de la acumulación de colesterol en la pared vascular y su contribución a la progresión de la lesión aterosclerótica

Vicenta Llorente y Lina Badimon

Centro de Investigación Cardiovascular. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Universidad Autónoma de Barcelona.

arteriosclerosis/ aterogénesis/ biología molecular/ colesterol HDL/ colesterol LDL/ endotelio vascular/ macrófagos/ mastocito/ metabolismo lipídico

La rotura de la placa arteriosclerótica depende principalmente de su composición. Las placas más vulnerables son las que contienen un núcleo lipídico importante. Este núcleo se compone de lípido extracelular que proviene de la retención y modificación de lipoproteínas plasmáticas y/o de la necrosis de células espumosas. Las células espumosas pueden derivar de monocitos/macrófagos y especialmente en placas avanzadas también de células musculares lisas. Se han identificado diferentes receptores celulares que podrían estar involucrados en la transformación en células espumosas; receptores basureros o *scavenger*, receptores de VLDL y receptores de alfa-2-macroglobulina entre otros. El colesterol que se capta por estos receptores se transforma por medio de la enzima acylCoA (acil-colesterolaciltransferasa) en colesterol esterificado, indicador de formación de célula espumosa. La lipoproteína HDL permite la liberación del colesterol libre desde la membrana plasmática favoreciendo la regresión de la lesión arteriosclerótica.

CELLULAR AND MOLECULAR BASIS OF CHOLESTEROL ACCUMULATION IN THE ARTERIAL WALL. CONTRIBUTION TO THE PROGRESSION OF ATHEROSCLEROTIC LESIONS

The rupture of atherosclerotic plaques depends mainly on their composition. Vulnerable plaques are those that contain a large lipidic core, which derives either from the retention and modification of LDL and/or from necrosis of foam cells. Most foam cells derive from monocyte/macrophages. Although some of them, especially in advanced plaques, derive from smooth muscle cells. Different receptors involved in the process of foam cell formation have been identified: e.g., scavenger receptors, VLDL receptors and α_2 -macroglobulin/low density lipoprotein receptor-related proteins. The LDL derived cholesterol collected by these receptors is transformed through the enzyme acyl CoA cholesterol acyl transferase (ACAT) in esterified cholesterol, the hallmark of foam cell formation. High density lipoprotein (HDL) allows the release of free cholesterol from the plasmatic membrane inducing the regression of atherosclerotic lesions.

(*Rev Esp Cardiol* 1998; 51: 633-641)

Este trabajo ha sido realizado gracias a ayudas del FIS 95/0917, SAF 94-0712, BMS/CDTI 96-0035 y Fundación de Investigación Cardiovascular-Catalana Occidente.

Correspondencia: Profra. L. Badimon.
Departamento de Patología Molecular y Terapéutica. IIBB.
Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
Jordi Girona, 18-26. 08034 Barcelona.

Correo electrónico: lbmucv@cid.csic.es

INTRODUCCIÓN

La aterosclerosis es una enfermedad de la capa íntima de las arterias de mediano y gran calibre caracterizada por proliferación de células musculares lisas (CMLV) y depósito de lípidos que conforman placas visibles. Las regiones arteriales más susceptibles de sufrir aterosclerosis son aquellas que presentan una retención incrementada de lipoproteínas aterogénicas como LDL, Lp(a) y lipoproteínas ricas en triglicéridos.

dos^{1,2}. Se ha observado que la evolución de las placas hacia procesos trombóticos depende más de la composición de la placa (tipo de placa) que del grado de estenosis (tamaño de la placa)³. Las placas con propensión a inducir trombosis (placas vulnerables) contienen un núcleo lipídico importante y una cubierta fibrosa muy fina. El núcleo lipídico se compone de lípido extracelular, que deriva de la retención de LDL, y lípido situado intracelularmente en macrófagos y CMLV, pero no se conoce exactamente qué contribución tiene el lípido extracelular frente al lípido que proviene de la necrosis celular en este proceso. Estas placas vulnerables contienen también una elevada cantidad de células inflamatorias que liberan citocinas activando las CMLV². Las CMLV activadas, así como las células inflamatorias, producen metaloproteinasas, como estromielisina y colagenasa intersticial, que degradan la matriz de la cubierta fibrosa, dando lugar a la rotura de la placa^{4,5}. Los linfocitos T estimulan este proceso al secretar interferón- γ que inhibe la producción de colágeno por CMLV y conduce a la apoptosis de estas células³. La mayoría de episodios que se producen con rotura de placa no causan síntomas clínicos, presumiblemente debido a que la placa expuesta es menos trombogénica que las que dan lugar a los síntomas coronarios agudos⁶. Algunos de los factores responsables del incremento de potencial aterogénico de la placa después de su rotura son el contenido de factor tisular (FT) en la placa expuesta y el número de células espumosas derivadas de macrófagos que producen FT^{7,8}. Las placas que evolucionan hacia procesos trombóticos contienen un núcleo lipídico que ocupa más del 40% del área transversal de la placa⁹. Además de facilitar la rotura de la placa, un elevado contenido de colesterol de LDL y colesterol total puede incrementar la activación y la agregación plaquetarias, facilitando la unión de fibrinógeno. En conejos hipercolesterolémicos, la deposición plaquetaria en aorta desendotelizada está muy pronunciada^{10,11}.

Aunque la región conocida como núcleo lipídico se reconoce más fácilmente en las placas más avanzadas, se origina en las capas más profundas de la íntima en los estadios iniciales de la aterosclerosis¹². El núcleo inicial se formaría por la acumulación de vesículas lipídicas ricas en colesterol libre. Durante el desarrollo del núcleo lipídico, también se observan depósitos lipídicos intracelulares que dan a las células la apariencia de espumosas (*foam cells*). La acumulación lipídica extracelular puede producirse directamente por la acumulación de LDL (en su mayor parte modificada) o bien a posteriori por la muerte de las células espumosas.

ACUMULACIÓN LIPÍDICA EXTRACELULAR

Las lipoproteínas plasmáticas, especialmente LDL, son la fuente de colesterol que se acumula en la pared

TABLA 1
Modificaciones de la LDL en la íntima arterial

Sin intervención celular
Glicosilación no enzimática
Oxidación
Agregación
Con intervención celular
Células musculares lisas
Asociación con proteoglicanos
Incremento en el tiempo de retención
Modificación por enzimas proteolíticas
Procesos de oxidación y agregación
Macrófagos
Procesos oxidativos

arterial. Las lipoproteínas atraviesan el endotelio por un proceso de transcitosis no mediado por receptor. Se cree que la retención selectiva de lipoproteínas determina no sólo la concentración sino también probablemente la susceptibilidad de éstas a ser modificadas (oxidadas). Determinadas lipoproteínas como la Lp(a) pueden ser particularmente aterogénicas como resultado de su retención incrementada en la pared arterial. La LDL retenida sufre modificaciones químicas y estructurales dando lugar a partículas de LDL agregadas, oxidadas, liposomas ricos en colesterol no esterificado y gránulos de ceroide-lipofucsina (tabla 1).

Retención y agregación de lipoproteínas

No se conocen con exactitud los mecanismos que dan lugar a la retención de lipoproteínas, pero el tejido conectivo (colágeno, elastina, glicosaminoglicanos y proteoglicanos) sintetizado por CMLV parece desempeñar un papel muy importante¹³. La LDL que ha interactuado con los glicosaminoglicanos cuando se disocia presenta numerosas modificaciones estructurales, como exposición de residuos de lisina anteriormente no expuestos que dan lugar a mayor susceptibilidad a proteólisis y también a oxidación¹⁴. También se ha demostrado que la lipoproteinlipasa forma puentes entre LDL y ciertos glicosaminoglicanos como el heparán sulfato facilitando la retención de la LDL e impidiendo su salida de la vasculatura¹⁵. La esfingomielinasa también incrementaría la asociación de LDL con glicosaminoglicanos mediada por lipoproteinlipasa¹⁶. Gran parte de la LDL asociada a proteoglicanos en las lesiones fibrolipídicas se encuentra en forma agregada y al analizar estos agregados se ha visto que se componen de LDL intacta en cuanto a apoB y composición lipídica. Los agregados están organizados en gotitas lipídicas que se componen de lípido neutro, colesterol libre y fosfolípidos. Estas gotitas presentan un diámetro similar al encontrado en la LDL que ha sido sometida a procesos de agregación como vorteados o almacenamiento prolongado (30-400 nm)^{17,18}. Estos hallazgos dieron lugar a la teoría

de que el núcleo lipídico hallado en las lesiones ateroscleróticas podría formarse sin intervención celular (hipótesis de la deposición extracelular de lípido en la aterosclerosis)¹⁹. Otros resultados apoyan esta teoría como son que los ácidos grasos del colesterol esterificado encontrado en el núcleo lipídico de la placa fibrosa son similares a los encontrados formando parte de las LDL plasmáticas. Queda sin embargo por desvelar qué estímulos dan origen a la agregación de la LDL en la pared vascular. Se sabe que la LDL oxidada por mieloperoxidasa, así como el hipoclorito generado por la actuación de esta enzima, inducen la agregación de LDL^{20,21}. La esfingomielinasa también puede dar lugar a la agregación de LDL in vivo²².

Oxidación de la LDL

Diferentes mecanismos podrían conducir a la oxidación de la LDL. Uno de ellos sería por medio de la enzima mieloperoxidasa que se expresa en los macrófagos presentes en las lesiones ateroscleróticas²³. Otro sería la glicosilación, ya que la glucosa promovería la oxidación acelerada de la LDL^{24,25}. La mayor parte de las partículas de LDL aisladas de lesiones humanas son mínimamente oxidadas, y presentan muchas propiedades aterogénicas, entre ellas el reclutamiento de monocitos en sitios específicos de la pared arterial y su diferenciación en macrófagos. Recientemente, se ha descrito que el componente biológicamente activo en la LDL mínimamente oxidada posee las mismas características que el factor activador de plaquetas (FAP)²⁶. La oxidación de las LDL mínimamente oxidadas hasta una forma reconocida por los receptores basureros (*scavenger*) de los macrófagos es un paso regulador de la formación de células espumosas. El grado de oxidación de la LDL resultaría del balance entre las propiedades oxidantes y las antioxidantes de la pared arterial. El óxido nítrico producido básicamente por las células endoteliales desempeña un papel muy importante en el mantenimiento del tono vascular y puede suprimir la oxidación de lipoproteínas. En las arterias normales existe suficiente óxido nítrico como para impedir la oxidación lipoproteica. En condiciones de hipercolesterolemia o en las lesiones ateroscleróticas, la síntesis de óxido nítrico es normal o incluso elevada, pero una proporción muy importante de este óxido nítrico puede ser consumido por un exceso de radicales superóxido. A su vez, la LDL oxidada puede disminuir las concentraciones de óxido nítrico, existiendo menos óxido nítrico para proteger la LDL que entra en la pared²⁷.

Interacción de lipoproteínas con mastocitos

Los mastocitos inducen la conversión de lipoproteínas en formas reconocibles por los macrófagos por diferentes mecanismos. Éstos incluyen la unión de LDL a los gránulos secretados por los mastocitos y su cap-

TABLA 2
Expresión de los receptores de lipoproteína en células arteriales

	<i>Scavenger</i>	MR/LRP	LDL	VLDL
Muscular	+*	+++	+*	+
Macrófago	++	+*	+	+
Endotelial	+	-	+	++

*Células estimuladas con factores de crecimiento.

tación por macrófagos y CMLV por vía de la fagocitosis^{28,29}. Los mastocitos también liberan enzimas proteolíticas que pueden actuar sobre la HDL reduciendo su capacidad de promover el eflujo de colesterol desde los macrófagos³⁰. Diferentes estudios indican que estos mastocitos, la mayoría degranulados, tendrían importancia en las placas arterioscleróticas, ya que se encontrarían en la misma proporción que las células T³¹.

Formación de ceroides

Los gránulos de ceroides o lipofucsina son pigmentos fluorescentes que están formados de lípidos y proteínas y que se caracterizan por su insolubilidad en solventes orgánicos. La formación de ceroides puede inducirse incubando macrófagos con LDL oxidada³² y también incubando las células con liposomas formados de colesterol linoleato y albúmina. No se conoce el mecanismo preciso por el que tiene lugar la formación de ceroides. Sin embargo, un procesamiento pobre de la apoB de la LDL oxidada y posiblemente del colesterol linoleato podría estar involucrado. A diferencia de la LDL acetilada, la LDL oxidada conduce a la acumulación lisosomal de colesterol libre^{33,34}. El mecanismo propuesto es que los oxisteroles de la LDL oxidada podrían interferir con la translocación del colesterol libre desde los lisosomas al citoplasma^{35,36}. Existen evidencias de que las formas oxidadas del colesterol libre, al no atravesar la membrana lisosomal, no pueden ser sustrato de la ACAT. También podría suceder que las formas oxidadas del colesterol linoleato presentes en la LDL oxidada no fuesen adecuadamente hidrolizadas por las hidrolasas lisosomales³⁶.

ACUMULACIÓN LIPÍDICA INTRACELULAR

Las lesiones ateroscleróticas se caracterizan por la presencia de células espumosas que derivan de monocitos/macrófagos y CMLV. Al menos cuatro tipos de receptor han sido involucrados en la captación de lípido arterial: receptores basurero (*scavenger*), el receptor de alfa-2-macroglobulina relacionado con el receptor de LDL (α_2 M/LRP), el receptor de LDL y el receptor de VLDL. A excepción del receptor de LDL, el resto de receptores están altamente expresados en las lesiones ateroscleróticas (tabla 2). Mientras que los

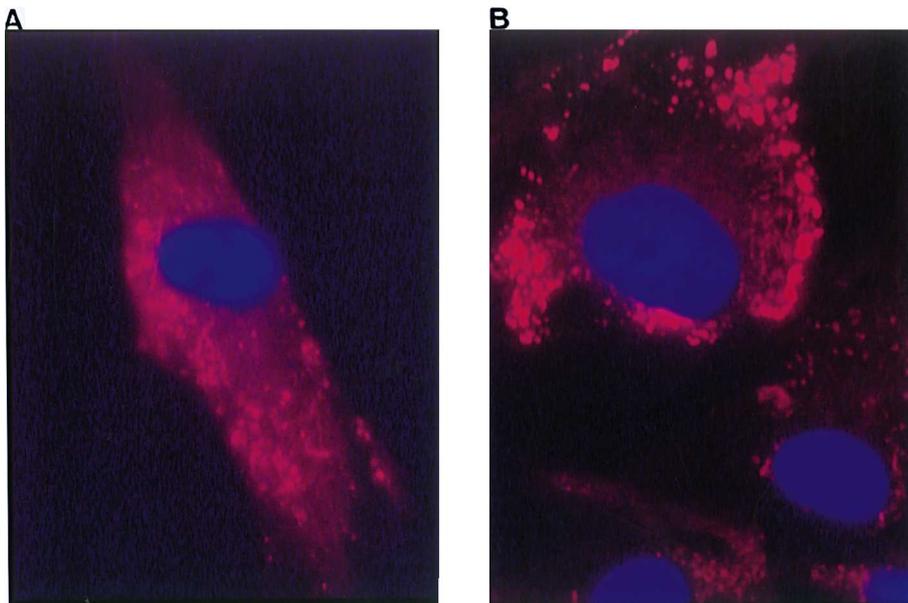


Fig. 1. Células musculares lisas de pared vascular (CMLV) incubadas con Di-agLDL (LDL marcada con 1,1-dioctadecil-3,3,3',3'-tetrametilindocarbocianina y agregada por vortexado) (50 µg/ml). Posteriormente se lavaron y se incubaron durante 4 h a 37 °C (A). CMLV incubadas con LDL agregada (100 µg/ml) durante 16 h a 37 °C. Posteriormente se lavaron y se incubaron con medio que contenía DII durante 3 h a 37 °C (B). Las CMLV se lavaron exhaustivamente, se fijaron y fotografiaron (magnificación,

receptores basurero tienen un alto nivel de expresión en macrófagos, el receptor α_2M/LRP parece tener un papel importante en mediatizar la captación de lípido por las CMLV. Por tanto, no existe un solo tipo de receptor responsable de la captación incrementada de lípido por las células, sino que diferentes mecanismos podrían contribuir a la captación y degradación de lipoproteínas en las lesiones ateroscleróticas^{14,16,18,37}. El colesterol que entra en la célula a través de receptores que no están regulados se acumula intracelularmente en forma de colesterol esterificado, dando lugar a las células espumosas (fig. 1). La mayoría de los macrófagos en la lesión se encuentran como células espumosas, de manera que su muerte contribuye al núcleo lipídico acelular de la lesión avanzada. Ya que las células espumosas no pueden limitar la captación de lípidos, la secreción de colesterol por las células parece ser muy importante para inhibir la progresión o causar la regresión de la aterosclerosis. La liberación de colesterol desde las células se relaciona directamente con la HDL presente en el espacio extracelular.

Captación de LDL por las células

Receptores scavenger

Toda una familia de receptores *scavenger* (ScR) ha sido clonada y caracterizada. La familia incluye a los ScR clase A, B y C. Los ScR de clase A agrupa los receptores tipo I y II. El receptor tipo III ha sido también recientemente caracterizado³⁸. Los ScR mediatizan la captación y degradación de ciertos ligandos cargados negativamente y proteínas modificadas que incluyen la LDL oxidada. Los ScR tipo I y II también facilitan

la adhesión de macrófagos independiente de cationes divalentes³⁹. In vitro, los tres tipos de receptor se expresan en varios tipos de macrófagos. En la pared arterial, los ScR tipo I y tipo II se expresan mayoritariamente, si no exclusivamente, en macrófagos de la lesión. En lesiones ateroscleróticas humanas y de conejo, la expresión de ScR de tipos I y II se detecta en las mismas áreas y células que contienen LDL oxidada⁴⁰. Sin embargo, sólo una subpoblación de macrófagos en un determinado estado de diferenciación expresan ScR. Además, después de la estimulación con ésteres de forbol o citocinas, algunos fibroblastos y CMLV expresan receptores de tipos I y II^{41,42}. Estos hallazgos sugieren que citocinas locales u otros factores están involucrados en la regulación de la actividad del receptor ScR⁴⁰. En los macrófagos, estos receptores están inducidos por el M-CSF y regulados a la baja por interferón- γ , PDGF, TGF- β , TNF- α y GM-CSF⁴³⁻⁴⁶. En cambio, en CMLV, la gran mayoría de citocinas anteriormente mencionadas inducen el ScR tipo A. Estudios inmunohistoquímicos sugieren que CMLV de neointima de conejos hipercolesterolémicos o sometidos a dilatación por balón expresan este tipo de receptores, mientras que en otros estudios no se ha encontrado expresión de ARNm o proteína en lesiones humanas o de conejo^{40,47,48}. In vivo, células endoteliales expresan actividad ScR y captan LDL acetilada, pero el receptor involucrado en la captación parece ser distinto a los receptores ScR A de tipos I y II presentes en el macrófago^{38,49}. La expresión de los receptores ScR de tipo III no ha sido referida en las lesiones ateroscleróticas.

Los ScR de tipos B y C no comparten similitudes estructurales con el receptor el tipo A, pero unen múltiples ligandos similares a los que se unen al receptor tipo A. El ScR B-I ha sido recientemente identificado

como un receptor del tipo HDL en tejidos esteroides⁵⁰, pero todavía se desconoce si este tipo de receptor se expresa en macrófagos o lesiones ateroscleróticas. CD36 que es un receptor para colágeno y trombospodina es un ScR tipo B. Este receptor mediatiza la captación y degradación de LDL oxidada y otros ligandos. CD36 se expresa en diferentes tipos celulares que incluyen células endoteliales de la microvasculatura, eritrocitos, plaquetas y monocitos^{51,52}. La expresión de CD36 se induce en las líneas monocíticas U937 y THP-1 siguiendo la diferenciación⁵³. La inmunorreactividad para CD36 está presente en una clase de macrófagos en lesiones ateroscleróticas. Por tanto, CD36 podría mediatizar la captación de LDL oxidada en lesiones ateroscleróticas. El ScR tipo C ha sido clonado de *Drosophila*⁵⁴. No está claro si existen homólogos de este tipo de receptor en los vertebrados ni tampoco de que este tipo de receptor se exprese en las lesiones ateroscleróticas.

Como estos receptores no están regulados por el colesterol intracelular, dan lugar a la formación de células espumosas in vivo.

Receptores de LDL

El receptor de LDL se expresa in vitro en diferentes tipos celulares. In vivo, este tipo de receptor desempeña un papel muy importante en el metabolismo lipoproteico del hígado, así como en órganos productores de hormonas esteroides. Sin embargo, el receptor de LDL no se expresa en la íntima de arterias normales o ateroscleróticas humanas o de conejo. La ausencia de expresión de ARNm y proteína del receptor de LDL podría ser el resultado de la regulación a la baja del receptor de LDL por la alta concentración de colesterol LDL en el fluido arterial extracelular de manera que el receptor de LDL no desempeña un papel importante en el desarrollo de la lesión.

Receptores de VLDL

El receptor de VLDL es un receptor recientemente clonado de la familia de los receptores de LDL. Es una proteína transmembrana que tiene gran homología estructural con el receptor de LDL. Preferentemente une y mediatiza la degradación de VLDL que contiene apoE así como partículas β -VLDL. In vitro, el receptor de VLDL no está regulado a la baja por el colesterol intracelular y, por tanto, mediatiza la acumulación de lípido de VLDL en macrófagos alveolares de conejo y células transfectadas de ovario de hámster chino⁵⁵. In vivo, se han detectado altas concentraciones de ARNm del receptor VLDL en músculo, corazón y tejido adiposo, sugiriéndose que este receptor interviene en el catabolismo de VLDL en estos tejidos. Sin embargo, diferentes estudios en animales sugieren que este tipo de receptor no desempeña un papel importan-

te en el aclaramiento de triglicéridos de VLDL del plasma y que los ligandos fisiológicos de este receptor pueden ser diferentes a VLDL. Estudios inmunohistoquímicos indican que este receptor se expresa en células endoteliales de pequeñas arteriolas y capilares. El endotelio de arterias coronarias también expresa este receptor pero no se expresa en endotelio de aorta. En otro estudio, el receptor de VLDL se ha encontrado en endotelio arterial, CMLV y macrófagos^{56,57}. No se conoce bien su regulación, pero GM-CSF induce su expresión⁵⁸. Como este tipo de receptor se expresa en células endoteliales de coronaria, se ha sugerido que este receptor participa en el transporte de VLDL a través de la pared arterial, lo que podría explicar la presencia en la pared arterial de partículas remanentes ricas en apoE.

Receptores de alfa-2-macroglobulina relacionados con el receptor de LDL (MR/LRP)

Este receptor es un receptor endocítico multifuncional que pertenece a la familia del gen del receptor de LDL. Los ligandos para este tipo de receptor incluyen VLDL remanentes enriquecidos en apoE, LpL, complejos LpL-lipoproteínas ricas en triglicéridos, alfa-2-macroglobulina-proteasas y otros complejos proteasa-antiproteasa⁴⁹. MR/LRP puede mediar la captación de LDL oxidada. In vitro, MR/LRP se expresa en ciertos tipos celulares. In vivo, se ha demostrado su expresión en CMLV y macrófagos de lesiones humanas⁴⁸. Su expresión es abundante en CMLV y, por ello, se ha concluido que podría contribuir al desarrollo de células espumosas a partir de estas células. En la pared arterial, otros ligandos como LpL, apoE y proteoglicanos pueden incrementar la unión de lipoproteínas a MR/LRP. La regulación de la expresión de MR/LRP comparte algunas similitudes con ScR. Este receptor, al igual que ScR, está regulado a la alta en procesos de diferenciación de macrófagos y también por CSF-1. Por el contrario, está regulado a la baja por interferón- γ y lipopolisacáridos⁵⁹⁻⁶¹.

Otros receptores

Otros receptores pueden desempeñar algún papel en la captación de lipoproteínas arteriales; entre éstos, CD68, receptores de LDL oxidada y glicoproteína-330. Las células endoteliales poseen actividad ScR pero la naturaleza exacta de este receptor permanece oscura. Además, otros procesos como la fagocitosis y la captación de complejos LDL oxidada-inmunoglobulina por vía de los receptores Fc podría mediatizar la captación celular de lípido. Los receptores CD68 y Fc son marcadores de línea celular y, por tanto, están presentes en los macrófagos de lesión. Queda por determinar hasta qué punto CD68, receptores de LDL oxidada y receptores Fc están involucrados en la

captación celular de lípido y en la formación de células espumosas.

Moléculas que afectan a la captación de lipoproteínas mediadas por receptor

La lipoproteinlipasa (LpL) y la apoproteína E (apoE) afectan a la captación de lipoproteínas por vía MR/LRP. Ambas, MR/LRP y apoE, están expresadas en los macrófagos de lesión^{62,63}. La LpL es sintetizada también por CMLV y la oxidación de la LDL estimula su unión a LpL. Las lipoproteínas que quedan retenidas en el espacio extracelular se enriquecen en apoE, se unen a LpL y son mejores ligandos para MR/LRP y quizá también para el receptor de VLDL. Sin embargo, a pesar de que la apoE puede facilitar la captación de lipoproteínas remanentes por el receptor MR/LRP, el efecto neto de la apoE en la aterogénesis es claramente protector, ya que la alta expresión de apoE en la pared arterial, macrófagos o médula ósea reduce la formación de estría grasa. Otras moléculas pueden afectar el metabolismo lipoproteico en la pared arterial, como la proteína asociada a receptor (RAP), una proteína de 39 kD que inhibe la unión de lipoproteínas a LRP, receptor de VLDL y receptor de LDL⁶⁴. No se sabe si la expresión de RAP está alterada en lesiones ateroscleróticas.

Metabolismo del colesterol

Las concentraciones intracelulares de colesterol libre y esterificado están altamente controladas. Las proteínas celulares que controlan la adquisición de colesterol son el receptor de LDL, que regula la captación de colesterol exógeno y la enzima hidroximetilglutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa), que regula la síntesis endógena de colesterol. La acumulación de un exceso de colesterol en forma de colesterol esterificado está controlada por la enzima acilcolesterolaciltransferasa (ACAT). Cuando el contenido de colesterol libre aumenta por encima de un umbral, se inhibe la actividad del receptor de LDL y de la enzima HMG-CoA reductasa y se activa la enzima ACAT⁶⁵. El colesterol tiene la capacidad de moverse espontáneamente entre membranas. Sin embargo, no se distribuye uniformemente entre las distintas membranas celulares y presenta una afinidad más alta por la membrana plasmática debido al mayor contenido en esfingomielina y saturación de ácidos grasos de la misma⁶⁶. Diferentes experimentos genéticos y farmacológicos indican que el movimiento del colesterol está altamente controlado y dirigido in vivo.

Existen al menos tres vías que modulan el tráfico intracelular de colesterol. Una para el movimiento del colesterol sintetizado en el retículo endoplásmico (fuente endógena de colesterol) hasta la membrana plasmática. Otra para el movimiento del colesterol

exógeno que entra en la célula vía receptor de LDL hasta la membrana plasmática y otra en las células esteroideas para el transporte del colesterol hasta las mitocondrias independiente de las dos vías anteriores. El colesterol se sintetiza en el retículo endoplásmico y su destino final varía dependiendo del tipo celular y de los requerimientos de colesterol. El colesterol se requiere para el buen funcionamiento de todas las membranas celulares, pero es la membrana plasmática la que contiene la mayor parte del colesterol libre. En los hepatocitos, el colesterol se necesita para la síntesis de lipoproteínas y ácidos biliares. En las células productoras de esteroides, el colesterol se transportaría hasta las mitocondrias para la síntesis de hormona⁶⁷. Evidencias recientes sugieren que el transporte de colesterol desde su lugar de síntesis hasta la membrana plasmática es un proceso rápido, que requiere energía y que es independiente del aparato de Golgi⁶⁶. La captación de LDL mediada por receptor suplementa a la célula con colesterol exógeno. Los esteroides son entonces transportados a través del citoplasma y se incorporan en algunos aceptores de membrana. En el caso de que las concentraciones de colesterol de la membrana se eleven, el exceso de colesterol se transporta desde la membrana hasta el retículo endoplásmico donde por medio de la enzima ACAT se transforma en colesterol esterificado. Se ha demostrado que esta enzima no se estimula directamente por el colesterol derivado de LDL sino por el aumento de las concentraciones de colesterol intracelular por encima de un umbral determinado⁶⁸. Aunque la síntesis endógena de colesterol está inhibida en presencia de un alto contenido intracelular de colesterol, el colesterol libre puede continuar entrando en la célula por vía de la captación de LDL modificada. Ello da lugar a la estimulación continuada de la enzima ACAT y a la acumulación intracelular de colesterol esterificado, indicador de la formación de células espumosas.

Liberación del colesterol intracelular

Ya que la captación de lípido no puede limitarse, la liberación de colesterol desde las células podría ser esencial para inhibir la progresión e inducir la regresión de las lesiones. La secreción de colesterol libre desde la membrana plasmática hacia el espacio extracelular estaría determinada por la composición de la membrana celular y las partículas receptoras de colesterol. El colesterol libre es eficientemente liberado de hepatocitos y fibroblastos, menos de macrófagos J744 y muy poco de células musculares lisas. Estas diferencias podrían explicarse por la distribución no homogénea de colesterol libre entre microdominios de la membrana plasmática^{69,70}. Determinadas invaginaciones de la membrana plasmática (*caveolae*) con dominios específicos de colesterol libre, esfingomielina y

caveolina pero no clatrina (a diferencia de las invaginaciones recubiertas de clatrina), parecen ser candidatas para la secreción de colesterol. En presencia de HDL, el colesterol se libera predominantemente de estos dominios⁷¹. Pero la eficiencia de secreción de colesterol no sólo está determinada por el tipo celular sino también por la estructura de las partículas receptoras. Las diferencias en tamaño, fluidez y composición en proteína son algunas de las características que determinan la capacidad de las partículas receptoras para alcanzar y captar colesterol libre de las membranas^{69,70}. Se sabe que esta capacidad está determinada por la longitud y grado de saturación de los ácidos grasos de la HDL, así como que un incremento del contenido de ácidos grasos insaturados y fosfolípidos de HDL por la dieta incrementa su capacidad para promover la liberación de colesterol por las células⁷². Las partículas de HDL están formadas de partículas que contienen apoA-I pero no apoA-II denominadas Lp(AI) y partículas que contienen ambas apoA-I y apoA-II, denominadas Lp(AI-AII). Los resultados acerca de la capacidad de estas HDL para retirar colesterol son controvertidos. Pero no sólo las partículas de HDL, sino también las apoproteínas libres de lípido, son capaces de promover la liberación de colesterol desde la membrana plasmática de varios tipos celulares. La liberación de colesterol hacia apoproteínas es muy efectiva desde macrófagos y fibroblastos, menos desde CMLV y ausente en eritrocitos⁷³. El enriquecimiento con colesterol de macrófagos y fibroblastos enfatiza la liberación de colesterol y fosfolípidos hacia la apoA-I⁷⁴. La causa podría ser una activación de la translocación del colesterol intracelular hacia la membrana plasmática. Este proceso se ha observado en células espumosas derivadas de CMLV pero no en CMLV nativas. Dado que el proceso de liberación de colesterol hacia apoA-I es más efectivo a concentraciones superiores a 100 µg de proteína/ml de medio⁷⁴, la apoproteína contribuye a la liberación de colesterol especialmente en el espacio extravasal, donde la concentración de apo A relativa a la HDL es mucho mayor que en el espacio plasmático. Algunos autores han demostrado en fibroblastos y CMLV que la transferencia de colesterol libre desde los lisosomas hasta la membrana plasmática y la consiguiente liberación de colesterol no dependen de interacciones específicas entre HDL y células y están facilitadas por la presencia de un exceso de fosfolípidos en el espacio extracelular^{75,76}. Más aún, la transferencia de colesterol lisosomal hasta la membrana plasmática se produce muy rápidamente (entre media y una hora) y, por consiguiente, parece no ser limitante para la liberación de colesterol. Por el contrario, la translocación del colesterol sintetizado de novo hasta la membrana plasmática de fibroblastos enriquecidos en colesterol está aumentada por la presencia de HDL y apoA-I, probablemente por vía de un proceso de transducción

de señal que involucra a la liberación de diacilglicerol y fosfatidilinositol en la membrana plasmática y posterior activación de la proteincinasa C⁷⁷. El transporte del colesterol sintetizado de novo hacia la membrana plasmática parece depender del aparato de Golgi. La activación del transporte intracelular de colesterol por la HDL a través de una cascada de transducción de señal requiere interacciones específicas de la HDL con un receptor de superficie. Sin embargo, hasta el momento la naturaleza de este receptor es desconocida y no se puede excluir la posibilidad de que interacciones de apoproteínas anfifáticas con los fosfolípidos de membrana cambien la composición de las membranas celulares y, por consiguiente, activen vías de señalización de segundos mensajeros. Otra apoproteína que facilitaría la liberación de colesterol desde los macrófagos sería la apoE. La apoE sintetizada de forma endógena facilitaría la liberación de colesterol desde los macrófagos independientemente del receptor extracelular⁷⁸.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull W, Rosenfeld ME et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis: a report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1992; 85: 391-405.
2. Badimon JJ, Fuster V, Chesebro JH, Badimon L. Coronary atherosclerosis: a multifactorial disease. *Circulation* 1993; 87: II3-II6.
3. Fernández-Ortiz A, Badimon JJ, Falk E, Fuster V, Meyer B, Mailhac A et al. Characterization of the relative thrombogenicity of atherosclerotic plaque components: implications for consequences of plaque rupture. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23: 1.562-1.569.
4. Nikkari ST, O'Brien KD, Ferguson M, Hatsukami T, Welgus HG, Alpers CE et al. Interstitial collagenase (MMP-1) expression in human carotid atherosclerosis. *Circulation* 1995; 92: 1.393-1.398.
5. Shah PK, Falk E, Badimon JJ, Fernández-Ortiz A, Mailhac A, Villareal-Levy G et al. Human monocyte-derived macrophages induce collagen breakdown in fibrous caps of atherosclerotic plaques: potential role of matrix-degrading metalloproteinases and implications for plaque rupture. *Circulation* 1995; 92: 1.565-1.569.
6. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (Part I). *N Engl J Med* 1992; 326: 242-250. (Part II) 1992; 326: 310-318.
7. Fuster V, Badimon JJ. Regression or stabilization of atherosclerosis means regression or stabilization of what we don't see in the arteriogram. *Eur Heart J* 1995; 16 (Supl E): 6-12.
8. Toschi V, Gallo R, Lettino M, Fallon JT, Gertz SD, Fernández-Ortiz A et al. Tissue factor modulates the thrombogenicity of human atherosclerotic plaques. *Circulation* 1997; 95: 594-599.
9. Davies MJ, Richardson PD, Woolf N, Katz DR, Mann J. Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: role of extracellular lipid, macrophage, and smooth muscle content. *Br Heart J* 1993; 69: 377-381.
10. Badimon JJ, Badimon L, Turitto VT, Fuster V. Platelet deposition at high shear rates is enhanced by high plasma cholesterol levels. In vivo study in the rabbit model. *Arterioscler Thromb* 1991; 11: 395-402.

11. Alfón J, Badimon L. Inhibitors of hydroxymethyl glytaryl-CoA reductase as modulators of intimal thickening in diet-induced atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1997; 134: 119.
12. Guyton JR, Klemp KF. Development of the lipid-rich core in human atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 4-11.
13. Camejo G, Hurt-Camejo E, Olsson U, Böndjers G. Proteoglycans and lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1993; 4: 385-391.
14. Hurt-Camejo G, Camejo G, Rosengren B, López F, Ahlström C, Fager G et al. Effect of arterial proteoglycans and glycosaminoglycans on low density lipoprotein oxidation and its uptake by human macrophage and smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb* 1992; 12: 569-583.
15. Saxena U, Goldberg IJ. Endothelial cells and atherosclerosis: lipoprotein metabolism, matrix interactions, and monocyte recruitment. *Curr Opin Lipidol* 1994; 5: 316-322.
16. Tabas I, Li Y, Brocia RW, Xu SW, Swenson TL, Williams KJ. Lipoprotein lipase and sphingomyelinase synergistically enhance the association of atherogenic lipoproteins with smooth muscle cells and extracellular matrix. A possible mechanism for low density lipoprotein and lipoprotein (a) retention and macrophage foam cell formation. *J Biol Chem* 1993; 268: 20.419-20.432.
17. Guyton JR, Klemp KF. Transitional features in human atherosclerosis: intimal thickening, cholesterol clefts, and cell loss in human aortic fatty streaks. *Am J Pathol* 1993; 143: 1.444-1.457.
18. Khoo JC, Miller E, Loughlin MC, Steinberg D. Enhanced macrophage uptake of low density lipoprotein after self-aggregation. *Arteriosclerosis* 1988; 8: 348-358.
19. Guyton JR, Klemp KF. Development of the atherosclerotic core region: chemical and ultrastructural analysis of microdissected atherosclerotic lesions from human aorta. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 1.305-1.314.
20. Heinecke JW, Li W, Daehnke HL III, Goldstein JA. Tyrosyl radical generated by myeloperoxidase catalyzes the oxidative cross-linking of proteins. *J Clin Invest* 1993; 91: 2.866-2.872.
21. Hazell LJ, Van den Berg JJM, Stocker R. Oxidation of low-density lipoprotein by hypochlorite causes aggregation that is mediated by modification of lysine residues rather than lipid oxidation. *Biochem J* 1994; 302: 297-304.
22. Schissel SL, Tweedie-Hardman J, Rapp JH, Graham G, Jon Williams K, Tabas I. Rabbit aorta and human atherosclerotic lesions hydrolyze the sphingomyelin of retained low-density lipoprotein. *J Clin Invest* 1996; 98: 1.455-1.464.
23. Daugherty A, Dunn JL, Rateri DL, Heinecke JW. Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 1994; 94: 437-444.
24. Kawamura M, Heinecke JW, Chait A. Pathophysiological concentrations of glucose promote oxidative modification of low density lipoprotein by a superoxide-dependent pathway. *J Clin Invest* 1994; 94: 771-778.
25. Hunt JV, Bottoms MA, Clare K, Skamarauskas JT, Mitchinson MJ. Glucose oxidation and low-density lipoprotein-induced macrophage ceroid accumulation: possible implications for diabetic atherosclerosis. *Biochem J* 1994; 300: 243-249.
26. Watson AD, Navab M, Hama SY, Sevanian A, Prescott SM, Stafforini DM et al. Effect of platelet-activating factor-acetylhydrolase on the formation and action of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995; 95: 774-782.
27. Jessup W. Oxidized lipoproteins and nitric oxide. *Curr Opin Lipidol* 1996; 7: 274-280.
28. Wang Y, Lindstedt KA, Kovanen PT. Mast cell granule remnants carry LDL into smooth muscle cells of the synthetic phenotype and induce their conversion into foam cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 801-810.
29. Kaartinen M, Penttilä A, Kovanen PT. Extracellular mast cell granules carry apolipoprotein B-100-containing lipoproteins into phagocytes in human arterial intima: functional coupling of exocytosis and phagocytosis in neighboring cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 2.047-2.054.
30. Lindstedt L, Lee M, Castro GR, Fruchart JC, Kovanen PT. Chymase in exocytosed rat mast cell granules effectively proteolyzes apolipoprotein AI-containing lipoproteins, so reducing the cholesterol-efflux inducing ability of serum and aortic intimal fluid. *J Clin Invest* 1996; 97: 2.174-2.182.
31. Kovanen PT, Kaartinen M, Paavonen T. Infiltrates of activated mast cells at the site of coronary atheromatous erosion of rupture in myocardial infarction. *Circulation* 1995; 92: 1.084-1.088.
32. Ball RY, Carpenter KLH, Mitchinson MJ. What is the significance of ceroid in human atherosclerosis? *Arch Pathol Lab Med* 1987; 111: 1.134-1.140.
33. Roma P, Catapano AL, Bertulli SM, Varesi L, Fumagalli R, Bernini F. Oxidized LDL increase free cholesterol and fail to stimulate cholesterol esterification in murine macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 171: 123-131.
34. Jailal I, Chait A. Differences in the metabolism of oxidatively modified LDL on cholesterol esterification and acetylated low density lipoprotein by endothelial cells: inhibition of cholesterol esterification by oxidatively modified low density lipoprotein. *J Lipid Res* 1989; 30: 1.561-1.568.
35. Zang H, Basra HJK, Steinbrecher UP. Effects of oxidatively modified LDL on cholesterol esterification in cultured macrophages. *J Lipid Res* 1990; 31: 1.361-1.369.
36. Maor I, Aviram M. Oxidized low density lipoprotein leads to macrophage accumulation of unesterified cholesterol as a result of lysosomal trapping of the lipoprotein hydrolyzed cholesteryl ester. *J Lipid Res* 1994; 35: 803-819.
37. Llorente-Cortés V, Martínez-González J, Badimon L. Esterified cholesterol accumulation induced by aggregated LDL uptake in human vascular smooth muscle cells is reduced by HMG-CoA reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 736-746.
38. Elomaa O, Kangas M, Sahlberg C, Tuukkanen J, Sormunen R, Liakka A et al. Cloning of a novel bacteria-binding receptor structurally related to scavenger receptors and expressed in a subset of macrophages. *Cell* 1995; 80: 603-609.
39. Fraser I, Hughes D, Gordon S. Divalent cation-independent macrophage adhesion inhibited by monoclonal antibody to murine scavenger receptor. *Nature* 1993; 364: 343-346.
40. Ylä-Herttua S, Rosenfeld ME, Parthasarathy S, Sigal E, Särkioja T, Witztum JL et al. Gene expression in macrophage-rich human atherosclerotic lesions: 15-lipoxygenase and acetyl low density lipoprotein receptor messenger RNA colocalize with oxidation specific lipid-protein adducts. *J Clin Invest* 1991; 87: 1.146-1.152.
41. Pitas R. Expression of the acetyl low density lipoprotein receptor by rabbit fibroblasts and smooth muscle cells. Up-regulation by phorbol esters. *J Biol Chem* 1990; 265: 12.722-12.727.
42. Gong Q, Pitas RE. Synergistic effects of growth factors on the regulation of smooth muscle cell scavenger receptor activity. *J Biol Chem* 1995; 270: 21.672-21.678.
43. Geng Y, Hansson GK. Interferon- γ inhibits scavenger receptor expression and foam cell formation in human monocyte-derived macrophages. *J Clin Invest* 1992; 89: 1.322-1.330.
44. Aviram M. Platelet secretory products enhance LDL receptor activity and inhibit scavenger receptor activity in human monocyte derived macrophages. *Metabolism* 1989; 38: 425-430.
45. Botalico LA, Wagner RE, Agellon LB, Assoian RK, Tabas Y. TGF- β 1 inhibits scavenger receptor activity in THP-1 human macrophages. *J Biol Chem* 1991; 266: 22.866-22.871.
46. Van Lenten BJ, Fogelman AM. Lipopolysaccharide-induced inhibition of scavenger receptor expression in human monocyte-macrophages is mediated through tumor necrosis factor- α . *J Immunol* 1992; 48: 112-116.
47. Naito M, Suzuki H, Mori T, Matsumoto A, Kodama T, Takahashi K. Coexpression on type I and type II human macrophage scavenger receptors in macrophages of various organs and foam cells in atherosclerotic lesions. *Am J Pathol* 1992; 141: 591-599.
48. Luoma J, Hiltunen T, Särkioja T, Moestrup SK, Gliemann J, Kodama T et al. Expression of α 2-macroglobulin receptor/low density lipoprotein receptor-related protein and scavenger receptor in

- human atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 1994; 93: 2.014-2.021.
49. Krieger M, Herz J. Structures and functions of multiligand lipoprotein receptors: macrophage scavenger receptors and LDL receptor-related protein (LRP). *Annu Rev Biochem* 1994; 63: 601-637.
 50. Acton SL, Scherer PE, Lodish HF, Krieger M. Expression cloning of SR-BI, a CD36-related class B scavenger receptor. *J Biol Chem* 1994; 269: 21.003-21.009.
 51. Endemann G, Stanton LW, Madden KS, Bryant CM, White RT, Protter AA. CD36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem* 1993; 268: 11.811-11.816.
 52. Nozaki S, Kashiwagi H, Yamashita S, Nakagawa T, Kostner B, Tomiyana Y et al. Reduced uptake of oxidized low density lipoproteins in monocyte-derived macrophages from CD36-deficient subjects. *J Clin Invest* 1995; 96: 1.859-1.865.
 53. Alessio M, De Monte L, Scirea A, Gruarin P, Tandom NN, Sitia R. Synthesis, processing, and intracellular transport of CD36 during monocytic differentiation. *J Biol Chem* 1996; 271: 1.770-1.775.
 54. Pearson A, Lux A, Krieger M. Expression cloning of dSR-CI, a class C macrophage-specific scavenger receptor from *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 4.056-4.060.
 55. Suzuki J, Takahashi S, Oida K, Shimada A, Kohno M, Tamai T et al. Lipid accumulation and foam cell formation in Chinese hamster ovary cells overexpressing very low density lipoprotein receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 206: 835-842.
 56. Wyne KL, Pathak RK, Seabra MC, Hobbs HH. Expression of the VLDL receptor in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 407-415.
 57. Mulhaupt HAB, Gafvels ME, Kariko K, Jin H, Arenas-Elliott C, Goldman BI et al. Expression of very low density lipoprotein receptor in the vascular wall: analysis of human tissues by in situ hybridization and immunocytochemistry. *Am J Pathol* 1996; 148: 1.985-1.997.
 58. Ishibashi T, Yokoyama K, Shindo J, Hamazaki Y, Endo Y, Sato T et al. Potent cholesterol-lowering effect by human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in rabbits: possible implications of enhancement of macrophage functions and an increase in mRNA VLDLR. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 1.534-1.541.
 59. Wanatabe Y, Inaba T, Shimano H, Gotoda T, Yamamoto K, Mokuo H et al. Induction of LDL receptor-related protein during the differentiation of monocyte-macrophages. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 1.000-1.006.
 60. Hussaini IM, Srikumar K, Quesenberry PJ, Gonias SL. Colony-stimulating factor-1 modulates α 2-macroglobulin receptor expression in murine bone marrow macrophages. *J Biol Chem* 1990; 265: 19.441-19.446.
 61. LaMarre J, Wolf BB, Kittler ELW, Quesenberry PJ, Gonias SL. Regulation of macrophage α 2-macroglobulin receptor/low density lipoprotein receptor-related protein by lipopolysaccharide and interferon- γ . *J Clin Invest* 1993; 91: 1.219-1.224.
 62. Beisiegel U, Weber W, Bengtsson-Olivecrona G. Lipoprotein lipase enhances the binding of chylomicrons to low density lipoprotein receptor-related protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 8.342-8.346.
 63. Rosenfeld ME, Butler S, Ord VA, Lipton BA, Dyer CA, Curtiss LK et al. Abundant expression of apoprotein E by macrophages in human and rabbit atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1.382-1.389.
 64. Battery FD, Gafvels ME, Fitzgerald DJ, Argraves WS, Chappel DA, Strauss JF et al. The 39-kDa receptor-associated protein regulates ligand binding by the very low density lipoprotein receptor. *J Biol Chem* 1994; 269: 23.268-23.273.
 65. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986; 232: 34-47.
 66. Lange Y, Echevarria F, Steck T. Movement of zymosterol, a precursor of cholesterol, among three membranes in human fibroblasts. *J Biol Chem* 1991; 266: 21.439-21.443.
 67. Reinhart MP. Intracellular sterol trafficking. *Experientia* 1990; 46: 599-611.
 68. Xu XX, Tabas I. Lipoproteins activate acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase in macrophages only after cellular cholesterol pools are expanded to a critical threshold level. *J Biol Chem* 1991; 266: 17.040-17.048.
 69. Rothblat GH, Mahlberg FH, Johnson WJ, Phillips MC. Apolipoproteins, membrane cholesterol domains, and the regulation of cholesterol efflux. *J Lipid Res* 1992; 33: 1.091-1.097.
 70. Fielding C, Fielding PE. Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J Lipid Res* 1995; 36: 1.091-1.097.
 71. Fielding PE, Fielding C. Plasma membrane caveolae mediate the efflux of cellular free cholesterol. *Biochemistry* 1995; 34: 14.288-14.292.
 72. Davidson WS, Gillotte KL, Lund-Katz S, Johnson WJ, Rothblat GH, Phillips MC. Effects of acceptor particle size on the efflux of cellular free cholesterol. *J Biol Chem* 1995; 270: 5.882-5.890.
 73. Czarnecka H, Yokoyama S. Regulation of cellular cholesterol efflux by lecithin: cholesterol acyltransferase reaction through nonspecific exchange. *J Biol Chem* 1996; 266: 2.023-2.028.
 74. Yancey PG, Bielicki JK, Johnson WJ, Lund-Katz S, Palgunachari MN, Anantharamaiah GM et al. Efflux of cellular cholesterol and phospholipid to lipid-free apolipoproteins and class amphiphatic peptides. *Biochemistry* 1995; 34: 7.955-7.965.
 75. Johnson WJ, Fischer RT, Phillips MC, Rothblat GH. Efflux of newly synthesized cholesterol and biosynthetic sterol intermediates from cells. Dependence on acceptor type and enrichment of cells with cholesterol. *J Biol Chem* 1995; 270: 25.037-25.046.
 76. Johnson WJ, Chacko GK, Phillips MC, Rothblat GH. The efflux of lysosomal cholesterol from cells. *J Biol Chem* 1990; 265: 5.546-5.553.
 77. Walter M, Reinecke H, Nofer J-R, Seedorf U, Assman G. HDL3 stimulates multiple signalling pathways in human skin fibroblasts. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 1.975-1.986.
 78. Rosenfeld ME, Butler S, Ord VA, Lipton A, Dyer CA, Curtiss LA et al. Abundant expression of apoprotein E by macrophages in human and rabbit atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1.382-1.389.