

Medicina cardiovascular traslacional (X)

Lipoproteínas, plaquetas y aterotrombosis

Lina Badimón^{a,b,c}, Gemma Vilahur^{a,b} y Teresa Padró^a

^aCentro de Investigación Cardiovascular. CSIC-ICCC. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

^bCIBERobn. Instituto de Salud Carlos III. Barcelona. España.

^cCátedra de Investigación Cardiovascular. UAB-HSCSP-Fundación Jesús Serra. Barcelona. España.

La aterosclerosis y los procesos trombóticos asociados a la rotura de placas vulnerables son la principal causa de eventos cardiovasculares incluyendo los síndromes coronarios agudos. Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) desempeñan un papel clave en la patogenia del proceso aterotrombótico. Las LDL no sólo inducen una alteración en las propiedades antitrombóticas derivadas del endotelio vascular y en las propiedades contráctiles del vaso como resultado de una disminución en la disponibilidad de óxido nítrico endotelial y una activación de las vías de señalización proinflamatorias, sino que también afectan a la función e interacción de las células presentes en la lesión aterosclerótica, tanto derivadas de la sangre como residentes en la pared vascular. De hecho, las LDL infiltradas en el vaso sufren modificaciones (oxidaciones, agregación, glucosilación, etc.) que potencian sus propiedades aterogénicas. Una vez modificadas, las LDL intravasculares facilitan la formación de células espumosas derivadas de células musculares lisas y macrófagos y acrecientan la vulnerabilidad de las placas ateroscleróticas. Asimismo aumentan la trombogenicidad de las placas y la de la sangre, esto último asociado a un aumento en los niveles de factor tisular circulante y en la reactividad de las plaquetas. Esta revisión se centra en la importancia de las LDL, nativas y modificadas, en la patogenia de la aterotrombosis. Aborda estudios actuales sobre las LDL y su efecto en la función de células sanguíneas, especialmente plaquetas y células vasculares, así como sobre potenciales nuevas dianas terapéuticas.

Palabras clave: *Lipoproteínas de baja densidad. Aterosclerosis. Plaquetas. Células vasculares residentes.*

Lipoproteins, Platelets and Atherothrombosis

Atherosclerosis and thrombosis associated with the rupture of vulnerable plaque are the main causes of cardiovascular events, including acute coronary syndrome. Low-density lipoprotein (LDL) plays a key role in the pathogenesis of atherothrombotic processes. LDLs modify the antithrombotic properties of the vascular endothelium and change vessel contractility by reducing the availability of endothelial nitric oxide and activating proinflammatory signaling pathways. In addition, LDLs also influence the functions and interactions of cells present in atherosclerotic lesions, whether they come from the circulation or are resident in vessel walls. In fact, LDLs entering affected vessels undergo modifications (e.g. oxidation, aggregation and glycosylation) that potentiate their atherogenic properties. Once modified, these intravascular LDLs promote the formation of foam cells derived from smooth muscle cells and macrophages, thereby increasing the vulnerability of atherosclerotic plaque. Moreover, they also increase the thrombogenicity of both plaque and blood, in which circulating tissue factor levels are raised and platelet reactivity is enhanced. This review focuses on the importance of native and modified LDL for the pathogenesis of atherothrombosis. It also discusses current studies on LDL and its effects on the actions of vascular cells and blood cells, particularly platelets, and considers novel potential therapeutic targets.

Key words: *Low-density lipoprotein. Atherosclerosis. Platelets. Resident vascular cells.*

Full English text available from: www.revespcardiol.org

Sección patrocinada por el Laboratorio Dr. Esteve

Este artículo ha sido posible gracias a la financiación de CIBERobn CB06/03, SAF 2006-10091, FIS-PI071070, REDINSCOR RD06/0003/0015 y la Fundación de Investigación Cardiovascular. La Dra. Gemma Vilahur es contratada Ramón y Cajal (Ministerio de Ciencia e Innovación).

Correspondencia: Prof. L. Badimón.
Centro Investigación Cardiovascular.
Sant Antoni Maria Claret, 167. 08025 Barcelona. España.
Correo electrónico: lbadimon@csic-iccc.santpau.es

La arteriosclerosis, compleja enfermedad crónica de la pared arterial, es la base etiológica de la mayor parte de los episodios cardiovasculares, entre los que se incluye la enfermedad cardíaca coronaria (fig. 1). La aterosclerosis tiene una etiología multifactorial y se desencadena por factores tanto sistémicos como locales que inducen un deterioro de la función vascular. La hipercolesterolemia y especialmente las concentraciones plasmáticas elevadas de lipoproteínas de baja densidad (LDL) son un factor

ABREVIATURAS

- ADP: adenosindifosfato.
- AMP: adenosinmonofosfato.
- CE: célula endotelial.
- CML: célula muscular lisa.
- FT: factor tisular.
- FvW: factor de von Willebrand.
- GP: glucoproteína.
- LDL: lipoproteínas de baja densidad.
- LRP-1: lipoproteína de baja densidad de receptor-1.
- MEC: matriz extracelular.
- MPP: micropartículas plaquetarias.
- PAR: receptores activadores de proteasas.
- UPA: activador del plasminógeno tipo uroquinasa.

de riesgo relevante de aparición prematura de aterosclerosis y cardiopatía isquémica¹.

Los lípidos son moléculas orgánicas e insolubles o con muy reducida solubilidad en medios acuosos debido a que son muy hidrófugos. Las lipoproteínas son estructuras compuestas de proteínas y fosfolípidos que facilitan el transporte de lípidos en el torrente circulatorio. Específicamente, las LDL son una clase heterogénea de lipoproteínas de densidad entre 1,019 y 1,063 g/ml y un diámetro de 20-25 nm. Las LDL consisten en un núcleo hidrófugo que contiene triglicéridos y ésteres de colesterol y una cubierta hidrófila formada por fosfolípidos, colesterol libre y proteínas, predominantemente la apolipoproteína B-100, que actúa de ligando con receptores de la membrana celular (fig. 2).

En zonas de la pared vascular con predisposición a las lesiones ateroscleróticas, con una permeabilidad aumentada, la hipercolesterolemia plasmática está asociada con un aumento de transocitosis de LDL a través del endotelio vascular. Esto lleva a la acumulación de LDL en el espacio subendotelial, donde interactúan con proteoglicanos y proteínas que favorecen su modificación (agregaciones, glucosilaciones, proteólisis enzimáticas, oxidaciones, etc.), lo que incrementa su aterogenicidad^{2,3} y retención en la íntima vascular. La retención de LDL en la íntima arterial es un proceso clave en el inicio y la progresión de la lesión aterosclerótica, ya que dispara un proceso inflamatorio local. Las lesiones vasculares ateroscleróticas son el resultado de complejas interacciones entre células inflamatorias, plaquetas, elementos vasculares y lipoproteínas que regulan la expresión de genes y proteínas directamente involucradas en el proceso de remodelado vascular (fig. 3).

LIPOPROTEÍNAS Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

El endotelio vascular es un órgano multifactorial, capaz de percibir estímulos (tanto sistémicos como locales) y modificar su estado funcional para contribuir a mantener la homeostasis de la pared vascular^{4,5}. En condiciones fisiológicas, el endotelio presenta una superficie con propiedades antitrombogénicas⁶ a través de la cual se produce el intercambio de numerosas sustancias entre la sangre y los tejidos y se controla el tono vascular y el tránsito de células inflamatorias hacia la pared vascular. El aumento de permeabilidad del endotelio en presencia de elevadas

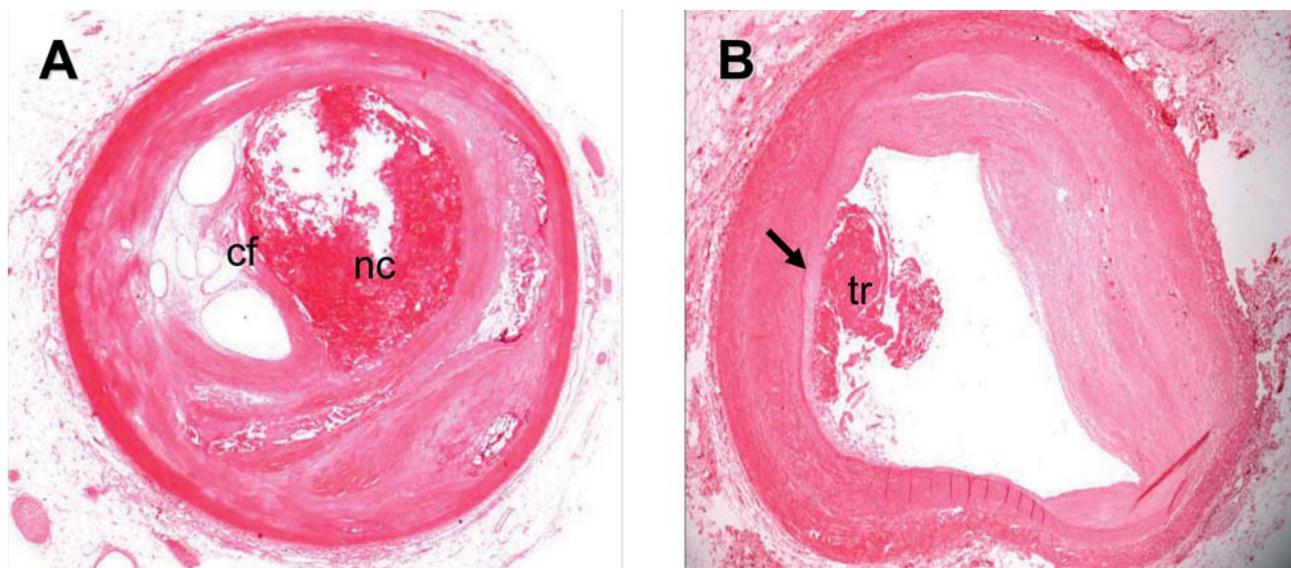


Fig. 1. Arterias coronarias humanas con diferentes tipos de lesión aterosclerótica. A: placa aterosclerótica compleja vulnerable, con centro necrótico (nc) de gran tamaño y una delgada capa fibrosa (cf). B: placa erosionada con trombo (tr) superpuesto. Tinción de hematoxilina-eosina.

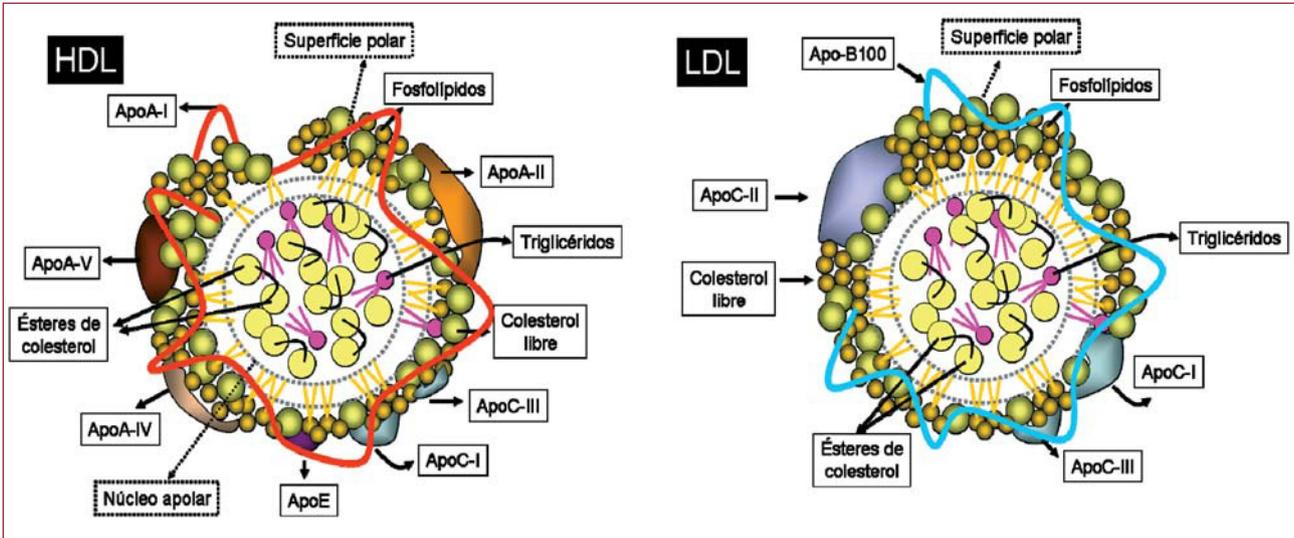


Fig. 2. Esquema gráfico de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y de baja densidad (LDL). Principales componentes proteínicos y lipídicos. Apo: apolipoproteína.

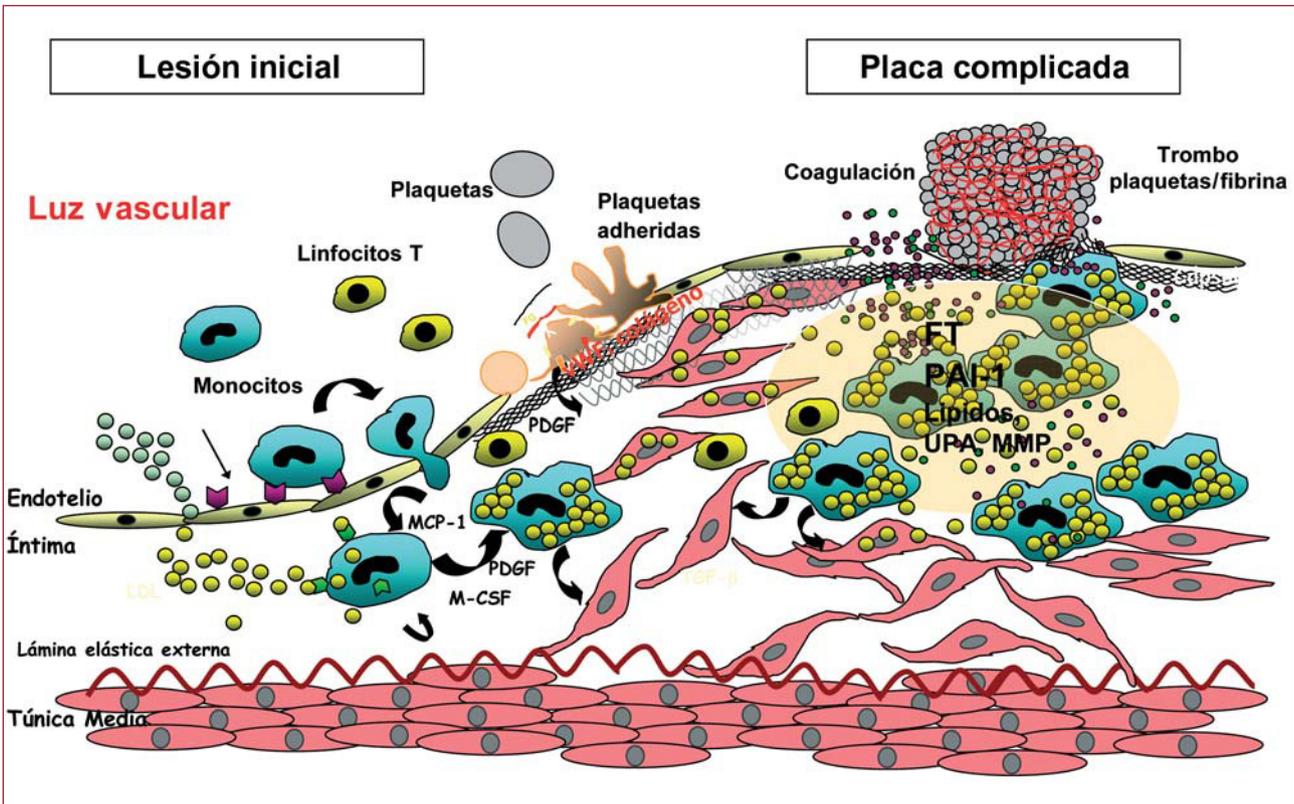


Fig. 3. Representación esquemática de la evolución de la placa aterosclerótica desde etapas iniciales de disfunción endotelial a etapas avanzadas con la presencia de placas complicadas.

FT: factor tisular; M-CSF: factor estimulador de colonias de macrófagos; MCP-1: proteína quimiotáctica de monocitos; MMP: metaloproteinasas; PAI-1: inhibidor del del plasminógeno tipo-1 activado; PDGF: factor de crecimiento plaquetario; UPA: activador del plasminógeno tipo uroquinasa.

concentraciones de LDL se ha asociado recientemente a la actividad de la cinasa p21, por un mecanismo mediado por la proteincinasa G y la Ser/Thr cinasa Akt^{7,8}. Gran parte de las propiedades antiaterogénicas y antitrombóticas del endotelio vascular

están mediadas por su capacidad de producir y liberar sustancias como el óxido nítrico (NO), molécula inhibidora de la agregación plaquetaria, con elevada actividad vasodilatadora y una importante función antiinflamatoria. El NO previene la expresión

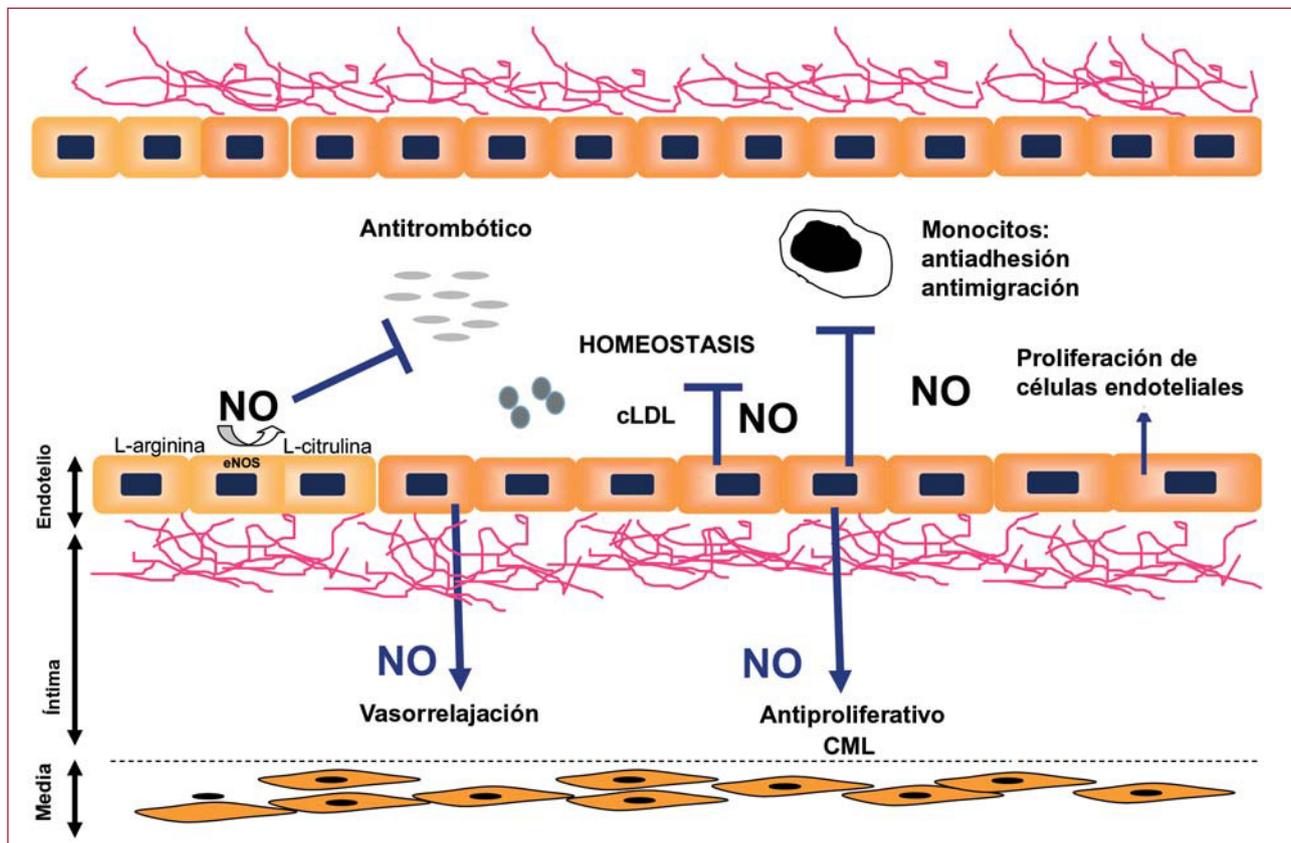


Fig. 4. Diagrama simplificado de los efectos vasoprotectores del óxido nítrico. cLDL: colesterol de las LDL; LDL: lipoproteínas de baja densidad; NOS: óxido nítrico sintetasa.

sión de moléculas proinflamatorias como el factor de necrosis (NF) κ B y de moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1)⁹, así como la adhesión e infiltración de leucocitos¹⁰. Las conexiones intercelulares tipo *tight junctions* y *gap junctions* son estructuras esenciales en la regulación de la función y la permeabilidad del endotelio. La formación de *gap junctions* está regulada por la presencia y la funcionalidad de conexinas, proteínas cuya expresión se altera durante la formación de lesiones ateroscleróticas¹¹. Las *gap junctions*, además de favorecer los procesos de señalización intercelulares, regulan los procesos de vasodilatación dependientes del NO¹² (fig. 4).

Las concentraciones aterogénicas de LDL llevan a una disminución de la biodisponibilidad del NO endotelial. Esta menor disponibilidad de NO se ha asociado a una disminución en la concentración y/o la actividad de la NO sintetasa como consecuencia de la presencia de LDL nativas¹³ o modificadas¹⁴, así como a la degradación de NO por formación de aniones superóxido (O_2^-)¹⁵⁻¹⁷.

El desequilibrio en NO/redox se ha asociado a la nitrosilación de proteínas. La inactivación de NO por O_2^- da lugar a radicales peroxinitrito, altamente citotóxicos. En lesiones ateroscleróticas humanas se ha descrito la presencia de peroxinitritos derivados

de nitrosotironas y una elevada producción de O_2^- . Los peroxinitritos inhiben la expresión de prostaciclina sintetasa y favorecen su nitrosilación, proceso que se ha asociado recientemente a la disfunción endotelial inducida por los superóxidos en la enfermedad vascular.

RETENCIÓN Y MODIFICACIÓN DE LAS LDL EN LA ÍNTIMA ARTERIAL. EFECTO EN LA PROGRESIÓN DE LAS LESIONES ATROSCLERÓTICAS

El remodelado vascular que tiene lugar durante el desarrollo y la complicación de las placas ateroscleróticas está condicionado en gran medida por la composición y la estructura de la matriz extracelular (MEC). Las células musculares lisas (CML) producen gran parte de los componentes mayoritarios de la MEC, como proteoglicanos, colágeno y elastina, así como un gran número de proteínas que determinan el balance entre síntesis (lisis oxidada) y degradación (metaloproteinasas, activadores del plasminógeno) de la MEC durante el proceso aterogénico.

Las LDL sufren procesos de modificación cuando interactúan con los componentes de la MEC o

por acción de determinados agentes oxidantes (lipo-oxigenasas, mieloperoxidasa, radicales libres, etc.) y por la actividad de enzimas proteolíticas (cinasa, triptasa, metaloproteinasas, trombina, etc.), enzimas lipolíticas (esfingomielinasa, fosfolipasa A2, fosfolipasa C, etc.) y enzimas hidrolíticas (esterasa). De esta manera tienen lugar determinados procesos químicos y/o estructurales que generan distintos tipos de LDL modificadas¹⁸.

Los proteoglucanos son responsables del atrapamiento de las LDL en la íntima arterial. Los proteoglucanos tipo condroitinsulfato, como el versicán, son los principales proteoglucanos estructurales de la MEC y se considera que son importantes elementos aterogénicos, debido a la elevada capacidad que tienen para interactuar, retener y agregar lipoproteínas ricas en colesterol; las partículas de LDL de menor densidad son las de mayor capacidad de interactuar con los proteoglucanos. La longitud y el número de cadenas de glucosaminoglucanos en los proteoglucanos producidos por las CML, así como su grado de sulfatación, determinará la formación de complejos insolubles entre estas moléculas y la capacidad de retención de las LDL en la íntima arterial¹⁹.

La interacción entre versicán y LDL produce cambios estructurales en estas partículas lipoproteínicas que llevan a agregados de LDL similares a los que se obtienen mecánicamente por agitación y a los descritos en lesiones ateroscleróticas²⁰.

El colágeno es esencial para el mantenimiento de la integridad y la elasticidad de la pared vascular. Sin embargo, también está implicado en procesos de diferenciación celular, y sus formas glucosiladas son un importante factor de la aterogénesis, ya que favorecen la retención de LDL^{21,22}.

En contraste con las LDL nativas que son internalizadas específicamente por el receptor LDLR, nuestro grupo ha demostrado que las formas modificadas por agregación son internalizadas en las células por diferentes tipos de receptores, entre ellos LRP-1 (lipoproteína de baja densidad de receptor-1), receptor de la familia LDL que internaliza las LDL agregadas²³, receptores *scavenger* como SR-AI y SR-AII, CD36, LOX-1 o CXCL16 para las LDL oxidadas²⁴, y el receptor Fc gamma para LDL incorporadas en complejos inmunitarios²⁵. Los receptores LDLR, LRP-1 y *scavenger* se han descrito en los diferentes tipos de células con funciones clave en el desarrollo de lesiones ateroscleróticas, como monocitos, CML y plaquetas.

LDL Y MONOCITOS/MACRÓFAGOS

Un proceso relevante durante el desarrollo de las lesiones ateroscleróticas es la infiltración de

monocitos circulantes al espacio intravascular. Las LDL, especialmente las formas modificadas, inducen el aumento en la expresión y la secreción de compuestos quimiotácticos solubles (MCP-1, interleucina [IL] 8)²⁶ y un aumento en la expresión de moléculas de adhesión como integrinas y selectinas^{27,28}, que quedan expuestas en la superficie de las células endoteliales activadas y favorecen el reclutamiento, la adhesión y la transmisión leucocitaria (monocitos, células T). La proteína quimiotáctica para monocitos MCP1 tiene un papel clave a través de los receptores CCR2. El hecho de que las diferentes moléculas de adhesión y moléculas quimiotácticas se expresen de forma casi simultánea en las células endoteliales (CE) indica una activación concertada de diferentes genes, a través de un factor de transcripción común como NF- κ B²⁹. Además de los efectos en el endotelio vascular, las LDL modificadas favorecen la entrada de monocitos en la pared vascular por una acción directa sobre ellos, en un proceso que se cree mediado por CD11 y la vía de la proteincinasa C (PKC)³⁰.

La diapedesis de monocitos tiene lugar a través de los espacios intercelulares de las CE (*junctions*), preferentemente en áreas donde la lámina basal está enriquecida en LDL modificadas³¹. Los monocitos infiltrados en la íntima arterial se diferencian a macrófagos y expresan receptores *scavenger* tales como CD36 y LOX-1, que internalizan una cantidad elevada de moléculas de colesterol y ésteres de colesterol provenientes de LDL modificadas. Las LDL agregadas (LDLag) son un potente inductor de acumulación masiva de colesterol en macrófagos³²; mientras unos autores proponen la fagocitosis como mecanismo clásico de internalización de LDLag en macrófagos, otros autores, utilizando diseños experimentales que simulan la interacción *in vivo* entre los macrófagos de la pared y las LDL subendoteliales, han definido un nuevo mecanismo de internalización de estas lipoproteínas de baja densidad conocido como «patocitosis», que consiste en la captación de grandes cantidades de LDLag a través de formaciones vesiculares de la membrana³³. Recientemente se ha señalado que el receptor LRP-1 participa en la internalización por los macrófagos de LDL retenidas en la matriz y LDL degradadas por esfingomielinasa³⁴ en un proceso regulado por SREBP1 y SREBP2, que controlan la expresión de ese receptor³⁵. La internalización de colesterol da lugar a las células espumosas, que son uno de los constituyentes celulares característicos en las lesiones ateroscleróticas. Las células espumosas secretan a su vez citocinas proinflamatorias, factores de crecimiento, factor tisular³⁶, interferón (IFN) δ , MMP y especies reactivas de oxígeno (ROS) que man-

tienen un estímulo quimiotáctico para leucocitos adheridos al endotelio vascular, aumentan la expresión de receptores *scavenger*, promueven la replicación de macrófagos²⁶ y regulan la acumulación de CML en la íntima³⁷.

LDL Y CML

Las CML son el componente celular mayoritario en la pared vascular, por lo que tienen un papel clave en la función vascular. Las CML están implicadas tanto en la iniciación como en la progresión y la complicación de las lesiones ateroscleróticas. Las CML se caracterizan por una elevada plasticidad. Bajo el efecto de estímulos aterogénicos, las CML sufren cambios fenotípicos que conllevan su desdiferenciación y la adquisición de un fenotipo sintético. Así, las CML de fenotipo contráctil no proliferativo, típico de arterias sanas, se transforman en células que proliferan activamente (fenotipo sintético), migran atraídas por agentes quimiotácticos y tienen incrementada la síntesis de MEC. De hecho, la migración de CML de la media a la íntima vascular es un proceso clave en el desarrollo de las lesiones ateroscleróticas. Datos recientes indican que, además de la migración de CML residentes en la pared vascular desde la media a la íntima, células progenitoras circulantes provenientes de la médula ósea y células progenitoras presentes en la adventicia de los vasos también son una fuente de CML en la íntima³⁸.

Estudios funcionales con animales alterados genéticamente o cultivos celulares demuestran que ciertos componentes de la familia de los receptores relacionados con las LDL modulan la migración celular a través de procesos de señalización mediados por citocinas y la activación de proteínas³⁹.

En presencia de LDL, las CML sobreexpresan receptores como LRP-1 que, además de facilitar la internalización de LDL y la transformación de las células en espumosas²⁰, actúa como receptor de diferentes ligandos y participa en procesos de señalización. En animales hipercolesterolémicos, el análisis de ARN mensajero por hibridación *in situ* muestra un aumento de LRP-1 en la pared vascular²⁰, lo que indica que la hipercolesterolemia podría favorecer la captación de LDL por la CML debido a su capacidad de regular la cantidad de LRP-1. Además, una mayor expresión del receptor LRP-1 podría estar influyendo en otros procesos relevantes de la aterotrombosis, ya que el LRP-1 media la internalización y la degradación de complejos moleculares relevantes en la proteólisis y la fibrinólisis. Así, el LRP-1 puede interactuar directa o indirectamente con diferentes miembros de la familia de las MMP, y se ha demostrado su parti-

cipación en el catabolismo de la MMP9 en fibroblastos.

CML y MMP9 en la aterogénesis

La MMP9 es una metaloproteinasa perteneciente al grupo de las gelatinasas, que en la pared vascular se expresa en CML y macrófagos y se secreta en forma latente a la matriz extracelular, donde es activada por plasmina en un proceso mediado por el activador del plasminógeno tipo uroquinasa (UPA). La MMP9 está sobreexpresada en procesos de reestenosis y procesos de migración de las CML. Evidencias recientes demuestran⁴⁰ que la inducción de transcripción de la MMP9 por citocinas y factores de crecimiento aterogénicos está regulada por la proteína Foxo4, a través de la vía de señalización de JNK/MST1. La MMP9 es una enzima proteolítica de diferentes proteínas de la matriz extracelular como colágeno tipo IV, laminina y elastina⁴¹, que favorecen el remodelado de la pared vascular. Así, ratones apoE^{-/-} deficientes en MMP9 tienen lesiones ateroscleróticas de menor tamaño que los ratones apoE^{-/-} con expresión normal de MMP9⁴².

CML y sistema UPA/receptor del UPA (UPA/UPAR) en aterogénesis

El UPA, unido a su receptor UPAR (CD87), regula de forma directa o en un proceso mediado por la generación de plasmina los mecanismos de proteólisis pericelular que se requieren en procesos de migración y proliferación celular⁴³. Además, hay cada vez más pruebas de que el sistema UPA/UPAR cumple una función como ligando-inductor de mecanismos de señalización celular en proliferación y migración⁴⁴ (fig. 5).

La forma soluble de un miembro de la familia de receptores de las LDL, el LR11 o sorLA, altamente expresado en CML, aumenta la capacidad de migración de las CML en un proceso mediado por el aumento de expresión de UPAR. Estudios en ratones genéticamente deficientes en LR11 indican que las formas solubles de LR11 favorecen la formación de lamelopodios de las CML conformando complejos LR11-UPAR-integrinas ($\alpha v \beta 3$) y que este proceso es necesario para la adhesión y la migración de CML inducida por componentes aterogénicos como la angiotensina II⁴⁵.

En células en migración, el receptor UPAR anclado en la membrana celular se redistribuye focalmente en zonas de adhesión en la parte apical de las células, donde interactúa con diferentes integrinas de membrana. Parece que la interacción entre UPAR e integrina promueve la reorganización del citoesqueleto de actina de la célula durante los procesos de migración⁴⁶. Trabajos recientes de nuestro

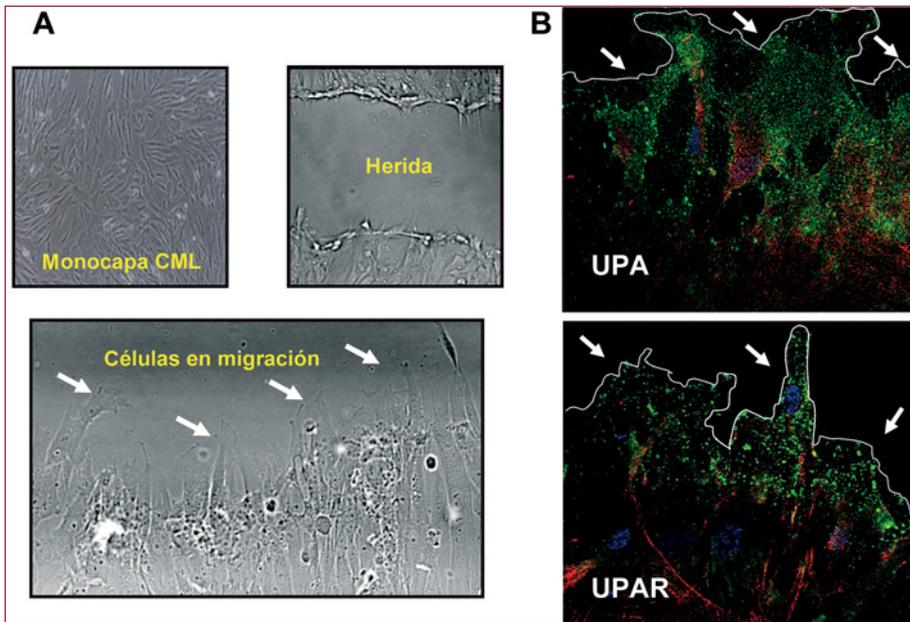


Fig. 5. Localización de UPA y UPAR en CML de coronarias humanas en migración. A: microscopía de contraste de fases que muestra células migrando hacia una zona de lesión (desprovista de células) inducida mecánicamente en una monocapa confluyente de CML humanas. B: microscopía confocal de fluorescencia para UPA y UPAR (señal verde) y actina (señal roja) en células situadas en el borde de la lesión (señalizada por flechas). Núcleos teñidos en azul con tinción azul fluorescente de Hoescht. CML: célula muscular lisa; UPA: activador del plasminógeno tipo uroquinasa; UPAR: receptor del activador del plasminógeno tipo uroquinasa.

grupo han puesto en evidencia que en presencia de concentraciones aterogénicas de LDL hay una alteración en la localización subcelular de UPA y UPAR en CML vasculares humanas en migración y su colocalización con el citoesqueleto de actina⁴⁷, lo que podría contribuir al efecto inhibitorio que las LDL han demostrado *in vitro* en la capacidad de migración de las CML vasculares humanas⁴⁸.

Las LDL modificadas (degradación enzimática) pueden favorecer *in situ* procesos inflamatorios de fase aguda mediados por las CML. Las LDL inducen en estas células la síntesis de PTX3, proteína perteneciente a la familia de las pentraxinas, a la que también pertenecen la proteína C reactiva y el amiloide P sérico⁴⁹, con lo que también contribuyen al proceso aterogénico.

PLAQUETAS Y ATEROSCLEROSIS

Componentes celulares como las plaquetas y posiblemente las células progenitoras tienen también una función relevante en la patogenia de la arteriosclerosis. Las plaquetas son corpúsculos celulares sintetizados en la médula ósea a partir de los megacariocitos. Las plaquetas carecen de ADN, pero contienen ARN mensajero derivado de los megacariocitos y la maquinaria de transcripción necesaria para la síntesis de proteínas⁵⁰. Las plaquetas, además de su bien conocida función en la trombosis y la hemostasis, contribuyen a la activación endotelial y modulan respuestas inflamatorias, con lo que favorecen el inicio y la formación de lesiones ateroescleróticas y sus posteriores complicaciones trombóticas^{51, 52}.

Efecto de las lipoproteínas en la función plaquetaria

Las alteraciones en la composición y la función plaquetarias en pacientes con hipercolesterolemia indican que las lipoproteínas circulantes afectan al fenotipo de las plaquetas⁵³. Las lipoproteínas afectan a la función plaquetaria mediante su unión a receptores específicos (como CD36, SR-B1, LOX-1)⁵⁴. Sin embargo, hasta ahora no hay suficientes evidencias de que las LDL nativas simplemente se unan a la superficie plaquetaria o se internalicen en vesículas intracelulares por un proceso de endocitosis. Las LDL nativas alteran la función plaquetaria por la activación de señales de transducción o por intercambio lipídico. Así, las LDL nativas pueden inducir la síntesis o translocación de fosfolípidos de la membrana plaquetaria o favorecer la inserción de fosfolípidos de la circulación y, en consecuencia, alterar la composición fosfolipídica de la membrana plaquetaria⁵⁵. Por el contrario, la unión de LDL oxidadas a la superficie plaquetaria induce la activación, el cambio de forma y la agregación de las plaquetas, lo que contribuye a la formación de trombos, especialmente tras la rotura de una placa⁵⁶.

Propiedades antitrombóticas del endotelio

En condiciones fisiológicas, cerca de $1,5 \times 10^{12}$ plaquetas circulan continuamente por el árbol arterial sin interactuar significativamente con la pared arterial. La carga negativa presente en las plaquetas y las glucoproteínas de la pared vascular produce un primer efecto de repulsión que evita la

interacción entre plaqueta y vaso. Además, son tres las vías principales por las que el endotelio vascular controla la reactividad plaquetaria: *a)* la vía del ácido araquidónico-prostaciclina; *b)* la vía de la L-arginina-óxido nítrico, y *c)* la vía de la ectoadenosina difosfatasa (ecto-ADPasa o CD39)⁵⁷. Las células endoteliales son capaces de convertir ácido araquidónico en prostaciclina gracias a la ciclooxigenasa (COX) 1 o la COX-2 y la sintetasa de la prostaciclina. La prostaciclina, a su vez, inhibe la función plaquetaria mediante aumento intracelular de AMP cíclico (AMPc)⁵⁸. De hecho, en nuestro grupo hemos demostrado que la inhibición selectiva de la COX-1 conlleva protección vascular por la disponible síntesis de prostaciclina a través de la COX-2 vascular⁵⁹. En cuanto a la vía del NO, una vez sintetizado por el endotelio a partir de la L-arginina, se difunde a las plaquetas y estimula la producción de GMP cíclico (GMPc). A su vez, el GMPc regula las proteinquinasas dependientes de GMPc y causa una reducción en el flujo de Ca₂⁺ intracelular. Esta disminución previene el cambio conformacional de la glucoproteína (GP) IIb/IIIa y disminuye la interacción plaqueta-plaqueta detallada más adelante⁵⁸. Finalmente, en cuanto a la ecto-ADPasa, es un componente integral de la superficie del endotelio que se activa en función de la concentración de sustrato, con lo que se limita la concentración plasmática de nucleótidos (adenosindifosfato [ADP] y adenosintrifosfato [ATP]). De este modo, la actividad de esta enzima frena la fase crítica de reclutamiento y activación plaquetarios al ir removiendo los nucleótidos en el entorno fluido⁶⁰.

Junto con estas tres vías, el endotelio ofrece otros mecanismos que permiten modular la formación del trombo al actuar, principalmente, sobre la vía de la coagulación sanguínea. Entre ellos encontramos: *a)* la vía del heparansulfato y la trombomodulina: ambos son componentes integrales del endotelio vascular y median la activación de la antitrombina III y la proteína C, respectivamente, y bloquean así la síntesis de trombina (potente agonista plaquetario), y *b)* síntesis y liberación del activador tisular del plasminógeno, que limita la estabilización del trombo al promover la degradación de la malla de fibrina.

Plaquetas y disfunción endotelial

La disfunción/activación endotelial por sí misma es capaz de inducir la adhesión de las plaquetas a la pared vascular sin la necesidad de exponer superficies más profundas del vaso (p. ej., matriz vascular) al torrente circulatorio. De hecho, la disponibilidad de nuevas herramientas de investigación *in vivo*, tales como el microscopio intravital o modelos murinos genéticamente modificados de enfermedad

cardiovascular, ha ayudado a demostrar que la desnudación endotelial no es un requisito absoluto para que se produzca la adhesión y la posterior activación plaquetaria a la pared vascular^{61,62}. Se ha postulado que los mecanismos moleculares de la activación plaquetaria en las etapas iniciales de la lesión aterosclerótica comprenden: *a)* una reducción en los mecanismos implicados en el mantenimiento de las propiedades antitrombóticas; *b)* una generación elevada de especies reactivas de oxígeno por los factores de riesgo (hipertensión, hipercolesterolemia, tabaquismo y diabetes se correlacionan con un mayor número de plaquetas activas circulantes)⁶³⁻⁶⁶, y *c)* un aumento de los mediadores pro-trombóticos y proinflamatorios tanto circulantes como inmovilizados en el endotelio⁶⁷. En este sentido, el endotelio es capaz de secretar grandes cantidades de factor de Von Willebrand (FvW) en respuesta a diversos estímulos inflamatorios, lo que promueve el reclutamiento de plaquetas.

Adhesión y activación plaquetarias

Actualmente, está bien establecido que la unión inicial (*rolling*) de las plaquetas al endotelio disfuncional está mediado, principalmente, por la unión entre la GP Ib α plaquetaria y el FvW endotelial, así como a la molécula de adhesión endotelial P-selectina⁶¹. De hecho, al igual que el FvW, la P-selectina se encuentra tanto en los gránulos alfa de las plaquetas como en los cuerpos de Weibel-Palade en las células endoteliales⁶⁸, y tras la activación celular se transloca rápidamente hacia la superficie celular, donde se mantiene expuesta durante al menos 1 h⁶⁸. De hecho, se considera que la P-selectina es un importante marcador de enfermedad vascular, dado que diversos estudios han demostrado que las plaquetas aumentan la expresión de P-selectina en su superficie a medida que evoluciona la formación de lesiones ateroscleróticas⁶⁹. Además de la expresión de FvW y P-selectina por las CE disfuncionales, el endotelio disfuncional también expresa selectinas, integrinas (molécula de adhesión vascular tipo-1 [VCAM-1]), el receptor de la vitronectina $\alpha v\beta 3$ y la molécula de adhesión del endotelio celular y plaquetaria (PECAM-1), las cuales favorecen la adhesión de las plaquetas a la pared vascular.

Tras el daño vascular, la dinámica del depósito plaquetario y la consiguiente formación del trombo se regulan localmente por: *a)* el grado de estenosis; *b)* el tipo de lesión, y *c)* la composición de la placa aterosclerótica^{70,71}. La fisura o rotura de una placa aterosclerótica en las arterias coronarias, ya sea de manera espontánea o inducida (intervenciones de revascularización), con la consiguiente formación del trombo, es fundamental para el desarrollo de

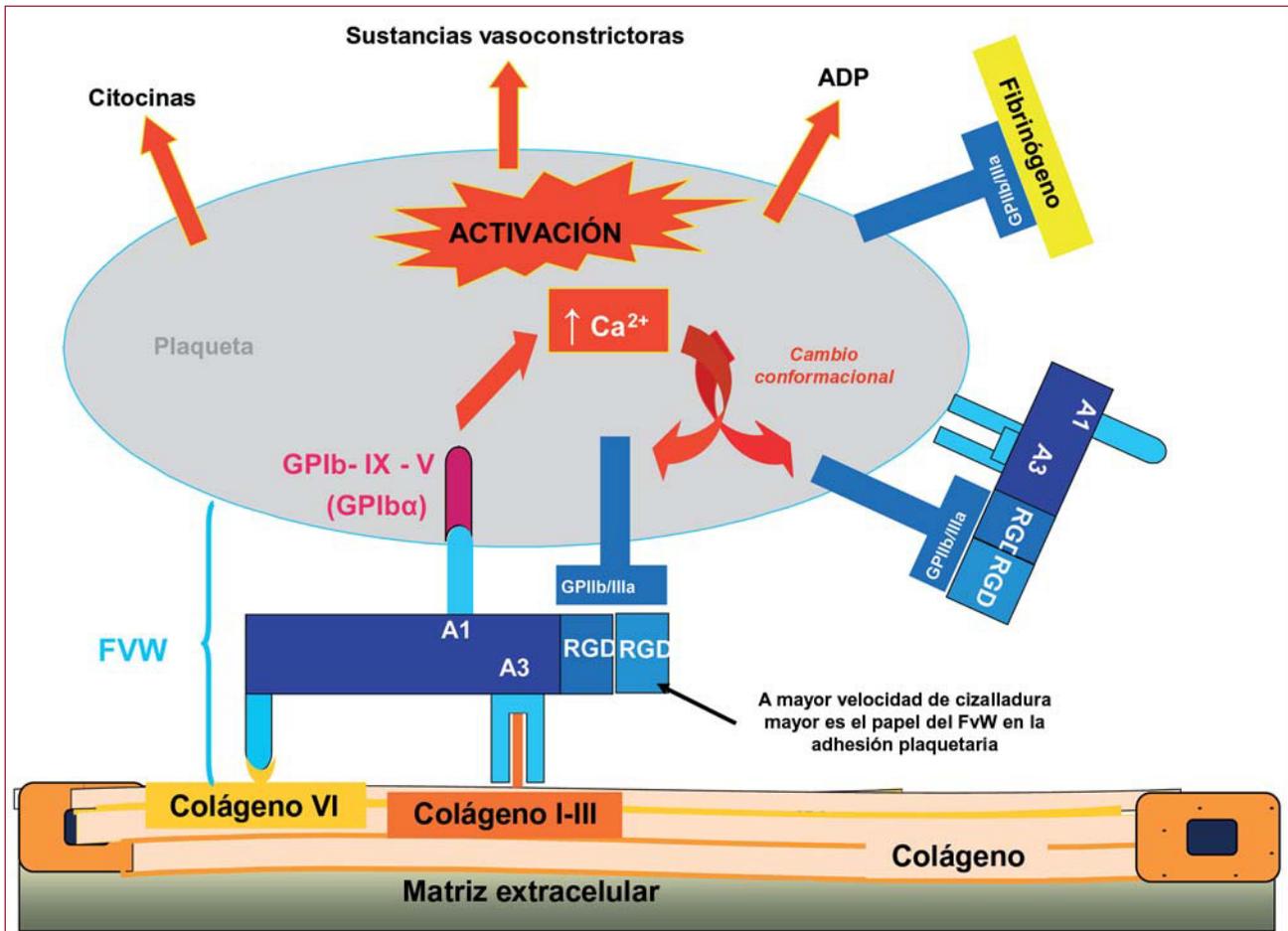


Fig. 6. Diagrama que ilustra el papel del factor de Von Willebrand (FvW) en la adhesión plaquetaria. Altas velocidades de flujo inducen cambios conformacionales del FvW que permiten la interacción de su dominio A3 con el colágeno de la matriz. Esto induce un cambio conformacional en su dominio A1, lo que permite que éste interactúe con el receptor plaquetario de la glucoproteína (GP) Ib-IX-V. Esta interacción estimula la liberación de calcio, la posterior activación plaquetaria y el consiguiente cambio conformacional del receptor del fibrinógeno (GPIIb/IIIa), que ya puede interactuar con el fibrinógeno o el FvW para favorecer la interacción entre plaquetas (proceso de agregación plaquetaria). ADP: adenosindifosfato; RGD: secuencias de aminoácidos Arg-Gly-Asp.

los síndromes isquémicos agudos, como ha sido plenamente demostrado en estudios de tejidos de pacientes que murieron repentinamente o poco después de un episodio de angina inestable o de infarto de miocardio⁷². En pacientes asintomáticos y aquellos con angina estable, la organización de dicho trombo es importante en la progresión de la arteriosclerosis. La rotura de la placa aterosclerótica expone componentes de la matriz vascular (p. ej., diferentes tipos de colágenos, FvW, fibronectina, laminina, fibulina y tromboespondina)⁷³ al torrente circulatorio que favorecen la interacción entre plaqueta y pared vascular. El FvW plasmático es fundamental en la formación del trombo a velocidades de cizalladura elevadas (> 650/s), típicas de vasos de calibre medio o de mayor tamaño parcialmente ocluidos. Esto se debe, principalmente, a que las condiciones de alta velocidad de flujo inducen un cambio conformacional del FvW, que permite ex-

poner los dominios A3 de sus multímeros al colágeno vascular (colágeno tipo I y tipo III en las capas vasculares más profundas y colágeno tipo VI en capas subendoteliales). Esta unión con el colágeno induce, por un lado, un cambio conformacional del FvW en su dominio A1, lo que permite la interacción con el receptor GPIb α del complejo GPIb/IX/V plaquetario y, por otro, permite la interacción del dominio Arg-Gly-Asp (RGD) del FvW con el receptor plaquetario del tipo GPIIb/IIIa (integrina α IIB β 3)⁷⁴⁻⁷⁶ (fig. 6). Sin embargo, la alta velocidad de disociación existente entre el FvW y la GPIb/V/IX hace que estas uniones no puedan proveer una unión estable entre las plaquetas y la matriz subendotelial⁷⁷. En contraste con la GPIb/V/IX, el receptor plaquetario GPVI se une directamente al colágeno e induce una activación de otros receptores de adhesión tales como las integrinas α IIB β 3 (GPIIb/IIIa) y la α IIB β 1. Ambas actúan en concierto

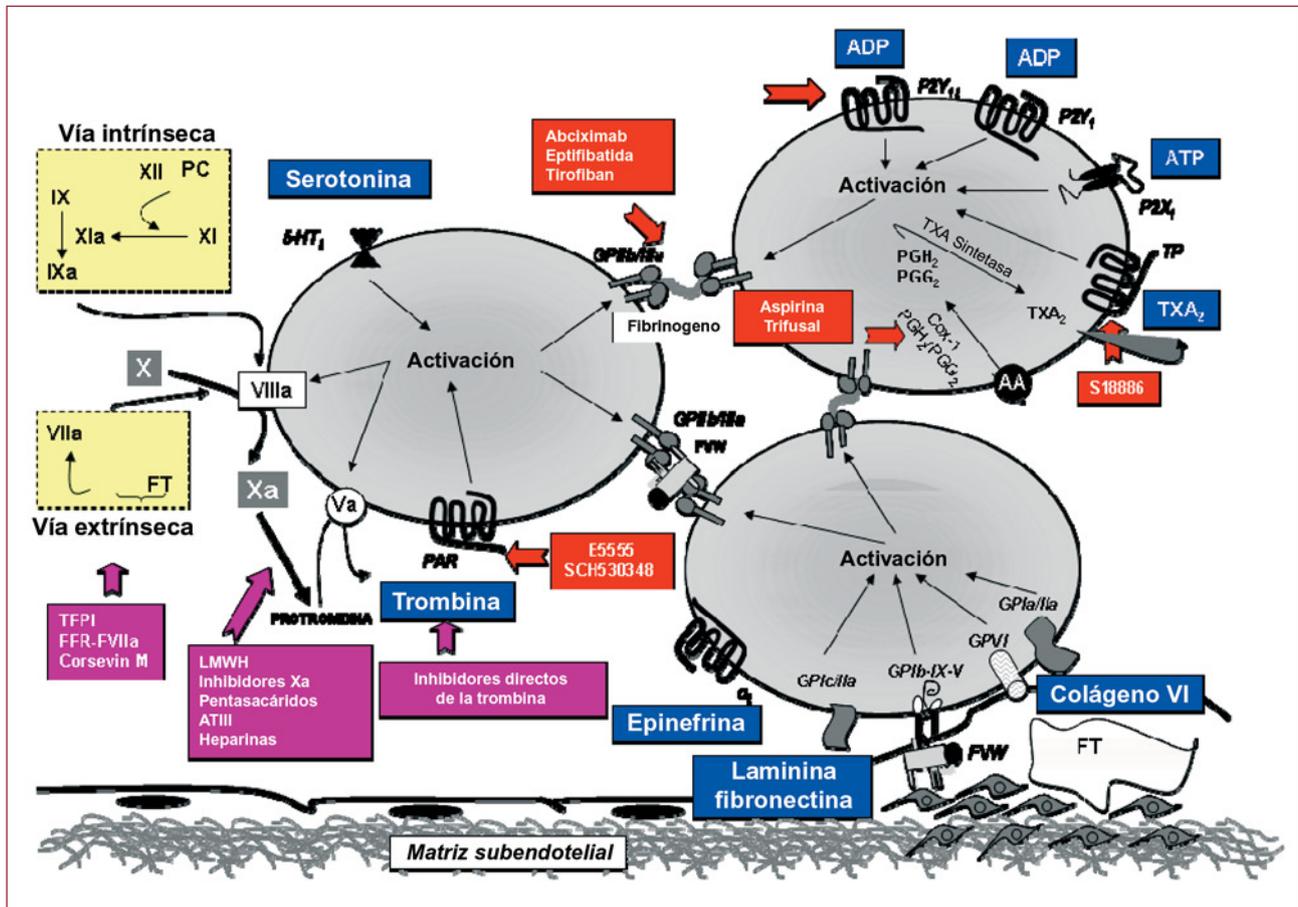


Fig. 7. Representación esquemática de las principales vías de activación plaquetaria y dianas terapéuticas. AA: ácido araquidónico; ADP: adenosindifosfato; ATP: adenosintrifosfato; FvW: factor de von Willebrand; PAR: receptor activado por proteasas; PG: prostaglandina; PKA: proteincinasa tipo A; TP: receptor del tromboxano; TXA₂: tromboxano A₂.

para promover una unión firme, estable e irreversible de las plaquetas al endotelio vascular^{78,79}, ya sea mediante la unión directa con el colágeno (α IIb β 1) o con el dominio C1 del FvW (α IIb β 3)⁷⁷.

A baja velocidad de cizalladura, la función de adhesión plaquetaria la realiza principalmente el receptor del colágeno que se enlaza directamente al receptor plaquetario GPIIa-IIa (integrina α 2 β 1)⁸⁰. Aunque en menor grado, también contribuyen la fibronectina, la laminina, la vitronectina y la trombospondina, al enlazarse a la GPIc-IIa, GP Ic'-IIa, a los receptores para la vitronectina y la GPIV, respectivamente.

Cabe destacar que la presencia de agentes circulantes tales como epinefrina, trombina, tromboxano A₂ (TXA₂) y ADP (liberado por eritrocitos hemolizados) también produce la activación plaquetaria a través de receptores plaquetarios específicos. En definitiva, se puede considerar que el colágeno y el FvW son los agonistas primarios en el proceso de activación-adhesión plaquetaria, que después el ADP liberado por los eritrocitos hemolizados en el área de la lesión vascular y la interacción con varios

agonistas circulantes con sus receptores plaquetarios (fig. 7) favorecen y potencian.

Plaquetas y monocitos/macrófagos

Hay evidencia de que las plaquetas, al igual que los eritrocitos, penetran en la placa aterosclerótica a través de la rotura de capilares angiogénicos⁸¹. En zonas de daño endotelial, la estrecha interacción entre plaquetas y monocitos favorece la diferenciación de éstos a macrófagos y su transformación en células cebadas. A partir de estudios *in vitro*, se ha señalado que las plaquetas activadas pueden liberar colesterol, que sería internalizado por CML y macrófagos y almacenado en forma de gotas lipídicas⁸². Se ha descrito que las plaquetas inducen también la formación de células espumosas (CD68+) a partir de células progenitoras positivas para CD34. Evidencias recientes demuestran que este proceso puede prevenirse, al menos en parte, mediante inhibidores de la HMG-CoA reductasa y agonistas de los receptores *peroxisome proliferator-activated*⁸³.

Una vía alternativa de formación de células cebadas sería la fagocitosis de plaquetas por macrófagos residentes en la íntima vascular, teoría postulada hace ya cuatro décadas⁸⁴ confirmada recientemente mediante estudios *in vitro* que demuestran que la fagocitosis de plaquetas por macrófagos murinos resulta en la formación de macrófagos saturados de lípidos.

LIPOPROTEÍNAS Y ATERTROMBOSIS

El mecanismo de la transformación brusca de una afección vascular estable en otra que pone en riesgo la vida del paciente suele ser la desestabilización de la placa con la superposición de procesos trombóticos que dan lugar a las manifestaciones clínicas⁸⁵. El riesgo de rotura de la placa aterosclerótica depende más de su composición y su vulnerabilidad (tipo de placa) que del grado de estenosis (tamaño de la placa). Diferentes estudios han revelado que más de un 75% de los infartos de miocardio ocurren en áreas donde las arterias coronarias presentan estenosis moderada (< 50%).

Características de las placas vulnerables

Los factores predominantes que afectan a la estabilidad de las placas ateroscleróticas son su composición celular y la proporción entre MEC y concentración lipídica. Las placas inestables y con alto riesgo de rotura contienen un importante núcleo lipídico, rico en ésteres de colesterol y pobre en colágeno, y un reducido número de CML, además de inflamación dentro de la cápsula, un elevado grado de neovascularización y fatiga. Mientras que en lesiones iniciales las CML representan un 90-95% del componente celular, la proporción decae hasta el 50% en las placas ateroscleróticas avanzadas⁸⁶. Estos datos indican la importancia de identificar y elucidar los mecanismos celulares que conllevan pérdida de CML en lesiones avanzadas, lo que podría favorecer el diseño de nuevas estrategias terapéuticas.

Las concentraciones aterogénicas de LDL reducen significativamente la capacidad de migración de CML vasculares humanas⁴⁸. Mediante técnicas de análisis proteómico y microscopía confocal, recientemente nuestro grupo ha puesto de manifiesto que las LDL alteran la expresión y el perfil fenotípico de diferentes proteínas asociadas al citoesqueleto de las CML, especialmente de la cadena ligera de la miosina, tanto la isoforma esencial como la regulatoria, y además inducen una desfosforilación de ésta y una alteración en su localización subcelular⁴⁸. La fosforilación de la cadena ligera regulatoria de la miosina (MRLC) es un evento clave para la formación de complejos de actina-miosina du-

rante la migración celular y dinámica de formación de fibras de actina. Este proceso está regulado también por proteínas como la gelsolina y la chaperona HSP27, cuyos perfiles proteómicos se modifican en CML expuestas a concentraciones aterogénicas de LDL⁸⁷. Además, la internalización de LDL por las CML induce una disminución en la actividad de la MMP9⁸⁸, lo que también podría estar potenciando el efecto inhibitorio de la migración de CML que las LDL tienen y con ello contribuir a la inestabilidad y la vulnerabilidad de las placas en avanzado desarrollo.

Típicamente, las placas con una capa fibrosa delgada cubriendo el núcleo lipídico y un alto contenido en factor tisular (FT)³⁶ son las de mayor capacidad de rotura e inducción de trombosis⁸⁹. La proximidad del FT y las áreas ricas en lípidos en las lesiones ateroscleróticas avanzadas indican que las LDL están implicadas en la expresión celular de FT. En apoyo de esta hipótesis, se ha demostrado que las lipoproteínas modificadas afectan a la expresión y la actividad de FT en CML. Schecter et al⁹⁰ han propuesto que las CML tienen la capacidad de secretar micropartículas ricas en FT por un mecanismo independiente de los procesos de apoptosis celular. De hecho, hay evidencias de un aumento de micropartículas circulantes ricas en FT en pacientes con síndromes coronarios agudos y en pacientes con síndrome metabólico⁹¹.

Nuestro grupo ha demostrado que la interacción entre LRP-1 y LDL agregadas es uno de los mecanismos que inducen la expresión de FT, en un proceso que depende de la translocación de RhoA a membrana⁹² y la liberación de micropartículas enriquecidas en FT activo a la matriz extracelular⁹³.

Juntamente con las CML, los macrófagos son la otra fuente importante de FT en la pared arterial. La expresión de FT en monocitos parece estar regulada por PPAR α ⁹⁴. Las diferencias en los mecanismos de activación y secreción de FT en CML y macrófagos parecen depender de su distribución en la membrana plasmática. Así, el FT en CML se localiza preferentemente en las caveolas, mientras que en monocitos/macrófagos se encuentra prioritariamente en áreas enriquecidas en clatrina⁹⁵.

AGREGACIÓN PLAQUETARIA Y ATERTROMBOSIS

Una vez activadas, las plaquetas sufren un cambio conformacional y reorganización y liberación del Ca₂⁺ intraplaquetario que gran parte originan los procesos de activación plaquetaria, tales como:

- La desgranulación plaquetaria. Ésta incluye la exocitosis del contenido de los gránulos alfa y los

gránulos densos y lisosomales. ADP, serotonina y calcio liberado de los gránulos densos son clave en la función plaquetaria y el reclutamiento de nuevas plaquetas^{96,97}. Concretamente, el ADP tiene un efecto autocrino, pues promueve una agregación plaquetaria estable al interactuar con receptores específicos del ADP presentes en la superficie de las plaquetas (P2Y₁ y P2Y₁₂), pero también tiene efecto paracrino al unirse con receptores de ADP en plaquetas vecinas, lo que amplifica el proceso de activación plaquetaria inducido por otros agonistas. La liberación de los factores de crecimiento de los gránulos alfa inicia la reparación vascular y las citocinas (gránulos alfa), y las enzimas lisosomales (gránulos lisosomales) constituyen el vínculo con la respuesta inmunitaria.

– Síntesis de eicosanoides. La fosfolipasa A₂ inicia la vía de activación del ácido araquidónico, que se convierte en TXA₂ en una reacción catalizada por COX-1 (para formar prostaglandina G₂/H₂) y tromboxano sintetasa (para formar TXA₂)⁹⁸. El TXA₂ se libera a la circulación, donde se une a los receptores del TXA (receptores TP) en la superficie de plaquetas adyacentes y/o células inflamatorias circulantes y presentes en la placa aterosclerótica, lo que amplifica y perpetúa el proceso aterotrombótico. De hecho, hemos demostrado que el bloqueo de los receptores TP se asocia a una marcada reducción del riesgo de trombosis inducida por *stent* intravascular⁹⁹, además de sus ya descritas propiedades de inducir la regresión de la placa aterosclerótica vulnerable¹⁰⁰.

– Expresión de proteínas de adhesión. Se produce la translocación a la superficie de diversas proteínas de adhesión presentes en los gránulos alfa plaquetarios (P-selectina, GPIIb/IIIa, FvW, trombospondina, fibrinógeno, fibronectina y vitronectina) que amplifican y perpetúan el proceso de adhesión plaquetaria y causan la interacción plaquetaria con células blancas.

– Exposición de una superficie plaquetaria procoagulante. Se produce un cambio drástico de la morfología (membrana) de las plaquetas, de un disco liso a una esfera espinosa, hecho que favorece la exposición en la membrana externa de componentes fosfolipoproteínicos ricos en fosfatidilserina. Ésta facilita la unión y la activación de los factores de la coagulación y la formación de trombina (potente agonista plaquetario)¹⁰¹, que amplifica el efecto activador inicial del colágeno y la activación, la liberación y el reclutamiento de las plaquetas. Todo ello produce la formación de eicosanoides y la aparición de filamentos de fibrina, inicialmente en la porción exterior del trombo plaquetario, pero también en los intersticios entre las plaquetas adheridas. El enlace de la trombina a la fibrina o a la pared arterial enmascara receptores en la trombina

para la antitrombina III, la heparina y el cofactor II, de modo que este trombo mural actúa como un potente estímulo trombogénico —dependiente de trombina y relativamente resistente a la heparina— que favorece el crecimiento del trombo¹⁰².

Independientemente del estímulo que produce la activación plaquetaria, ésta se regula en su vía final por la activación del receptor plaquetario de GPIIb/IIIa. El receptor de la GPIIb/IIIa es la proteína más abundante en la superficie plaquetaria y está compuesto por dos unidades proteínicas (IIb y IIIa). La activación de este receptor supone un cambio conformacional en las dos subunidades, de modo que exponen el dominio de unión para diversos ligandos. El fibrinógeno (de origen plasmático o plaquetario) es la proteína que se une mayoritariamente al dominio de unión del receptor de GPIIb/IIIa y su estructura dimerica permite su interacción con dos plaquetas simultáneamente, lo que favorece la agregación plaquetaria. Existen otros ligandos de la GPIIb/IIIa que también participan, aunque en menor grado, en la interacción entre plaquetas, como el FvW, la fibronectina, la vitronectina y el CD40 ligando¹⁰³.

En la fase final de la formación del trombo, el fibrinógeno se convierte a fibrina por la trombina, y esto conduce a la estabilización de la agregación plaquetaria⁷⁷. Además, se produce la activación de la vía de señalización de dentro afuera, lo que causa una amplificación de la señal inicial y más activación y reclutamiento plaquetarios. Esto forma una masa que se expande y continúa reclutando más plaquetas a medida que éstas alcanzan el microambiente protrombótico. También se produce el reclutamiento de otras células hemáticas; con frecuencia se encuentran eritrocitos, neutrófilos y, algunas veces, monocitos que llegan intactos a la zona de la lesión, pero responden a la presencia de los componentes de secreción de la plaqueta.

ACTIVACIÓN DE LA CASCADA DE COAGULACIÓN

Uno de los eventos tempranos tras la rotura vascular es la activación de la cascada de la coagulación (fig. 8). Múltiples evidencias científicas sustentan un papel fundamental para el FT como potente agente inductor de la cascada de la coagulación; en particular, el FT expresado en células espumosas presentes en el núcleo lipídico de las lesiones ateroscleróticas¹⁰⁴⁻¹⁰⁷. Además del FT, tanto las plaquetas activadas como el endotelio disfuncional tienen importante papel trombogénico promoviendo la cascada de la coagulación, con la consiguiente formación de fibrina. De hecho, el endotelio disfuncional cambia su fenotipo anticoa-

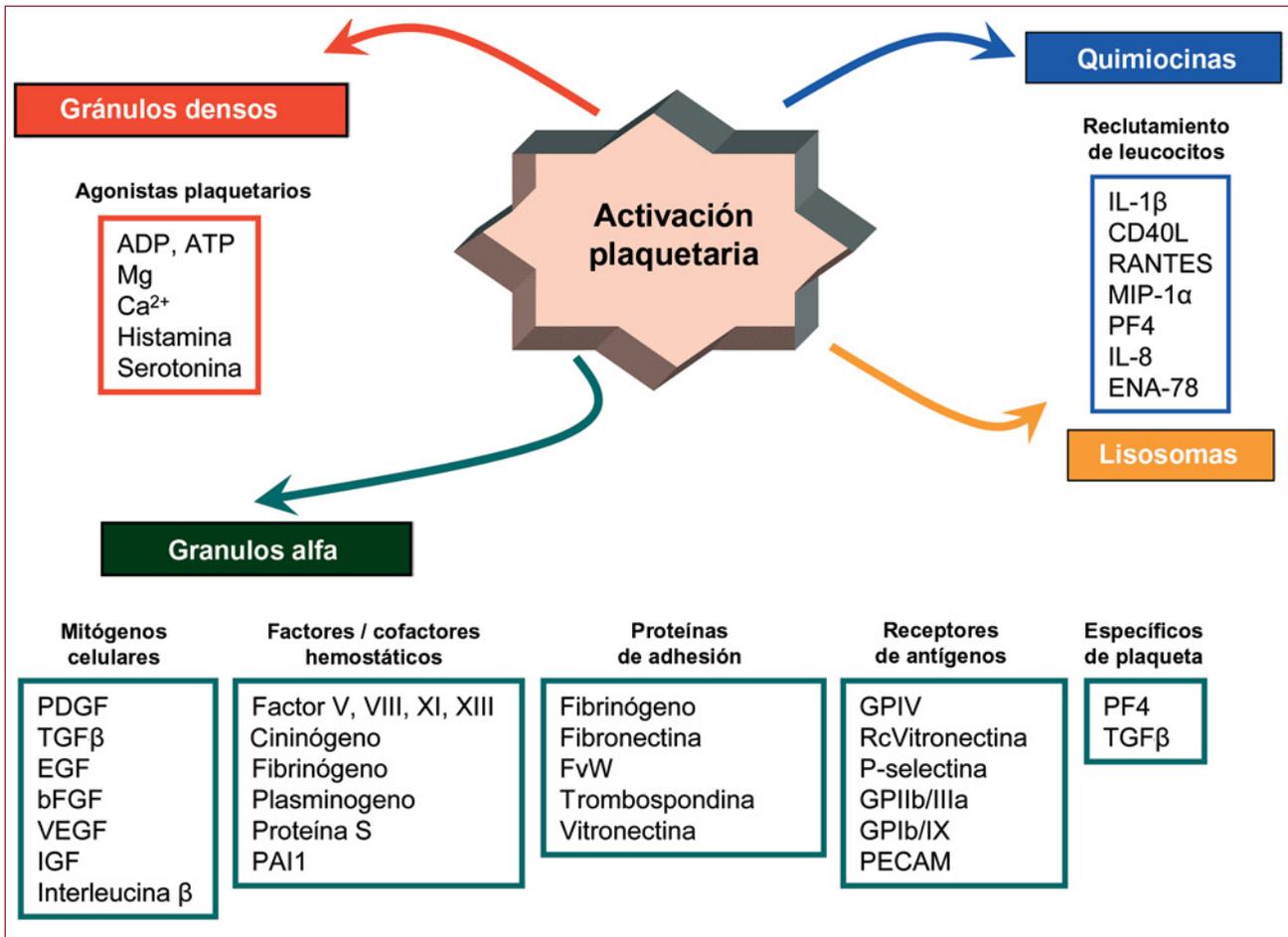


Fig. 8. Esquema de los componentes plaquetarios involucrados en la cascada de la coagulación y en el proceso ateroesclerótico. ADP: adenosindifosfato; bFGF: factor de crecimiento de fibroblastos; EGF: factor de crecimiento endotelial; ENA: péptido activador de células epiteliales derivado de neutrófilos; FvW: factor de von Willebrand; GP: glucoproteínas; IGF: factor insulinoide de crecimiento; IL: interleucina; MIP-1: proteína de inflamación derivada de macrófagos; PAI-1: inhibidor del plasminógeno tipo 1 activado; PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas; PECAM: molécula de adhesión del endotelio celular y plaquetario; PF4: factor plaquetario 4; TGFβ: factor beta de crecimiento transformador; VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular.

gulante a uno procoagulante¹⁰⁸ a la vez que las plaquetas exponen en su superficie cofactores que permiten catalizar la formación de trombina a partir de protrombina, el resultado final de la activación de la cascada de la coagulación y la consiguiente formación de trombina, un potente agonista plaquetario e importante componente en la patogenia del proceso aterotrombótico. La señalización de trombina se produce a través de los cuatro receptores activadores de proteinasas¹⁰⁹ presentes en la superficie de diversos tipos celulares en las lesiones ateroescleróticas. Concretamente, PAR1 y PAR2 están presentes en las CML y favorecen su proliferación; PAR1, PAR2 y PAR4 están presentes en los macrófagos e inducen las vías de inflamación, y PAR1 y PAR4 están presentes en las plaquetas humanas y su señalización culmina en la activación del receptor del fibrinógeno. Por ello, la trombina, a través de los PAR, influye en una gran variedad de respuestas que favorecen el desarrollo de las lesiones ateroescleróticas¹¹⁰. La activación de estos re-

ceptores se lleva a cabo mediante un proceso proteolítico, a saber, la unión de la trombina con PAR produce una escisión del segmento aminoterminal del receptor que genera nuevas cadenas aminoácidas terminales (SFLLRN para PAR1 y GYPGKF para PAR4), que después estimulan otras regiones del receptor¹¹¹.

En resumen, el receptor del fibrinógeno no sólo se activa a través de los receptores endoteliales o del colágeno GPIIb/IX/V y GPVI, sino también de receptores acoplados a proteínas G tales como la trombina (PAR1, PAR4) o los receptores del ADP (P2Y₁, P2Y₁₂), los cuales potencian la agregación plaquetaria dependiente de la GPIIb/IIIa, así como la consiguiente formación de trombo.

MICROPARTÍCULAS DERIVADAS DE PLAQUETAS (MPp)

Múltiples evidencias en los últimos años indican que el papel de las plaquetas en la ateroesclerosis y

sus complicaciones trombóticas pueden estar mediadas, en parte, por la secreción de MPp (microvesículas plaquetarias formadas durante el proceso de activación plaquetaria)^{112,113}.

Se han descrito elevadas concentraciones de MPp circulantes en pacientes con aterosclerosis, síndromes vasculares agudos y/o diabetes mellitus¹¹², lo que indicaría correlación entre la cantidad de micropartículas (MP) y la severidad clínica de la enfermedad aterosclerótica¹¹⁴.

Aunque en la sangre se encuentran MP formadas a partir de diferentes tipos celulares (leucocitos, eritrocitos y células vasculares endoteliales y de músculo liso), el mayor número de MP circulantes es de origen plaquetario. Las MP presentan una carga proteínica derivada de la célula madre de la que provienen, contienen proteínas tanto de la membrana plasmática como de la zona citoplásmica situada en la vecindad de la parte de la célula donde se formaron. Así, las MPp presentan en su superficie una multitud de receptores de adhesión plaquetaria y quimiocinas (tales como P-selectina, GPIIb/IIIa y GPIb α , entre otros), los cuales no sólo inducen la producción de citocinas por los monocitos circulantes y el endotelio¹¹⁵, sino también un aumento en la agregación y el reclutamiento de leucocitos a través de interacciones dependientes de P-selectina y su ligando PSGL-1¹¹⁶. Del mismo modo, las MPp pueden adherirse al endotelio activado, potenciar así la adhesión de leucocitos mediante un incremento en la expresión de la molécula de adhesión ICAM-1¹¹⁷ y aumentar el ambiente inflamatorio por la producción de interleucinas (IL-1, IL-6 e IL-8)¹¹⁸. Es más, se ha señalado que las MPp circulantes podrían servir como módulos de transferencia celular de diversos mediadores proinflamatorios y receptores plaquetarios¹¹⁹. De ahí que altas concentraciones de MPp no reflejen exclusivamente un epifenómeno de activación plaquetaria, sino también se debe considerar que son un sistema de transporte y liberación transcelular. Las MPp generadas *ex vivo* causan contracción vascular *in vivo*, ya que inducen una concentración local elevada de TXA₂ en una arteria¹²⁰. Aunque actualmente las MP circulantes tienen un reducido potencial pronóstico, los resultados disponibles hasta ahora indican que la caracterización de su origen y su composición proteínica puede ser una herramienta valiosa para determinar el riesgo cardiovascular incluso en pacientes sin manifestaciones clínicas.

TRATAMIENTOS HIPOLIPEMIANTES Y RIESGO DE TROMBOSIS

Diversos ensayos clínicos han demostrado la importancia de la reducción del colesterol de las LDL mediante la administración de inhibidores de la

3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (estatinas) para la prevención primaria y secundaria de las enfermedades cardiovasculares^{121,122}, efecto que se extiende a los pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigótica¹²¹⁻¹²³. Los resultados obtenidos en el ensayo clínico ASTEROID (A Study to Evaluate the Effect of Rosuvastatin on Intravascular Ultrasound-Derived Coronary Atheroma Burden)¹²⁴ han puesto de manifiesto, mediante análisis por ecografía intravascular (IVUS), que un tratamiento hipolipemiante agresivo es capaz de hacer que remita la placa aterosclerótica coronaria ya establecida. Es más, actualmente, se está llevando a cabo un estudio multicéntrico¹²⁵ que permitirá, mediante IVUS combinada con histología virtual, evaluar si dicha regresión también se asocia a cambios en su composición y una mayor estabilidad de la placa de ateroma. A pesar de todo ello, algunos ensayos clínicos muestran que los beneficios derivados del tratamiento con estatinas son en gran medida independientes de la reducción basal de colesterol de las LDL, lo que plantea la posibilidad de efectos clínicamente beneficiosos más allá de la reducción del colesterol de las LDL¹²⁶. De hecho, se ha demostrado que las estatinas tienen propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y anti-trombóticas¹²⁷⁻¹³⁰. En ese contexto, hemos demostrado que la cantidad de colesterol regula la reactividad plaquetaria¹³⁰. Es más, estudios preliminares realizados en pacientes hipercolesterolémicos con enfermedad coronaria estable han mostrado que el tratamiento con pravastatina se asocia a una marcada reducción en la formación del trombo y mejora del perfil fibrinolítico¹³¹. En este mismo contexto, hemos demostrado en pacientes con hipercolesterolemia familiar una notable y persistente mejoría de la función endotelial tras el tratamiento con simvastatina¹³². Los mecanismos que subyacen a estos efectos tromboprotectores quedan aún por dilucidar, aunque hemos realizado estudios *in vitro*¹³⁰ e *in vivo*^{133,134} que vinculan una menor reactividad plaquetaria con una reducción en la activación de RhoA (una pequeña proteína de la familia de las Rho GTPasas involucrada en la reorganización del citoesqueleto plaquetario), así como con una menor expresión del FT en la pared vascular^{133,134}. La relevancia de la inhibición de la HMGCoA reductasa para la normalización y la estabilización del sistema cardiovascular queda reflejada en dos recientes contribuciones científicas. Por una parte, se ha demostrado que la administración de rosuvastatina tras la reperusión de corazón isquémico, en un modelo experimental muy parecido a los humanos, induce menor lesión en el miocardio y mejoría en su capacidad de contracción¹³⁵. En el estudio Efficacy of Atorvastatin Reload in Patients on Chronic Statin Therapy Undergoing Percu-

taneous Coronary Intervention (ARMYDA-RECAPTURE), se ha demostrado que una dosis de carga de atorvastatina antes de la revascularización coronaria (80 mg 12 h antes seguida de 40 mg en el inicio del procedimiento) en pacientes ya tratados con estatinas mejora los eventos clínicos resultantes¹³⁶.

BIBLIOGRAFÍA

1. Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, Anand S. Global burden of cardiovascular diseases: Part I: General considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. *Circulation*. 2001;104:2746-53.
2. Gleissner CA, Leitinger N, Ley K. Effects of native and modified low-density lipoproteins on monocyte recruitment in atherosclerosis. *Hypertension*. 2007;50:276-83.
3. Llorente-Cortes V, Badimón L. LDL receptor-related protein and the vascular wall: Implications for atherothrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:497-504.
4. Michiels C. Endothelial cell functions. *J Cell Physiol*. 2003;196:430-43.
5. Khazaei M, Moien-Afshari F, Laher I. Vascular endothelial function in health and diseases. *Pathophysiology*. 2008;15:49-67.
6. Kato H. Regulation of functions of vascular wall cells by tissue factor pathway inhibitor: Basic and clinical aspects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:539-48.
7. Orr AW, Stockton R, Simmers MB, Sanders JM, Sarembock IJ, Blackman BR, et al. Matrix-specific p21-activated kinase activation regulates vascular permeability in atherogenesis. *J Cell Biol*. 2007;176:719-27.
8. Fryer BH, Wang C, Vedantam S, Zhou GL, Jin S, Fletcher L, et al. CGMP-dependent protein kinase phosphorylates p21-activated kinase (pak) 1, inhibiting pak/nck binding and stimulating pak/vasodilator-stimulated phosphoprotein association. *J Biol Chem*. 2006;281:11487-95.
9. Bevilacqua MP, Pober JS, Majeau GR, Fiers W, Cotran RS, Gimbrone MA Jr. Recombinant tumor necrosis factor induces procoagulant activity in cultured human vascular endothelium: Characterization and comparison with the actions of interleukin 1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986;83:4533-7.
10. De Caterina R MC. Inflammation in early atherogenesis: Impact of ace inhibition. *Eur Heart J*. 2003;5 Suppl A:A15-24.
11. Chadjichristos CE, Kwak BR. Connexins: New genes in atherosclerosis. *Ann Med*. 2007;39:402-11.
12. Georgescu A, Alexandru N, Constantinescu E, Popov D. Effect of gap junction uncoupler heptanol on resistance arteries reactivity in experimental models of diabetes, hyperlipemia and hyperlipemia-diabetes. *Vascul Pharmacol*. 2006;44:513-8.
13. Vidal F, Colome C, Martínez-González J, Badimón L. Atherogenic concentrations of native low-density lipoproteins down-regulate nitric-oxide-synthase mrna and protein levels in endothelial cells. *Eur J Biochem*. 1998;252:378-84.
14. Liao JK, Shin WS, Lee WY, Clark SL. Oxidized low-density lipoprotein decreases the expression of endothelial nitric oxide synthase. *J Biol Chem*. 1995;270:319-24.
15. Pritchard KA Jr, Groszek L, Smalley DM, Sessa WC, Wu M, Villalon P, et al. Native low-density lipoprotein increases endothelial cell nitric oxide synthase generation of superoxide anion. *Circ Res*. 1995;77:510-8.
16. Cai H. Nad(p)h oxidase-dependent self-propagation of hydrogen peroxide and vascular disease. *Circ Res*. 2005;96:818-22.
17. Schmidt TS, Alp NJ. Mechanisms for the role of tetrahydrobiopterin in endothelial function and vascular disease. *Clin Sci (Lond)*. 2007;113:47-63.
18. Oorni K, Pentikainen MO, Ala-Korpela M, Kovanen PT. Aggregation, fusion, and vesicle formation of modified low density lipoprotein particles: Molecular mechanisms and effects on matrix interactions. *J Lipid Res*. 2000;41:1703-14.
19. Camejo G, Hurt-Camejo E, Wiklund O, Bondjers G. Association of apo b lipoproteins with arterial proteoglycans: Pathological significance and molecular basis. *Atherosclerosis*. 1998;139:205-22.
20. Llorente-Cortes V, Otero-Vinas M, Sanchez S, Rodriguez C, Badimón L. 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*. 2002;106:3104-10.
21. Barnes MJ, Farndale RW. Collagens and atherosclerosis. *Exp Gerontol*. 1999;34:513-25.
22. Rekhter MD. Collagen synthesis in atherosclerosis: Too much and not enough. *Cardiovasc Res*. 1999;41:376-84.
23. Llorente-Cortes V, Martínez-González J, Badimón L. LDL receptor-related protein mediates uptake of aggregated ldl in human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:1572-9.
24. Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M, Kamada N, Kataoka M, Jishage K, et al. The multiple roles of macrophage scavenger receptors (MSR) in vivo: Resistance to atherosclerosis and susceptibility to infection in msr knockout mice. *J Atheroscler Thromb*. 1997;4:1-11.
25. Saad AF, Virella G, Chassereau C, Boackle RJ, Lopes-Virella MF. OxLDL immune complexes activate complement and induce cytokine production by monomac 6 cells and human macrophages. *J Lipid Res*. 2006;47:1975-83.
26. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*. 2002;420:868-74.
27. Horstman LL, Jy W, Jiménez JJ, Ahn YS. Endothelial microparticles as markers of endothelial dysfunction. *Front Biosci*. 2004;9:1118-35.
28. Kinlay S, Libby P, Ganz P. Endothelial function and coronary artery disease. *Curr Opin Lipidol*. 2001;12:383-9.
29. Csiszar A, Wang M, Lakatta EG, Ungvari Z. Inflammation and endothelial dysfunction during aging: Role of nf-kappab. *J Appl Physiol*. 2008;105:1333-41.
30. Mine S, Tabata T, Wada Y, Fujisaki T, Iida T, Noguchi N, et al. Oxidized low density lipoprotein-induced lfa-1-dependent adhesion and transendothelial migration of monocytes via the protein kinase c pathway. *Atherosclerosis*. 2002;160:281-8.
31. Simionescu M. Implications of early structural-functional changes in the endothelium for vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:266-74.
32. Buton X, Mamdouh Z, Ghosh R, Du H, Kuriakose G, Beatini N, et al. Unique cellular events occurring during the initial interaction of macrophages with matrix-retained or methylated aggregated low density lipoprotein (LDL). Prolonged cell-surface contact during which ldl-cholesteryl ester hydrolysis exceeds ldl protein degradation. *J Biol Chem*. 1999;274:32112-21.
33. Kruth HS. Sequestration of aggregated low-density lipoproteins by macrophages. *Curr Opin Lipidol*. 2002;13:483-8.
34. Morita SY, Kawabe M, Sakurai A, Okuhira K, Vertut-Doi A, Nakano M, et al. Ceramide in lipid particles enhances heparan sulfate proteoglycan and low density lipoprotein receptor-related protein-mediated uptake by macrophages. *J Biol Chem*. 2004;279:24355-61.
35. Llorente-Cortes V, Royo T, Otero-Vinas M, Berrozpe M, Badimón L. Sterol regulatory element binding proteins downregulate ldl receptor-related protein (lrp1) expression and lrp1-mediated aggregated ldl uptake by human macrophages. *Cardiovasc Res*. 2007;74:526-36.

36. Butt E, Gambaryan S, Gottfert N, Galler A, Marcus K, Meyer HE. Actin binding of human lim and sh3 protein is regulated by cgmmp- and camp-dependent protein kinase phosphorylation on serine 146. *J Biol Chem.* 2003;278:15601-7.
37. Schwartz D, Peterson OW, Mendonca M, Satriano J, Lortie M, Blantz RC. Agmatine affects glomerular filtration via a nitric oxide synthase-dependent mechanism. *Am J Physiol.* 1997;272:F597-601.
38. Han CI, Campbell GR, Campbell JH. Circulating bone marrow cells can contribute to neointimal formation. *J Vasc Res.* 2001;38:113-9.
39. Ulrich P, Cerami A. Protein glycation, diabetes, and aging. *Recent Prog Horm Res.* 2001;56:1-21.
40. Li H, Liang J, Castrillon DH, DePinho RA, Olson EN, Liu ZP. Foxo4 regulates tumor necrosis factor alpha-directed smooth muscle cell migration by activating matrix metalloproteinase 9 gene transcription. *Mol Cell Biol.* 2007;27:2676-86.
41. Newby AC. Dual role of matrix metalloproteinases (matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture. *Physiol Rev.* 2005;85:1-31.
42. Lutun A, Lutgens E, Manderveld A, Maris K, Collen D, Carmeliet P, et al. Loss of matrix metalloproteinase-9 or matrix metalloproteinase-12 protects apolipoprotein e-deficient mice against atherosclerotic media destruction but differentially affects plaque growth. *Circulation.* 2004;109:1408-14.
43. Levi M, Moons L, Bouche A, Shapiro SD, Collen D, Carmeliet P. Deficiency of urokinase-type plasminogen activator-mediated plasmin generation impairs vascular remodeling during hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice. *Circulation.* 2001;103:2014-20.
44. Carlin SM, Resink TJ, Tamm M, Roth M. Urokinase signal transduction and its role in cell migration. *FASEB J.* 2005;19:195-202.
45. Jiang M, Bujo H, Ohwaki K, Unoki H, Yamazaki H, Kanaki T, et al. Ang II-stimulated migration of vascular smooth muscle cells is dependent on Irf1 in mice. *J Clin Invest.* 2008;118:2733-46.
46. Kjøller L. The urokinase plasminogen activator receptor in the regulation of the actin cytoskeleton and cell motility. *Biol Chem.* 2002;383:5-19.
47. Padró T, Peña E, Badimón L. Effects of low density lipoproteins on the sub-cellular distribution pattern of upa/upar in migrating human coronary vascular smooth muscle cells. XIX Intern Congress on Fibrinolysis and Thrombolysis.
48. Padro T, Pena E, Garcia-Arguinzonis M, Llorente-Cortes V, Badimón L. Low-density lipoproteins impair migration of human coronary vascular smooth muscle cells and induce changes in the proteomic profile of myosin light chain. *Cardiovasc Res.* 2008;77:211-20.
49. Presta M, Camozzi M, Salvatori G, Rusnati M. Role of the soluble pattern recognition receptor ptx3 in vascular biology. *J Cell Mol Med.* 2007;11:723-38.
50. Ruggeri ZM. Platelets in atherothrombosis. *Nat Med.* 2002;8:1227-34.
51. Badimón L, Vilahur G. Platelets, arterial thrombosis and cerebral ischemia. *Cerebrovasc Dis.* 2007;24 Suppl 1:30-9.
52. Badimón L, Badimón JJ, Vilahur G, Segales E, Llorente V. Pathogenesis of the acute coronary syndromes and therapeutic implications. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2002;32:225-31.
53. Relou IA, Hackeng CM, Akkerman JW, Malle E. Low-density lipoprotein and its effect on human blood platelets. *Cell Mol Life Sci.* 2003;60:961-71.
54. Tandon NN, Kralisz U, Jamieson GA. Identification of glycoprotein IV (CD36) as a primary receptor for platelet-collagen adhesion. *J Biol Chem.* 1989;264:7576-83.
55. Engelmann B, Kogl C, Kulschar R, Schaipp B. Transfer of phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine and sphingomyelin from low- and high-density lipoprotein to human platelets. *Biochem J.* 1996;315:781-9.
56. Maschberger P, Bauer M, Baumann-Siemons J, Zangl KJ, Negrescu EV, Reininger AJ, et al. Mildly oxidized low density lipoprotein rapidly stimulates via activation of the lysophosphatidic acid receptor src family and syk tyrosine kinases and Ca_v²⁺ influx in human platelets. *J Biol Chem.* 2000;275:19159-66.
57. Jin RC, Voetsch B, Loscalzo J. Endogenous mechanisms of inhibition of platelet function. *Microcirculation.* 2005;12:247-58.
58. Moncada S. Adventures in vascular biology: A tale of two mediators. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2006;361:735-59.
59. Duran X, Sanchez S, Vilahur G, Badimón L. Protective effects of triflusal on secondary thrombus growth and vascular cyclooxygenase-2. *J Thromb Haemost.* 2008;6:1385-92.
60. Marcus AJ, Broekman MJ, Drosopoulos JH, Olson KE, Islam N, Pinsky DJ, et al. Role of CD39 (NTPDase-1) in thromboregulation, cerebroprotection, and cardioprotection. *Semin Thromb Hemost.* 2005;31:234-46.
61. Massberg S, Brand K, Gruner S, Page S, Muller E, Muller I, et al. A critical role of platelet adhesion in the initiation of atherosclerotic lesion formation. *J Exp Med.* 2002;196:887-96.
62. Massberg S, Gruner S, Konrad I, Garcia Arguinzonis MI, Eigenthaler M, Hemler K, et al. Enhanced in vivo platelet adhesion in vasodilator-stimulated phosphoprotein (VASP)-deficient mice. *Blood.* 2004;103:136-42.
63. Nityanand S, Pande I, Bajpai VK, Singh L, Chandra M, Singh BN. Platelets in essential hypertension. *Thromb Res.* 1993;72:447-54.
64. Broijersens A, Karpe F, Hamsten A, Goodall AH, Hjerdahl P. Alimentary lipemia enhances the membrane expression of platelet p-selectin without affecting other markers of platelet activation. *Atherosclerosis.* 1998;137:107-13.
65. Nowak J, Murray JJ, Oates JA, FitzGerald GA. Biochemical evidence of a chronic abnormality in platelet and vascular function in healthy individuals who smoke cigarettes. *Circulation.* 1987;76:6-14.
66. Manduteanu I, Calb M, Lupu C, Simionescu N, Simionescu M. Increased adhesion of human diabetic platelets to cultured valvular endothelial cells. *J Submicrosc Cytol Pathol.* 1992;24:539-47.
67. Huo Y, Ley KF. Role of platelets in the development of atherosclerosis. *Trends Cardiovasc Med.* 2004;14:18-22.
68. Stenberg P, McEver R, Shuman M, Jacques Y, Bainton DF. A platelet alpha granule membrane protein (GMP-140) is expressed on the plasma membrane after activation. *J Cell Biol.* 1985;101:880-6.
69. Furman MI, Benoit SE, Barnard MR, Valeri CR, Borbone ML, Becker RC, et al. Increased platelet reactivity and circulating monocyte-platelet aggregates in patients with stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 1998;35:2-8.
70. Badimón JJ, Fuster V, Chesebro JH, Badimón L. Coronary atherosclerosis. A multifactorial disease. *Circulation.* 1993;87:II3-16.
71. Badimón L, Vilahur G. Enfermedad aterotrombótica coronaria: avances en el tratamiento antiplaquetario. *Rev Esp Cardiol.* 2008;61:501-13.
72. Davies MJ, Thomas AC. Plaque fissuring —the cause of acute myocardial infarction, sudden ischaemic death, and crescendo angina. *Br Heart J.* 1985;53:363-73.
73. Ruggeri ZM, Mendolicchio GL. Adhesion mechanisms in platelet function. *Circ Res.* 2007;100:1673-85.
74. Ruggeri ZM. Von Willebrand factor. *J Clin Invest.* 1997;99:559-64.
75. Savage B, Saldívar E, Ruggeri ZM. Initiation of platelet adhesion by arrest onto fibrinogen or translocation on von willebrand factor. *Cell.* 1996;84:657-66.
76. Ruggeri ZM. Role of von Willebrand factor in platelet thrombus formation. *Ann Med.* 2000;32 Suppl 1:2-9.

77. Massberg S, Shulz C, Gawaz M. Role of platelets in the pathophysiology of acute coronary syndrome. *Semin Vasc Med.* 2003;3:147-61.
78. Gibbins J, Okuma M, Farndale R, Barnes M, Watson S. Glycoprotein VI is the collagen receptor in platelets which underlies tyrosine phosphorylation of the FC receptor gamma-chain. *FEBS Lett.* 1997;413:255-9.
79. Nieswandt B, Brakebush C, Bergmeier WEA. Glycoprotein VI but not alpha2beta1 integrin is essential for platelet interaction with collagen. *EMBO J.* 2001;20:2120-30.
80. Saelman EU, Nieuwenhuis HK, Hese KM, De Groot PG, Heijnen HF, Sage EH, et al. Platelet adhesion to collagen types I through VIII under conditions of stasis and flow is mediated by GPIa/IIa (alpha 2 beta 1-integrin). *Blood.* 1994;83:1244-50.
81. Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, Fowler DR, Kruth HS, Weber DK, et al. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. *N Engl J Med.* 2003;349:2316-25.
82. Sevitt S. Platelets and foam cells in the evolution of atherosclerosis. *Histological and immunohistological studies of human lesions. Atherosclerosis.* 1986;61:107-15.
83. Daub K, Langer H, Seizer P, Stellos K, May AE, Goyal P, et al. Platelets induce differentiation of human cd34+ progenitor cells into foam cells and endothelial cells. *FASEB J.* 2006;20:2559-61.
84. Chandler AB, Hand RA. Phagocytized platelets: A source of lipids in human thrombi and atherosclerotic plaques. *Science.* 1961;134:946-7.
85. Fuster V, Badimón L, Badimón JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (2). *N Engl J Med.* 1992;326:310-8.
86. Llorente-Cortes V, Otero-Vinas M, Berrozpe M, Badimón L. 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.* 2004;34:182-90.
87. García-Arguinzonis M, Padró T, Llorente-Cortes V, Badimón L. Effect LDL negatively regulate HSP 27 phosphorylation in human vascular smooth muscle cells. Helsinki: European Atherosclerosis Society; 2007.
88. Otero-Viñas M, Llorente-Cortes V, Pena E, Padro T, Badimón L. Aggregated low density lipoproteins decrease metalloproteinase-9 expression and activity in human coronary smooth muscle cells. *Atherosclerosis.* 2007;194:326-33.
89. 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;95:594-9.
90. Schecter AD, Spirn B, Rossikhina M, Giesen PL, Bogdanov V, Fallon JT, et al. Release of active tissue factor by human arterial smooth muscle cells. *Circ Res.* 2000;87:126-32.
91. Diamant M, Nieuwland R, Pablo RF, Sturk A, Smit JW, Radder JK. Elevated numbers of tissue-factor exposing microparticles correlate with components of the metabolic syndrome in uncomplicated type 2 diabetes mellitus. *Circulation.* 2002;106:2442-7.
92. Camino-Lopez S, Llorente-Cortes V, Sendra J, Badimón L. Tissue factor induction by aggregated LDL depends on LDL receptor-related protein expression (LRP1) and rho a translocation in human vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res.* 2007;73:208-16.
93. Llorente-Cortes V, Otero-Viñas M, Camino-Lopez S, Llampayas O, Badimón L. Aggregated low-density lipoprotein uptake induces membrane tissue factor procoagulant activity and microparticle release in human vascular smooth muscle cells. *Circulation.* 2004;110:452-9.
94. De Lorgeril M, Renaud S, Mamelle N, Salen P, Martin JL, Monjaud I, et al. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet.* 1994;343:1454-9.
95. Hamik A, Setiadi H, Bu G, McEver RP, Morrissey JH. Down-regulation of monocyte tissue factor mediated by tissue factor pathway inhibitor and the low density lipoprotein receptor-related protein. *J Biol Chem.* 1999;274:4962-9.
96. Cattaneo M, Gachet C. Adp receptors and clinical bleeding disorders. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:2281-5.
97. Jin J, Quinton T, Zhang J, Rittenhouse S, Kunapuli S. Adenosin diphosphate induced thromboxane A2 generation in human platelets requires coordinated signaling through integrin alpha IIb beta 3 and ADP receptors. *Blood.* 2000;99:193-8.
98. Patrono C, Bachmann F, Baigent C, Bode C, De Caterina R, Charbonnier B, et al. Expert consensus document on the use of antiplatelet agents. The task force on the use of antiplatelet agents in patients with atherosclerotic cardiovascular disease of the european society of cardiology. *Eur Heart J.* 2004;25:166-81.
99. Vilahur G, Casani L, Badimón L. A thromboxane A2/prostaglandin H2 receptor antagonist (s18886) shows high antithrombotic efficacy in an experimental model of stent-induced thrombosis. *Thromb Haemost.* 2007;98:662-9.
100. Viles-González JF, Fuster V, Corti R, Valdiviezo C, Hutter R, Corda S, et al. Atherosclerosis regression and tp receptor inhibition: Effect of s18886 on plaque size and composition —a magnetic resonance imaging study. *Eur Heart J.* 2005;26:1557-61.
101. Sims PJ, Wiedmer T. Unravelling the mysteries of phospholipid scrambling. *Thromb Haemost.* 2001;86:214-21.
102. Badimón L, Chesebro JH, Badimón JJ. Thrombus formation on ruptured atherosclerotic plaques and rethrombosis on evolving thrombi. *Circulation.* 1992;86:III74-80.
103. Cho J, Mosher DF. Enhancement of thrombogenesis by plasma fibronectin cross-linked to fibrin and assembled in platelet thrombi. *Blood.* 2006;107:3555-63.
104. 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;95:594-9.
105. Moons A, Levi M, Peters R. Tissue factor and coronary artery disease. *Cardiovasc Res.* 2002;53:313-25.
106. Viles-González JF, Fuster V, Badimón JJ. Links between inflammation and thrombogenicity in atherosclerosis. *Curr Mol Med.* 2006;6:489-99.
107. Viles-Gonzalez JF AS, Valdiviezo C, Zafar MU, Hutter R, Sanz J, Rius T, et al. Update in atherothrombotic disease. *Mt Sinai J Med.* 2004;71:197-208.
108. Lefkowitz J, Topol E. Role of platelet inhibitor agents in coronary artery disease. En: Topol EJ, editor. *Textbook of interventional cardiology.* Philadelphia: Saunders; 1999. p. 3-24.
109. Peterson ED, Pollack CV Jr, Roe MT, Parsons LS, Littrell KA, Canto JG, et al. Early use of glycoprotein IIb/IIIa inhibitors in non-ST-elevation acute myocardial infarction: Observations from the national registry of myocardial infarction 4. *J Am Coll Cardiol.* 2003;42:45-53.
110. Vu TK, Hung DT, Wheaton VI, Coughlin SR. Molecular cloning of a functional thrombin receptor reveals a novel proteolytic mechanism of receptor activation. *Cell.* 1991;64:1057-68.
111. Kahn ML, Nakanishi-Matsui M, Shapiro MJ, Ishihara H, Coughlin SR. Protease-activated receptors 1 and 4 mediate activation of human platelets by thrombin. *J Clin Invest.* 1999;103:879-87.
112. VanWijk MJ, VanBavel E, Sturk A, Nieuwland R. Microparticles in cardiovascular diseases. *Cardiovasc Res.* 2003;59:277-87.
113. Sims PJ, Faioni EM, Wiedmer T, Shattil SJ. Complement proteins c5b-9 cause release of membrane vesicles from the platelet surface that are enriched in the membrane receptor for coagulation factor va and express prothrombinase activity. *J Biol Chem.* 1988;263:18205-12.

114. Tan KT, Tayebjee MH, Lynd C, Blann AD, Lip GY. Platelet microparticles and soluble P selectin in peripheral artery disease: Relationship to extent of disease and platelet activation markers. *Ann Med*. 2005;37:61-6.
115. Nomura S, Tandon NN, Nakamura T, Cone J, Fukuhara S, Kambayashi J. High-shear-stress-induced activation of platelets and microparticles enhances expression of cell adhesion molecules in THP-1 and endothelial cells. *Atherosclerosis*. 2001;158:277-87.
116. Forlow SB, McEver RP, Nollert MU. Leukocyte-leukocyte interactions mediated by platelet microparticles under flow. *Blood*. 2000;95:1317-23.
117. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;257:79-83.
118. Ross R. Atherosclerosis —an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;340:115-26.
119. Mause SF, Von Hundelshausen P, Zerneck A, Koenen RR, Weber C. Platelet microparticles: A transcellular delivery system for rantes promoting monocyte recruitment on endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:1512-8.
120. Pfister SL. Role of platelet microparticles in the production of thromboxane by rabbit pulmonary artery. *Hypertension*. 2004;43:428-33.
121. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, MacFarlane PW, et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland coronary prevention study group. *N Engl J Med*. 1995;333:1301-7.
122. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: The Scandinavian Simvastatin Survival Study (4s). *Lancet*. 1994;344:1383-9.
123. Neil A, Cooper J, Betteridge J, Capps N, McDowell I, Durrington P, et al. Reductions in all-cause, cancer, and coronary mortality in statin-treated patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia: A prospective registry study. *Eur Heart J*. 2008;29:2625-33.
124. Nissen SE, Nicholls SJ, Sipahi I, Libby P, Raichlen JS, Ballantyne CM, et al. Effect of very high-intensity statin therapy on regression of coronary atherosclerosis: The asteroid trial. *JAMA*. 2006;295:1556-65.
125. Nozue T, Yamamoto S, Tohyama S, Umezawa S, Kunishima T, Sato A, et al. Treatment with statin on atheroma regression evaluated by intravascular ultrasound with virtual histology (truth study): Rationale and design. *Circ J*. 2009;73:352-5.
126. Influence of pravastatin and plasma lipids on clinical events in the West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS). *Circulation*. 1998;97:1440-5.
127. Kinlay S, Egidio J. Inflammatory biomarkers in stable atherosclerosis. *Am J Cardiol*. 2006;98:P2-8.
128. Tsimikas S. Oxidative biomarkers in the diagnosis and prognosis of cardiovascular disease. *Am J Cardiol*. 2006;98:P9-17.
129. Libby P, Sasiela W. Plaque stabilization: Can we turn theory into evidence? *Am J Cardiol*. 2006;98:P26-33.
130. Badimón JJ, Badimón 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.
131. Dangas G, Badimón JJ, Smith DA, Unger AH, Levine D, Shao JH, et al. Pravastatin therapy in hyperlipidemia: Effects on thrombus formation and the systemic hemostatic profile. *J Am Coll Cardiol*. 1999;33:1294-304.
132. Alonso R, Mata P, De Andres R, Villacastin BP, Martinez-Gonzalez J, Badimón L. Sustained long-term improvement of arterial endothelial function in heterozygous familial hypercholesterolemia patients treated with simvastatin. *Atherosclerosis*. 2001;157:423-9.
133. Alfon J, Pueyo Palazon C, Royo T, Badimón L. Effects of statins in thrombosis and aortic lesion development in a dyslipemic rabbit model. *Thromb Haemost*. 1999;81:822-7.
134. Casani L, Sanchez-Gomez S, Vilahur G, Badimón L. Pravastatin reduces thrombogenicity by mechanisms beyond plasma cholesterol lowering. *Thromb Haemost*. 2005;94:1035-41.
135. Vilahur G, Casani L, Pena E, Duran X, Juan-Babot O, Badimón L. Induction of risk by HMG-CoA reductase inhibition affords cardioprotection after myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 2009 [en prensa].
136. Di Sciascio G, Patti G, Pasceri V, Gaspardone A, Colonna G, Montinaro A. Efficacy of atorvastatin reload in patients on chronic statin therapy undergoing percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol*. 2009; DOI: 10.1016/j.jacc.2009.05.028 [E-pub 1 Jul 2009].