

# Visualización de la guerra macrofágica arterial con resonancia magnética nuclear, tomografía de emisión de positrones y tomografía computarizada

Valentín Fuster y Javier Sanz

Mount Sinai Medical Center. Nueva York. Estados Unidos.

El macrófago es la principal célula defensiva que se encuentra en las placas de aterosclerosis. Aunque su función es fagocitar los cuerpos extraños que se localizan en el endotelio vascular, puede sufrir un proceso de activación sostenida que dé lugar a un cuadro de inflamación crónica e incluso desencadene un síndrome coronario agudo. La respuesta celular que subyace a este trastorno está mediada por una compleja cascada de señalización molecular. Las citocinas que libera el macrófago activado acaban produciendo un importante daño tisular al perpetuar la activación de la propia respuesta inflamatoria. Además, estudios recientes demuestran que una unión molecular defectuosa entre el macrófago y su sustrato puede constituir un mecanismo de inestabilidad de las placas ateroscleróticas, porque al estimular la digestión de la arteria favorecen la rotura de la placa. Un aspecto fundamental del ciclo vital de los macrófagos es que, cuando no pueden eliminar eficazmente el cuerpo extraño que ha desencadenado su activación, ponen en marcha la maquinaria de suicidio celular (apoptosis), con lo que se liberan al medio extracelular sustancias incluso más tóxicas que los mediadores inflamatorios. El importante desarrollo que han experimentado las técnicas de imagen molecular no invasivas en los últimos años ha permitido desentrañar aspectos fundamentales de la biología de los macrófagos y estudiar los beneficios que puede tener una determinada intervención terapéutica. Los nanomarcadores diseñados para dirigirse a una diana molecular concreta permiten utilizar las técnicas de imagen no sólo para el estudio de los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad aterosclerótica, sino también para su diagnóstico, y pensar en el desarrollo de una nanomedicina basada en la aplicación de tratamientos dirigidos a un único tipo celular.

**Palabras clave:** Ateroma. Citocinas. Macrófagos. Resonancia magnética nuclear. Tomografía computarizada. Tomografía de emisión de positrones

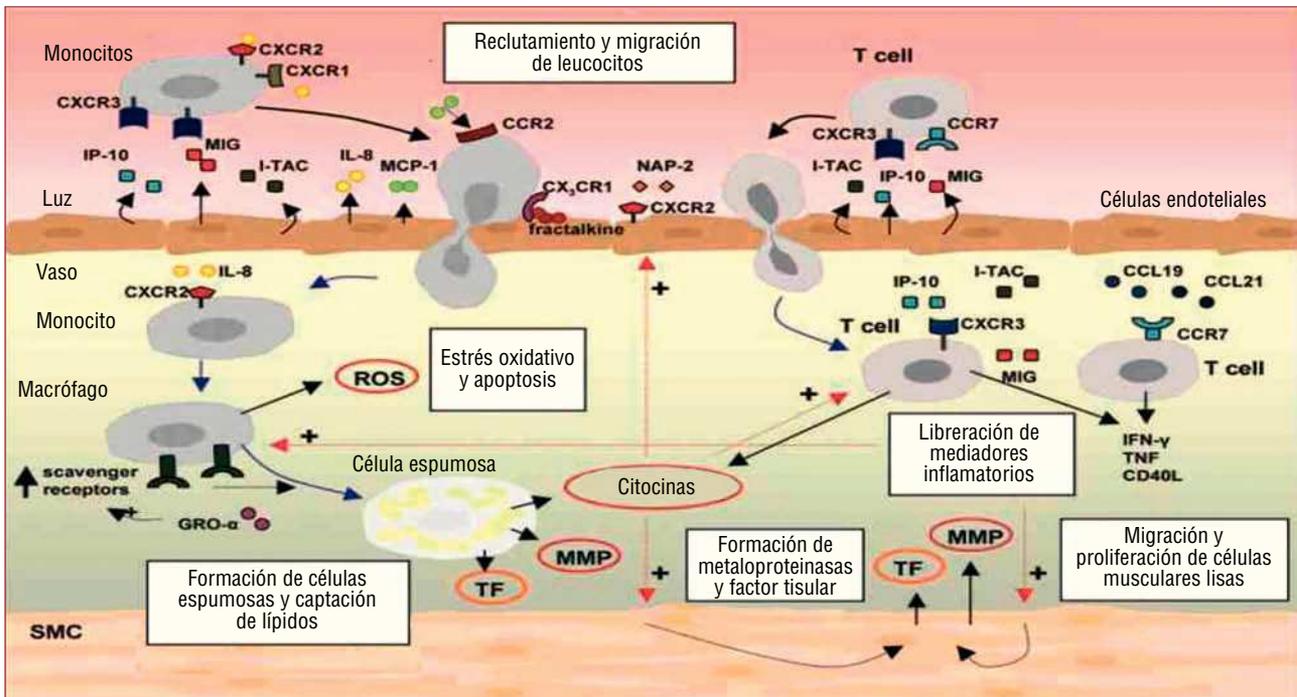
## Visualizing Arterial Macrophage Warfare With Nuclear Magnetic Resonance, Positron-Emission Tomography and Computerized Tomography

The macrophage is the principal immune cell found in atherosclerotic plaque. Although its function is to phagocytose foreign bodies present in the vascular endothelium, it can undergo a process of sustained activation that gives rise to a pattern of chronic inflammation, which may even trigger an acute coronary syndrome. The cellular response underlying this disease process is mediated by a complex molecular signaling cascade. Cytokines released by activated macrophages ultimately produce significant tissue damage by perpetuating the ongoing inflammatory response. Recent studies have shown that a defective interaction between the macrophage and its substrate could provide a mechanism for destabilizing atherosclerotic plaque by stimulating digestion of the artery and promoting plaque rupture. A key element in the life cycle of macrophages is that, when they cannot effectively remove the foreign bodies that have resulted in their activation, they initiate cell death (i.e., apoptosis), thereby releasing substances into the extracellular milieu that are even more toxic than inflammatory mediators. The significant advances in noninvasive molecular imaging techniques that have taken place in recent years have helped to unravel fundamental features of macrophage biology and have made it possible to explore the potential benefits of specific therapeutic interventions. Nanomarkers designed to home in on specific molecular targets have enabled imaging techniques to be used not only to study the pathophysiological mechanisms of atherosclerotic disease but also to diagnose such disease, and have made it possible to imagine the development of a form of nanomedicine based on administering treatment that can target a single cell type.

**Key words:** Atherosclerotic plaque. Cytokines. Macrophage. Nuclear Magnetic Resonance. Positron-Emission Tomography. Computerized Tomography

La aterosclerosis es una enfermedad compleja y multifactorial, con un importante componente inflamatorio y trombótico que determina la evolución clínica de la enfermedad. La rotura de las placas vulnerables o de alto riesgo, que se caracterizan por tener grandes depósitos de colesterol, te-

Correspondencia: Dr. V. Fuster.  
Mount Sinai Medical Center.  
1 Gustave L. Levy Place. Box 1030. New York. NY 10029-6574. Estados Unidos.



**Fig. 1.** Esquema representativo del papel de las citocinas en la aterogénesis. Durante la enfermedad aterosclerótica se liberan multitud de citocinas (muchas de ellas producidas por los propios macrófagos) que participan de manera decisiva en las distintas fases de la respuesta inflamatoria. Modificado con permiso de Aukrust et al<sup>1</sup>.

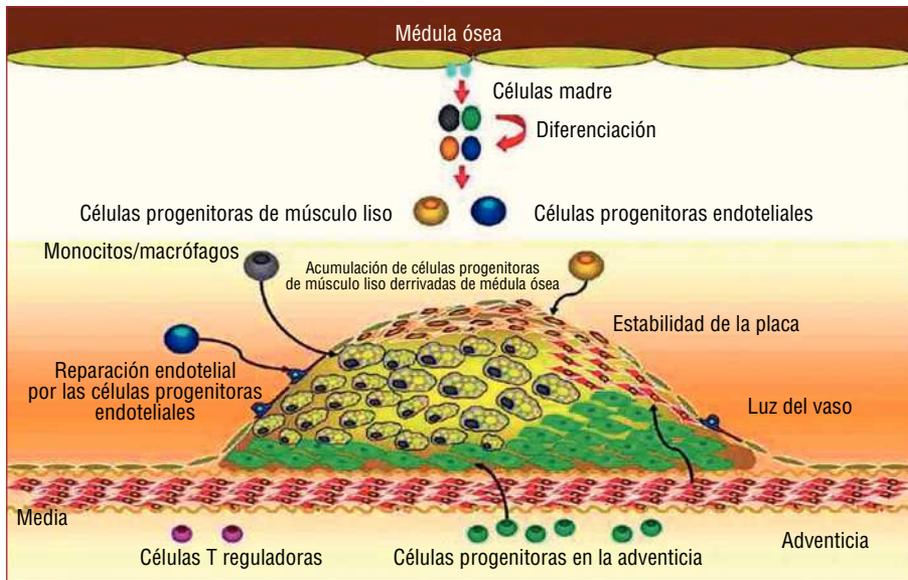
jido necrótico y una cápsula muy fina poblada por células inflamatorias, puede conducir a la aparición de trombosis coronaria, que es la principal causa de angina inestable, infarto de miocardio o muerte cardíaca súbita, dependiendo de la gravedad del cuadro. Además de la rotura, la propia erosión de la placa puede originar una trombosis oclusiva y la aparición de eventos coronarios agudos.

La principal célula inflamatoria que se encuentra en las placas de ateroma es el macrófago, que penetra cuando detecta un cuerpo extraño (colesterol, hemoglobina, hemorragia) con el fin de eliminarlo, con lo que cumple una función de defensa. Este proceso de respuesta celular defensiva puede terminar estabilizándose (fibrosándose) o dar lugar a las distintas etapas de la enfermedad aterosclerótica cuando el macrófago continúa activándose. En general, la enfermedad aterosclerótica es asintomática durante un periodo prolongado y cambia bruscamente su curso cuando se complica por fenómenos trombóticos. Mientras que el transporte del colesterol y las HDL tienen una participación importante en las fases iniciales de la enfermedad, los fenómenos de remodelado de la placa, la neovascularización de los *vasa vasorum* y los mecanismos celulares y moleculares que conducen a la rotura de la placa son más importantes en las fases avanzadas de la enfermedad. La trombosis asociada que se presenta en la fase final de la enfermedad está directamente

relacionada con la actividad y la muerte apoptótica de los macrófagos y los monocitos circulantes, que cierran el círculo entre inflamación, rotura de la placa y trombogenicidad sanguínea<sup>2</sup>.

### Biología del macrófago

Desde el punto de vista biológico, el macrófago es una célula imprescindible para que tengan lugar los mecanismos de reconocimiento y eliminación de los cuerpos extraños que aparecen en los distintos tejidos del organismo. Sin embargo, una respuesta macrofágica sostenida puede ser perjudicial a largo plazo y, en algunos casos, constituye la base fisiopatológica de determinadas enfermedades. En el caso concreto de la enfermedad aterosclerótica, desde que el macrófago entra en juego hasta que aparece un síndrome coronario agudo, se produce una compleja cascada de señalización molecular que requiere la activación de numerosos factores proinflamatorios (se han descrito hasta 50 citocinas diferentes), muchos de ellos liberados por los propios macrófagos (fig. 1). Una de las citocinas que libera el macrófago activado y puede tener efectos muy diversos en distintas dianas celulares es el factor de necrosis tumoral (TNF) alfa. Las consecuencias de la activación del TNF $\alpha$  son innumerables y están siendo objeto de estudio intenso. Entre ellas se encuentra, por ejemplo, su capacidad para acti-



**Fig. 2.** Papel de las células progenitoras en la fisiopatología de la aterosclerosis. Las células madre procedentes de la médula ósea pueden diferenciarse en células progenitoras de músculo liso y células progenitoras endoteliales. Hay numerosas evidencias experimentales de que estas células progenitoras contribuyen a la estabilización de la placa. Modificado con permiso de Satoh et al<sup>7</sup>.

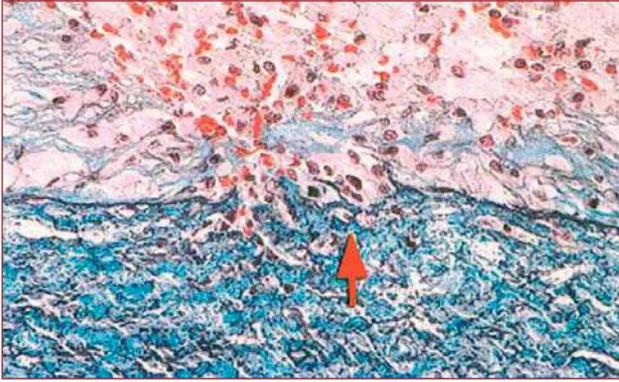
var los osteoclastos, que pueden producir reabsorción ósea, y los condrocitos, que estimulan la producción de metaloproteinasas y contribuyen a la destrucción del cartílago, o su capacidad para inducir activación leucocitaria y de células endoteliales, o estimular la liberación de otras citocinas proinflamatorias, como la interleucina (IL) 1 y la IL-6, activar la cascada de la coagulación y promover la angiogénesis, entre otros efectos<sup>3</sup>. Es decir, los propios elementos de batalla que se ponen en marcha ante la llegada de un cuerpo extraño pueden acabar dañando otros tejidos por un mecanismo de retroalimentación y activación continua.

Aunque la inflamación subyace a una gran variedad de procesos patológicos, sigue sin conocerse completamente cuál es su verdadera función fisiológica. En general, la respuesta inflamatoria depende, en gran medida, de los macrófagos residentes en un determinado tejido, que actúan como intermediarios entre el estado basal homeostático y la activación del proceso<sup>4</sup>. Sin embargo, determinados estados de estrés o disfunción crónica pueden llegar a inducir una respuesta de tipo adaptativo, conocida como parainflamación. La parainflamación causa los estados inflamatorios crónicos asociados a muchas enfermedades modernas, como la aterosclerosis<sup>4</sup>. Un aspecto muy importante en la biología del macrófago, y que contribuye notablemente a sus efectos perjudiciales en este tipo de situaciones crónicas, es que cuando la célula detecta que está perdiendo la batalla contra el elemento extraño que la ha desencadenado pone en marcha la maquinaria de suicidio celular o apoptosis. Durante el proceso apoptótico, los macrófagos liberan al medio extracelular productos mucho más tóxicos que los que liberan durante la respuesta defensiva.

## Etapas de la enfermedad aterosclerótica

La enfermedad aterosclerótica se inicia por un proceso de daño endotelial desencadenado por los factores de riesgo. En esta primera etapa, el endotelio dañado se cubre de células progenitoras procedentes de la médula ósea y otros tejidos. El papel de las células progenitoras en la reparación endotelial es importante, ya que las células endoteliales maduras tienen una capacidad regenerativa limitada. Además, estas células progenitoras no sólo recubren el endotelio sino que también pueden diferenciarse hacia un fenotipo de células musculares lisas que sustituyen el tejido necrótico que se encuentra por debajo. Los datos experimentales indican que las células progenitoras derivadas de médula ósea con fenotipo de célula muscular lisa tienen una participación decisiva en la patogenia de la enfermedad vascular, pues limitan el desarrollo de la placa aterosclerótica y promueven cambios en su composición hacia una forma más estable. Algunos estudios indican que una reducción en el número de estas células musculares lisas progenitoras podría ser un factor causal en los síndromes coronarios agudos. De hecho, parte del efecto beneficioso ejercido por las estatinas se debe a que movilizan las células progenitoras que cubren el endotelio dañado (lo que se asocia a una mejoría de la disfunción endotelial) y favorecen la entrada de las células musculares lisas, que a su vez ayudan a reparar la zona con mayor concentración lipídica, sobre todo de LDL oxidadas<sup>5-8</sup> (fig. 2).

Después de esta primera respuesta celular se inicia el proceso inflamatorio propiamente dicho, que tiene dos componentes: los *vasa vasorum* y los macrófagos. El crecimiento de las placas ateroscleróticas se acompaña de neovascularización desde los



**Fig. 3.** Imagen histológica de una placa ateromatosa con inflamación y rotura de la capa elástica interna. Los mecanismos moleculares que conducen a este estado están directamente relacionados con la activación sostenida de los macrófagos y la digestión tisular por acción de las metaloproteinasas. Modificado con permiso de Moreno et al<sup>12-14</sup>.

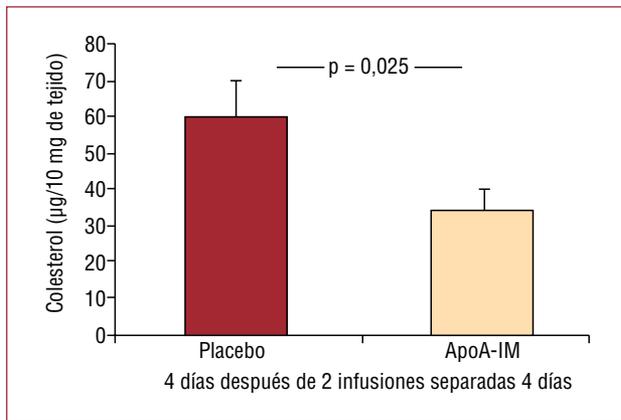
*vasa vasorum* hacia la túnica media en la base de la placa y hacia la cápsula fibrosa. Esta microvascularización se asocia a hemorragia de la placa y parece que es esencial en su rotura. Aunque los *vasa vasorum* ejercen una función defensiva ayudando a reducir el contenido lipídico de la arteria, también participan en la respuesta inflamatoria. La participación de los *vasa vasorum* en la respuesta inflamatoria se debe a su primitiva estructura histológica, caracterizada por tener células que no están perfectamente selladas. Esta estructura celular «defectuosa» permite el escape de sangre hacia la arteria. La hemoglobina que entra en la arteria actúa como un cuerpo extraño, que atrae a los macrófagos y pone en marcha el proceso defensivo e inflamatorio. Para que los macrófagos consigan eliminar la hemoglobina, deben unirse a ella a través de un puente proteínico constituido por la haptoglobina 1. Esta unión activa el proceso de fagocitosis<sup>9-12</sup> y constituye un ejemplo de interacción molecular con una particular relevancia en la fisiopatología de la enfermedad aterosclerótica. De hecho, estudios recientes demuestran que en pacientes diabéticos o hipercolesterolémicos se halla una isoforma proteínica diferente que hace de nexo, la haptoglobina 2, que actúa uniendo el receptor CD163 macrofágico a la hemoglobina. Como esta unión es defectuosa, el macrófago activado no puede llegar adecuadamente a su sustrato a pesar de haberse activado. Como consecuencia de ello, el macrófago comienza a digerir la propia arteria, lo que da lugar a la rotura de la capa elástica interna, probablemente por acción de las metaloproteinasas. Se ha podido documentar este tipo de lesiones en autopsias de pacientes con diabetes, hipercolesterolemia y otros factores de riesgo, y es la causa de que la placa entre en un proceso de gran inestabilidad (fig. 3)<sup>13,14</sup>.

La hemoglobina no es el único cuerpo extraño que se encuentra en las arterias. Otro cuerpo extra-

ño que puede desencadenar la respuesta macrofágica de defensa son las LDL oxidadas<sup>3</sup>. No obstante, las LDL oxidadas pueden abandonar la arteria a través de los *vasa vasorum* cuando haya un gradiente favorable para que se produzca este movimiento. Este concepto se ha probado en 100 pacientes (de los que el 80% eran diabéticos), aleatorizados a recibir un tratamiento agresivo con atorvastatina o simvastatina, y en los que el depósito lipídico se había visualizado previamente con resonancia magnética (RM) en la aorta o en las arterias carótidas<sup>15,16</sup>. Al cabo de 2 años de tratamiento, se creó un gradiente lipídico favorable que hizo que las LDL oxidadas fueran absorbidas a través de los *vasa vasorum*, con lo que se estabilizó la lesión que había en las arterias y evitó la activación de los macrófagos. Este es un ejemplo de cómo una intervención terapéutica, en este caso las estatinas, puede reforzar el papel protector de los *vasa vasorum* y, de forma indirecta, ayudar a la acción defensiva de los macrófagos evitando los efectos devastadores de su activación. Además, estos resultados respaldan la hipótesis de que los tratamientos hipolipemiantes se asocian a una regresión significativa de las lesiones ateroscleróticas en humanos, y que la reducción farmacológica de los lípidos es capaz de producir un remodelado vascular constante.

Sin embargo, una vez que las LDL oxidadas se depositan en las arterias porque ya se ha producido un daño endotelial secundario a la presencia de factores de riesgo, el monocito circulante penetra en el endotelio, fagocita las LDL y las vuelve a liberar a las HDL en un proceso reversible. Se han descrito tres vías moleculares principales por las cuales las HDL participan en el eflujo de colesterol desde los macrófagos, una vía de eflujo pasivo y 2 vías en las que intervienen sistemas de transporte específicos de la célula macrofágica. El eflujo de colesterol desde el macrófago induce la formación de una forma precursora de HDL (la pre-beta-HDL), que finalmente se convierte en la forma madura de HDL a través de una reacción de esterificación. Una vez que las HDL captan el exceso de colesterol de los macrófagos, lo transportan al hígado, desde donde es excretado en forma de ácidos biliares y colesterol<sup>17</sup>. Uno de los aspectos esenciales de esta respuesta celular es que cuando la concentración lipídica en el interior de los macrófagos es excesiva, se pone en marcha la muerte por apoptosis, lo que da lugar a la liberación de factores de gran toxicidad, como el factor tisular y las metaloproteinasas.

En un estudio reciente llevado a cabo en nuestro laboratorio<sup>18</sup>, se ha relacionado la administración exógena de ApoA-1 (que aumenta la concentración de HDL) en un modelo experimental de conejo con una reducción significativa del contenido arterial de colesterol (fig. 4). Además, este tratamiento pro-



**Fig. 4.** Contenido de colesterol en la pared de la aorta en conejos hipercolesterolemicos que recibieron la proteína recombinante ApoA-1 (para aumentar la concentración de HDL) o placebo. A los 4 días de haber recibido el tratamiento (en forma de 2 infusiones), se produjo una reducción significativa en la concentración de colesterol por miligramo de tejido analizado. Modificado con permiso de Cimmino et al<sup>18</sup>.

duce un aumento de los mecanismos de transporte (*scavenger receptors*) y una disminución de los productos tóxicos asociados a la apoptosis de los macrófagos (que se detecta como una disminución del ARNm de la iNOS y la caspasa 3 y una disminución de la expresión proteínica de iNOS y caspasa 3, dos marcadores relacionados con la inflamación que se activan cuando se pone en marcha la cascada de señalización de la muerte apoptótica). Es decir, el aumento de la concentración de HDL secundario a la administración exógena de ApoA-1 es capaz de revertir el proceso patológico que ya está en marcha cuando se ha producido una lesión endotelial. El mecanismo de acción de las HDL se basa en aumentar las vías de transporte que facilitan el eflujo de colesterol desde los macrófagos<sup>19</sup>. Por lo tanto, la HDL y la ApoA-1 ejercen su efecto antiinflamatorio facilitando la extrusión de colesterol a través de los sistemas de transporte, y este efecto se acompaña de una atenuación concomitante de las vías de señalización asociadas a los receptores de tipo *toll-like*. Actualmente sabemos que los receptores *toll-like* participan en la desestabilización de la placa ateromatosa en pacientes con concentraciones bajas de HDL<sup>20</sup>. Estos receptores se encuentran aumentados cuando la célula apoptótica libera los productos tóxicos hacia el medio extracelular, aunque se trata de un aumento reversible que puede reducirse cuando se controla la reacción inflamatoria. La administración exógena de ApoA-1 también es capaz de reducir la concentración de factor tisular<sup>21</sup>.

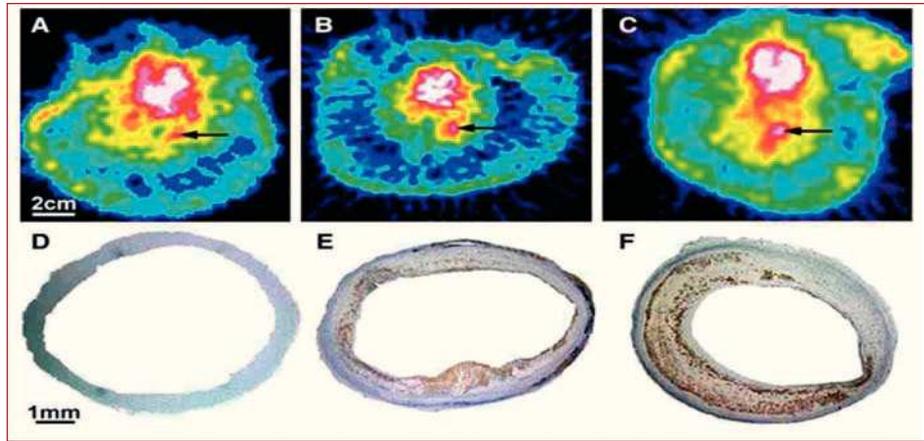
### Imagen molecular para el diagnóstico no invasivo de la enfermedad aterosclerótica

En los últimos 3 años se ha producido un gran avance en el desarrollo de las tecnologías de ima-

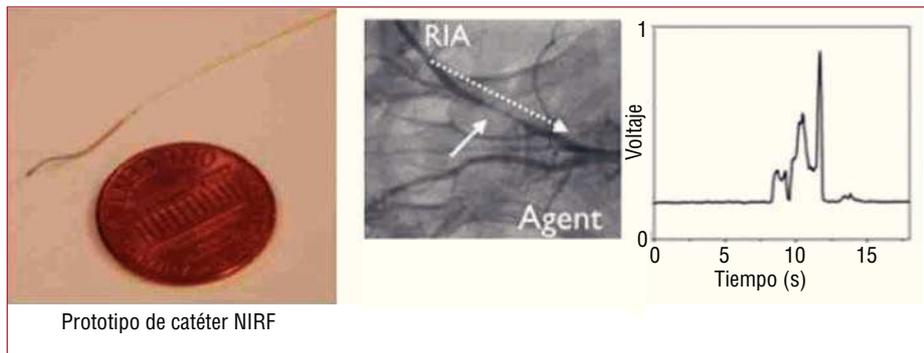
gen, lo que ha permitido monitorizar un tipo celular específico y, de esta forma, investigar su participación en un determinado proceso patológico. Estas tecnologías se basan en marcar con nanopartículas que contienen péptidos específicos capaces de reconocer la molécula de interés y pueden visualizarse por RM u otras técnicas de imagen no invasivas. Así, por ejemplo, mediante el desarrollo de corpúsculos o micelas recubiertos con péptidos diseñados específicamente para que reconozcan proteínas macrofágicas, se puede determinar la densidad y la concentración de los macrófagos activados que se encuentran en una arteria determinada. El uso de estas nanopartículas facilita el diagnóstico precoz y mejora la comprensión de los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad cardiovascular, a la vez que permite incrementar la eficacia terapéutica de los tratamientos dirigidos a mejorar determinadas afecciones. Se han descrito diversos agentes que permiten la visualización *in vivo* de los macrófagos activados, dianas vasculares o marcadores de angiogénesis, utilizando una variedad de modalidades de imagen<sup>22,23</sup>. Actualmente se considera que el nanotratamiento dirigido es uno de los métodos más prometedores de intervención terapéutica en las enfermedades cardiovasculares.

En particular, los estudios más recientes demuestran que la RM o la tomografía por emisión positrónica (PET) son herramientas de imagen molecular extraordinariamente versátiles que nos permiten visualizar diversas proteínas en distintos modelos experimentales<sup>24</sup>. A partir de esta tecnología de imagen no invasiva, se han podido identificar, por ejemplo, algunas moléculas de adhesión, como la molécula de adhesión vascular de tipo 1 (VCAM-1), y así se puede detectar estados precoces de inflamación en la aterosclerosis (aterosclerosis subclínica) e incluso hacer un seguimiento del efecto terapéutico de una determinada intervención farmacológica, como las estatinas, y documentar la desaparición de los macrófagos en las arterias en respuesta a ese tratamiento<sup>25</sup>.

Una aproximación similar se basa en la administración de partículas monocristalinas de óxido de hierro, que producen una importante alteración del nivel de señal en imágenes de RM. El uso de esta tecnología ha permitido identificar placas ateroscleróticas ricas en macrófagos en modelos experimentales de conejos hiperlipémicos. Los resultados de estos experimentos han demostrado que la magnitud del contraste obtenido en la imagen se correlaciona estrechamente con el número de macrófagos determinado mediante análisis histológico, lo que hace suponer que el uso de nanopartículas superparamagnéticas es una herramienta de futuro para la evaluación no invasiva de las placas vulnerables ricas en macrófagos<sup>26</sup>. Otros estudios han demostra-



**Fig. 5.** Imágenes axiales obtenidas *in vivo* mediante tomografía por emisión positrónica (PET) que muestran la captación de fluorodeoxiglucosa (FDG) en la aorta torácica de conejos. Reproducido con permiso de Worthley et al.<sup>28</sup>.



**Fig. 6.** Fluorescencia *in vivo* obtenida a tiempo real durante la cateterización de vasos ateroscleróticos en un modelo experimental de conejos hiperlipémicos, secundaria a inflamación (detectada a partir de la actividad de cisteinproteasa). Reproducido con permiso de Jaffer et al.<sup>29</sup>.

do que es posible visualizar macrófagos en placas ateroscleróticas de conejos hiperlipémicos mediante tomografía computarizada (TC) después de una inyección intravenosa de un contraste formado por nanopartículas yodadas<sup>27</sup>. Esta modalidad de imagen permite analizar la composición de la placa con una gran resolución espacial.

Además de la RM y la TC, otras técnicas de imagen, como la PET, son capaces de monitorizar de forma no invasiva el contenido macrofágico en lesiones ateroscleróticas inducidas experimentalmente en animales sometidos a una dieta hipercolesterolémica, lo que permite realizar estudios sistemáticos sobre la progresión y la regresión de la enfermedad según pasa el tiempo (fig. 5)<sup>28</sup>. Por otra parte, un grupo de la universidad de Harvard ha desarrollado un catéter que contiene un agente capaz de emitir fluorescencia cuando detecta actividad de cisteinproteasa en el interior de los vasos. Los estudios histopatológicos realizados en las arterias de conejos hipercolesterolémicos demuestran que las señales fluorescentes de estos catéteres se colocan con los macrófagos inmunorreactivos. Aunque esta tecnología se encuentra en fase experimental, es probable que en breve se desarrolle para uso clínico, ya que permitiría detectar inflamación en la enfermedad aterosclerótica en el momento de la cate-

terización (fig. 6)<sup>29</sup>. Por último, experimentos que se están realizando en nuestro laboratorio demuestran que la administración de glucocorticoides marcados con péptidos es una aproximación terapéutica factible y segura, que se puede dirigir de forma específica a los macrófagos. Con esta maniobra se acelera la desaparición de los macrófagos arteriales y se produce una mejoría de las lesiones, lo que estabiliza la enfermedad. Estas evidencias experimentales nos hacen pensar en la posibilidad de una nanomedicina basada en glucocorticoides como tratamiento antiinflamatorio para la arteriosclerosis.

No cabe duda de que las diversas técnicas de imagen molecular no invasiva van a tener un futuro prometedor en el diagnóstico de la arteriosclerosis, aterotrombosis e infarto agudo de miocardio en pacientes. Los primeros estudios de imagen en estas afecciones se realizaron hace escasos años en modelos animales, pero pocas veces la traslación de un conocimiento o una técnica diagnóstica desde los modelos experimentales a los pacientes se ha producido de forma tan rápida como en esta área de la medicina. Se espera que este importante avance médico nos ayude a establecer los mecanismos moleculares por los que se produce la enfermedad aterosclerótica, lo que facilitará el diagnóstico precoz y mejorará la eficacia del tratamiento clínico de los pacientes.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Aukrust P, Halvorsen B, Yndestad A, Ueland T, Øie E, Otterdal K, et al. Chemokines and Cardiovascular Risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28:1909-19.
2. Fuster V, Moreno PR, Fayad ZA, Corti R, Badimon JJ. Atherothrombosis and high-risk plaque: part I: evolving concepts. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46:937-54.
3. Brennan FM, McInnes IB. Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest.* 2008;118:3537-45.
4. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature.* 2008;454:428-35.
5. Shantsila E, Watson T, Lip GY. Endothelial progenitor cells in cardiovascular disorders. *J Am Coll Cardiol.* 2007;49:741-52.
6. Foteinos G, Hu Y, Xiao Q, Metzler B, Xu Q. Rapid endothelial turnover in atherosclerosis-prone areas coincides with stem cell repair in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation.* 2008;117:1856-63.
7. Satoh K, Berk BC. Circulating smooth muscle progenitor cells: novel players in plaque stability. *Cardiovasc Res.* 2008;77:445-7.
8. Zoll J, Fontaine V, Gourdy P, Barateau V, Vilar J, Leroyer A, et al. Role of human smooth muscle cell progenitors in atherosclerotic plaque development and composition. *Cardiovasc Res.* 2008;77:471-80.
9. Bowman BH, Kurosky A. Haptoglobin: the evolutionary product of duplication, unequal crossing over, and point mutation. *Adv Hum Gen.* 1982;12:189-261.
10. Levy AP, Levy JE, Kalet-Litman S, Miller-Lotan R, Levy NS, Asaf R, et al. Haptoglobin genotype is a determinant of iron, lipid peroxidation, and macrophage accumulation in the atherosclerotic plaque. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27:134-40.
11. Levy AP, Purushothaman KR, Levy NS, Purushothaman M, Strauss M, Asleh R, et al. Downregulation of the hemoglobin scavenger receptor in individuals with diabetes and the Hp 2-2 genotype: implications for the response to intraplaque hemorrhage and plaque vulnerability. *Circ Res.* 2007;101:106-10.
12. Moreno PR, Purushothaman KR, Purushothaman M, Muntner P, Levy NS, Fuster V, et al. Haptoglobin genotype is a major determinant of the amount of iron in the human atherosclerotic plaque. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52:1049-51.
13. Moreno PR, Purushothaman KR, Fuster V, O'Connor WN. Intimomedial interface damage and adventitial inflammation is increased beneath disrupted atherosclerosis in the aorta: implications for plaque vulnerability. *Circulation.* 2002;105:2504-11.
14. Moreno PR, Purushothaman KR, Fuster V, Echeverri D, Trusczyńska H, Sharma SK, et al. Plaque neovascularization is increased in ruptured atherosclerotic lesions of human aorta: implications for plaque vulnerability. *Circulation.* 2004;110:2032-38.
15. Corti R, Fuster V, Fayad ZA, Worthley SG, Helft G, Smith D, et al. Lipid lowering by simvastatin induces regression of human atherosclerotic lesions: two years' follow-up by high-resolution non-invasive magnetic resonance imaging. *Circulation.* 2002;106:2884-7.
16. Corti R, Fuster V, Fayad ZA, Worthley SG, Helft G, Chaplin WF, et al. Effects of aggressive versus conventional lipid-lowering therapy by simvastatin on human atherosclerotic lesions: a prospective, randomised, double-blind trial with high resolution magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46:106-12.
17. Brewer HB Jr. High-density lipoproteins: a new potential therapeutic target for the prevention of cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:387-91.
18. Cimmino G, Ibáñez B, Vilahur G, Speidl WS, Fuster V, Badimon L, et al. Up-regulation of reverse cholesterol transport key players and rescue from global inflammation by ApoA-I. *J Cell Mol Med.* 2008 [en prensa].
19. Lu R, Arakawa R, Ito-Osumi C, Iwamoto N, Yokoyama S. ApoA-I facilitates ABCA1 recycle/accumulation to cell surface by inhibiting its intracellular degradation and increases HDL generation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28:1820-4.
20. Yvan-Charvet L, Welch C, Pagler TA, Ranalletta M, Lamkanfi M, Han S, et al. Increased inflammatory gene expression in ABC transporter-deficient macrophages: free cholesterol accumulation, increased signaling via toll-like receptors, and neutrophil infiltration of atherosclerotic lesions. *Circulation.* 2008;118:1837-47.
21. Ibanez B, Vilahur G, Cimmino G, Speidl WS, Pinero A, Choi BG, et al. Rapid change in plaque size, composition, and molecular footprint after recombinant apolipoprotein A-I Milano (ETC-216) administration: magnetic resonance imaging study in an experimental model of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51:1104-9.
22. Jaffer FA, Libby P, Weissleder R. Molecular imaging of cardiovascular disease. *Circulation.* 2007;116:1052-61.
23. Sanz J, Fayad ZA. Imaging of atherosclerotic cardiovascular disease. *Nature.* 2008;451:953-7.
24. Amirbekian V, Lipinski MJ, Briley-Saebo KC, Amirbekian S, Aguinaldo JG, Weinreb DB, et al. Detecting and assessing macrophages in vivo to evaluate atherosclerosis noninvasively using molecular MRI. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104:961-6.
25. Nahrendorf M, Jaffer FA, Kelly KA, Sosnovik DE, Aikawa E, Libby P, et al. Noninvasive vascular cell adhesion molecule-1 imaging identifies inflammatory activation of cells in atherosclerosis. *Circulation.* 2006;114:1504-11.
26. Korosoglou G, Weiss RG, Kedziorek DA, Walczak P, Gilson WD, Schär M, et al. Noninvasive detection of macrophage-rich atherosclerotic plaque in hyperlipidemic rabbits using "positive contrast" magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52:483-91.
27. Hyafil F, Cornily JC, Feig JE, Gordon R, Vucic E, Amirbekian V, et al. Noninvasive detection of macrophages using a nanoparticulate contrast agent for computed tomography. *Nat Med.* 2007;13:636-41.
28. Worthley SG, Zhang ZY, Machac J, Helft G, Tang C, Liew GY, et al. In vivo non-invasive serial monitoring of FDG-PET progression and regression in a rabbit model of atherosclerosis. *Int J Cardiovasc Imaging.* 2009;25:251-7.
29. Jaffer FA, Vinegoni C, John MC, Aikawa E, Gold HK, Finn AV, et al. Real-time catheter molecular sensing of inflammation in proteolytically active atherosclerosis. *Circulation.* 2008;118:1802-9.