

Endotelio en la protección vascular: nuevos conocimientos

Lina Badimón y José Martínez-González

Centro de Investigación Cardiovascular. IIBB/CSIC-Institut de Recerca del Hospital Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

Las células endoteliales (CE) son células altamente especializadas capaces de adaptar su estado funcional a estímulos diversos, por lo que el endotelio ejerce diversas funciones ateroprotectoras: regula la coagulación, la trombosis y el sistema fibrinolítico, modula la actividad de las células musculares de la capa media (tono vascular/proliferación) y controla el tránsito de macromoléculas y células inflamatorias a la pared. Cuando estas funciones son perturbadas (disfunción endotelial) se favorece el desarrollo de lesiones ateroescleróticas. Entre los estímulos fisiopatológicos que pueden causar disfunción endotelial destacan los valores de lípidos plasmáticos, en particular las lipoproteínas de baja (LDL) y muy baja densidad (VLDL). Las LDL se han involucrado en el aumento de permeabilidad y de adhesión celular, así como en la alteración de la producción de moléculas vasoactivas (óxido nítrico [NO], prostaciclina [PGI₂]), mientras que las VLDL parecen afectar sobre todo a la secreción de componentes del sistema fibrinolítico (activador del plasminógeno tisular [t-PA] y su inhibidor [PAI-I]). La función endotelial es dirigida por un reducido número de genes (factores de transcripción) que modulan la respuesta de las CE a estímulos inflamatorios (factor nuclear kappa beta, NF- κ B) o a condiciones de flujo (genes regulados a través de elementos de respuesta a fuerzas de cizalladura, SSRE). Además, en los mecanismos de disfunción endotelial pueden estar involucrados otros factores que controlan rutas biosintéticas vasculares relevantes, como la ruta de síntesis de colesterol, que es regulada en diferentes localizaciones por proteínas de unión a elementos de respuesta a esteroides (SREBP).

Palabras clave: *Endotelio. Disfunción endotelial. Lipoproteínas.*

INTRODUCCIÓN

La monocapa de células endoteliales (CE) que tapiza las paredes vasculares controla la comunicación entre la sangre y los vasos, ejerciendo un papel dual como sensor y transmisor de señales. Las CE son ca-

Endothelium and vascular protection: an update

Endothelial cells (EC) are highly specialized cells capable of modulating their functional stage in response to different stimuli. The endothelium has various atheroprotective functions: it regulates coagulation, thrombosis and the fibrinolytic system; it modulates the activity of smooth muscle cells (vascular tone/proliferation) and controls the traffic of macromolecules and inflammatory cells to the vessel wall. Impairment of these functions (endothelial dysfunction) potentiates the development of atherosclerotic lesions. High levels of plasma lipids, particularly, low-density (LDL) and very-low-density lipoproteins (VLDL) are among the pathophysiologic stimuli that induce endothelial dysfunction. LDLs have been implicated in the induction of changes in permeability, cell adhesion and secretion of vasoactive molecules (nitric oxide [NO], prostacycline [PGI₂]), while VLDLs seem to modulate the fibrinolytic system [tissue plasminogen activator (t-PA) and its inhibitor (PAI-I)]. Endothelial function is controlled by a small number of genes (transcription factors) that modulate EC response to inflammatory stimuli (nuclear factor kappa beta, NF- κ B) or flow conditions (genes-regulated by shear-stress-responsive elements, SSREs). In addition, the control of key cellular biosynthetic pathways, such as endothelial cholesterol biosynthesis, are regulated by sterol-regulatory-elements binding proteins (SREBPs) that could be involved in the maintenance of normal endothelial function.

Key words: *Endothelium. Endothelial dysfunction. Lipoproteins.*

paces de detectar cambios tanto de tipo físico, relacionados con el estrés mecánico producido por el flujo sanguíneo, la presión arterial o la distensión de la pared, como de tipo químico, debidos a la liberación de sustancias por parte de las células sanguíneas o de los tejidos. Su capacidad de adaptarse funcionalmente a estos estímulos le confiere un papel clave en la regulación de la homeostasis vascular a la cual contribuye mediante la liberación de múltiples sustancias activas (fig. 1). Cuando se produce un desequilibrio en la bio-disponibilidad de dichas sustancias que predisponga a la agregación plaquetaria, la trombosis, la inflama-

Correspondencia: Prof. Lina Badimón.
Laboratorio de Investigación Cardiovascular.
Hospital de San Pablo.
Avda. S. Antonio M. Claret, 167. 08025 Barcelona.
Correo electrónico: ibmucv@cid.csic.es

ABREVIATURAS

5HT: 5-hidroxitriptamina (serotonina).
 AA: ácido araquidónico.
 ADP: adenosindifosfato.
 bFGF: factor de crecimiento de fibroblastos básico.
 BK: bradisinina.
 CAM: moléculas de adhesión celular.
 CE: células endoteliales.
 CML: células musculares lisas.
 eNOS: óxido nítrico sintasa endotelial.
 ET: endotelina.
 G-CSF: factor estimulante de colonias de granulocitos.
 GM-CSF: factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos.
 GMP: guanosinmonofosfato.
 HDL: lipoproteínas de alta densidad.
 ICAM-1: molécula de adhesión intercelular-1.
 IL-1 β : interleucina-1 beta.
 LDL: lipoproteínas de baja densidad.
 LDLmm: LDL mínimamente modificadas.
 LDLox: LDL oxidadas.
 LDLR: receptor de LDL.
 Lp(a): lipoproteína (a).
 MCP-1: proteína quimiotáctica de monocitos.
 M-CSF: factor estimulante de colonias de macrófagos.
 NF- κ B: factor nuclear kappa beta.
 nLDL: LDL nativas.
 NO: óxido nítrico.
 PAF: factor activador de plaquetas.
 PAI-1: inhibidor-1 del t-PA.
 PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas.
 PGI₂: prostaciclina.
 PPA-R γ : receptor activador de la proliferación de peroxisomas gamma.
 SREBP: proteínas de unión a elementos de regulación por esteroides.
 SSRE: elementos de respuesta a flujo.
 TGF- β : factor de crecimiento transformador beta.
 TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa.
 t-PA: activador tisular del plasminógeno.
 TXA₂: tromboxano A₂.
 VCAM-1: molécula de adhesión vascular-1.
 VEGF: factor de crecimiento del endotelio vascular.
 VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad.

ción, la vasoconstricción o que produzca un incremento de la permeabilidad vascular, se habla de disfunción endotelial¹. En las últimas décadas se ha evidenciado que ciertos factores de riesgo coronario bien caracterizados (LDL, tabaquismo, diabetes, hipertensión...) y otros factores emergentes (radicales libres

de oxígeno, homocisteína, infecciones, déficit estrogénico...) producen disfunción endotelial¹. Además, de forma experimental se ha demostrado que la función endotelial se ve afectada por numerosos factores vinculados con la cardiopatía isquémica, en especial con los valores de lipoproteínas (LDL, Lp[a]) y con otras proteínas plasmáticas (trombina, plasmina, anticuerpos, etc.).

El endotelio como barrera de permeabilidad selectiva para macromoléculas

El endotelio de las arterias coronarias y del resto de grandes arterias es de tipo continuo, caracterizado por uniones intercelulares estrechas que restringen el tráfico de macromoléculas. Las CE son células altamente especializadas que se orientan longitudinalmente en la dirección del flujo sanguíneo y que poseen polaridad (superficie luminal en contacto con la luz vascular frente a la superficie estrechamente unida a la membrana basal). El incremento de permeabilidad endotelial parece vinculado a un proceso de contracción celular mediado por calcio y a una desorganización del citoesqueleto. Diversos estímulos fisiopatológicos, como la trombina², generada como consecuencia de la activación de la cascada de la coagulación, o las lipoproteínas³, producen cambios espectaculares en la permeabilidad endotelial. El efecto de la trombina parece ligado a una desorganización del complejo VE-caderina-catenina que forma las uniones intercelulares².

El incremento de la permeabilidad endotelial, producida por las LDL, ha sido observado *in vitro*⁴, *ex vivo*⁵ e *in vivo*⁶. De hecho, hasta hoy la única forma de inducir lesiones ateroscleróticas en animales de experimentación, similares a las encontradas en las arterias humanas, es mediante la administración de dietas ricas en colesterol y grasa saturada. Este tipo de dietas produce un aumento de las concentraciones de LDL en plasma y facilita su acumulación en el espacio subendotelial en zonas donde la permeabilidad se halla incrementada (fig. 2). En estos modelos animales se ha observado que las regiones más propensas a desarrollar lesiones ateroscleróticas presentan una mayor permeabilidad a las LDL y las VLDL⁷. Este efecto de las lipoproteínas parece vinculado a la desorganización que producen en el citoesqueleto celular^{8,9}, en el que se ha involucrado a las proteínas Rho⁹.

Finalmente, se ha observado que concentraciones aterogénicas de LDL nativas y bajas concentraciones de LDL oxidadas (LDLox) incrementan la permeabilidad vascular, ya que reducen el contenido de proteoglicanos de heparan sulfato que componen la matriz extracelular del espacio subendotelial. Este efecto se produciría mediante una regulación negativa de la síntesis de estas moléculas, así como de un incremento de su degradación gracias a la inducción de la secreción endotelial de heparanasa¹⁰.

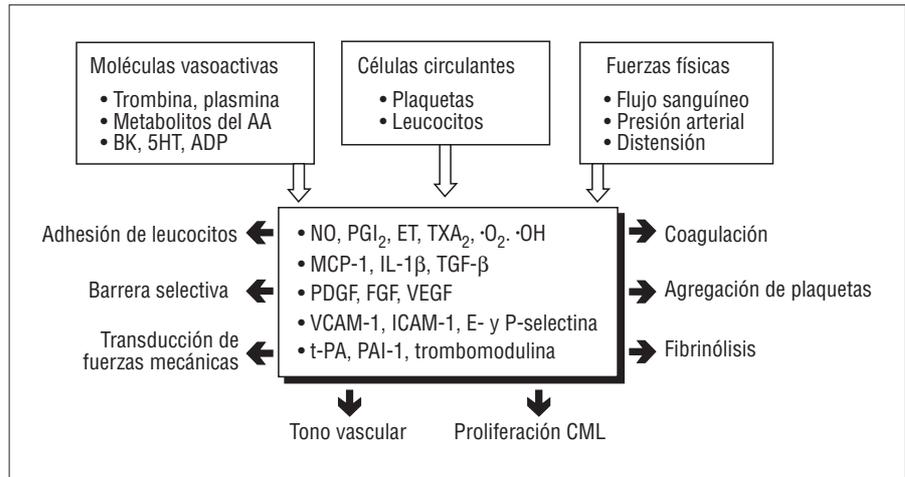


Fig. 1. Factores derivados del endotelio. Moléculas secretadas por el endotelio en respuesta a estímulos (células circulantes, sustancias vasoactivas, fuerzas físicas) y funciones vasculares reguladas por el endotelio.

El endotelio como regulador de la respuesta vascular a estímulos inflamatorios

La arteriosclerosis presenta características de enfermedad inflamatoria crónica, y los resultados obtenidos en modelos animales, en los que se induce el desarrollo de lesiones ateroscleróticas, evidencian la relevancia del endotelio en el desarrollo y la perpetuación de dicho estado inflamatorio. El endotelio activado expresa/secretora citocinas (como la interleucina-1 [IL-1]), factores de crecimiento (PDGF, bFGF...), factores quimioatrayentes (proteína-1 quimiotáctica para monocitos [MCP-1]) y proteínas de superficie que actúan como moléculas de adhesión (CAM) de leucocitos circulantes^{11,12}. Cybulski y Gimbrone, en un estudio pionero llevado a cabo en conejos hipercolesterolémicos, demostraron que en el endotelio de las

áreas donde se infiltran monocitos y se desarrollan lesiones arterioscleróticas se detectaban elevados valores de una de estas CAM, la molécula de adhesión vascular-1 (VCAM-1), cuya expresión es indetectable en el endotelio normal¹³. Otra de las CAM de la que se dispone de mayor evidencias experimentales sobre su papel en la adhesión de monocitos es la P-selectina. La P-selectina, que está almacenada en los cuerpos de Weibel-Palade junto con el factor de von Willebrand (vWF) (fig. 3), se expone en la superficie de las CE de las lesiones ateroscleróticas pero no en áreas sin lesión¹⁴.

El dominio extracelular de las CAM (tabla 1) puede liberarse al torrente circulatorio, y parece que sus valores circulantes se correlacionan con la expresión a nivel celular. Por ello, actualmente se evalúan dichos valores como marcadores de evolución de las lesiones

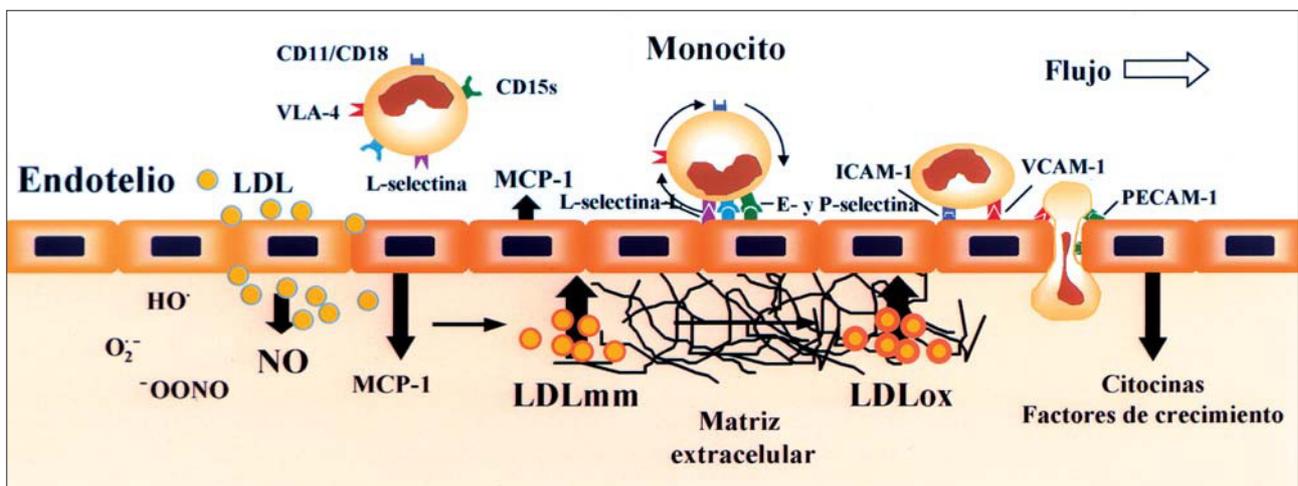


Fig. 2. Disfunción endotelial en la aterogénesis. Las LDL interactúan con componentes de la matriz extracelular (proteoglicanos y glucosaminoglicanos) presentes en la íntima lo que favorece su degradación proteolítica y su oxidación. Las LDLox *per se* inducen la expresión de factores quimiotácticos (MCP-1) y de moléculas de adhesión (VCAM-1 y P-selectina), que son clave en el proceso de reclutamiento de monocitos. Los leucocitos ruedan sobre la superficie endotelial y se unen primero débilmente a las selectinas, y posteriormente con más fuerza a CAM de la familia de las inmunoglobulinas (ICAM y VCAM), cuyos valores de expresión se encuentran incrementados en las áreas de lesión.

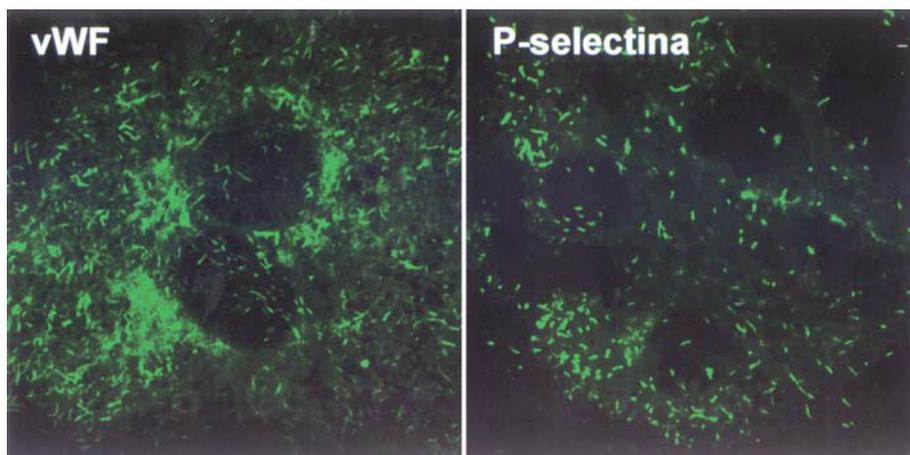


Fig. 3. Moléculas de adhesión en CE en cultivo. Las CE en cultivo crecen en monocapa y adquieren una disposición típica en forma de «adoquinado». Se muestra la tinción de dos proteínas implicadas en la adhesión: el factor de von Willebrand (vWF) y la P-selectina, ambas se almacenan en los cuerpos de Weibel-Palade y son expuestas/secretadas cuando la célula es estimulada.

TABLA 1. Moléculas de adhesión expresadas por el endotelio y otras células implicadas en la arteriosclerosis

Familia	Molécula/nomenclatura (CD)	Célula	Ligando
Selectinas	E-selectina (ELAM-1, CD62E)	Endotelio	Sialil-Lewis y Lewis
	P-selectina (CD62P, PADGEM)	Endotelio, plaquetas	Sialil-Lewis y Lewis
	L-selectina (CD62L)	Leucocitos	Sialil-Lewis y Lewis
Inmunoglobulinas	ICAM-1 (CD54)	Endotelio, líneas leucocitarias	LFA-1 y Mac-1
	ICAM-2	Endotelio, plaquetas	LFA-1 y Mac-1
	ICAM-3 (CD50)	Leucocitos	
	VCAM-1 (CD106)	Endotelio, CML	VLA-4
	PECAM-1 (CD31)	Endotelio, plaquetas, leucocitos	

CML: célula muscular lisa. ELAM: molécula de adhesión de endotelio-leucocito. ICAM: molécula de adhesión intercelular. VCAM: molécula de adhesión vascular. PECAM: molécula de adhesión de plaquetas y células endoteliales. LFA: antígeno asociado a función de leucocitos. VLA: antígeno de activación muy tardía.

ateroscleróticas y procesos patológicos asociados (diabetes, dislipemias, hipertensión y reestenosis postangioplastia). En general, estas enfermedades producen un aumento de las concentraciones de las formas solubles de algunas de las CAM mencionadas. Se han en-

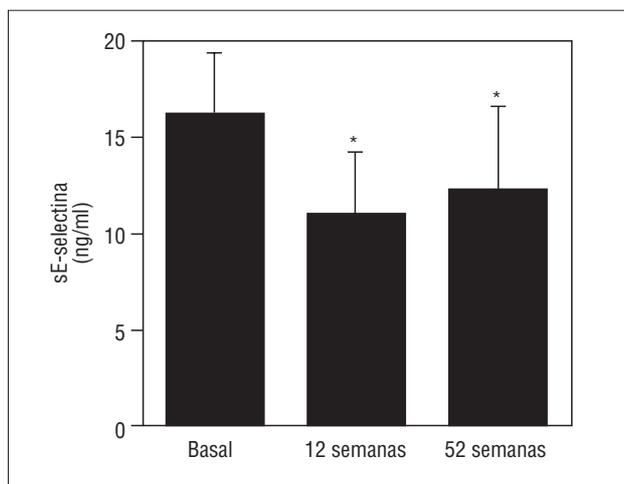


Fig. 4. Valores de E-selectina circulantes (sE-selectina) en pacientes con hipercolesterolemia familiar en el momento de comenzar el tratamiento con simvastatina (basal) y después de 12 y 52 semanas de ser instaurado el tratamiento. (Modificado de Alonso et al²¹.)

contrado valores elevados de las formas solubles de ICAM-1 y P-selectina en pacientes con cardiopatía isquémica^{15,16}, y de ICAM-1 y VCAM-1 en pacientes con hipertrigliceridemia¹⁷ y enfermedad arteriosclerótica periférica o cerebral^{18,19}. En el Physicians' Health Study los valores circulantes de ICAM-1 en el momento de la selección de los pacientes predijo el desarrollo de episodios cardiovasculares a largo plazo, y su correlación con otros marcadores de inflamación como los valores de proteína C reactiva²⁰. Recientemente, nuestro grupo ha evidenciado que el tratamiento con inhibidores de la HMG-CoA reductasa mejora la función endotelial de pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigota, y reduce significativamente las concentraciones circulantes de E-selectina²¹ (fig. 4). Por tanto, en estos pacientes la mejora de la respuesta vasodilatadora dependiente del endotelio parece, además, asociada a una disminución de la activación/lección endotelial.

El endotelio como regulador del tono vascular: papel del óxido nítrico

Desde su descubrimiento y caracterización^{22,23}, el óxido nítrico (NO) se ha revelado como la molécula más versátil que sintetiza el endotelio, ya que posee la

Fig. 5. Efecto de concentraciones aterogénicas de LDL sobre los valores de ARN mensajero (ARNm) y proteína de la enzima eNOS. *A)* Western blot que muestra la inhibición dependiente de tiempo de los valores de la enzima eNOS en CE humanas por concentraciones aterogénicas de LDL (180 mg/dl). En estas condiciones no se vieron afectados los valores de ciclooxigenasa-1 (Cox-1), enzima reguladora de la producción de prostaciclina. *B)* Northern blot que pone de manifiesto la inhibición dependiente del tiempo de los valores de ARNm de eNOS. *C y D)* Inhibición dependiente de la dosis de los valores de proteína (*C*) y ARNm (*D*) de eNOS por las nLDL. (Modificado de Vidal et al³².)

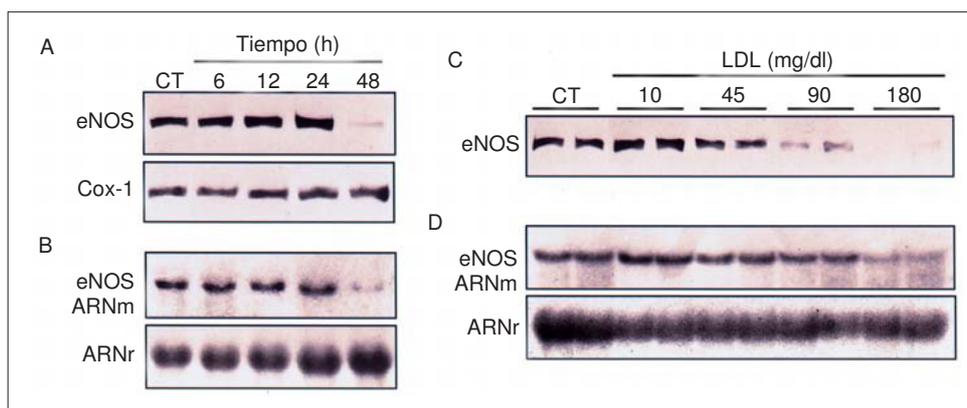
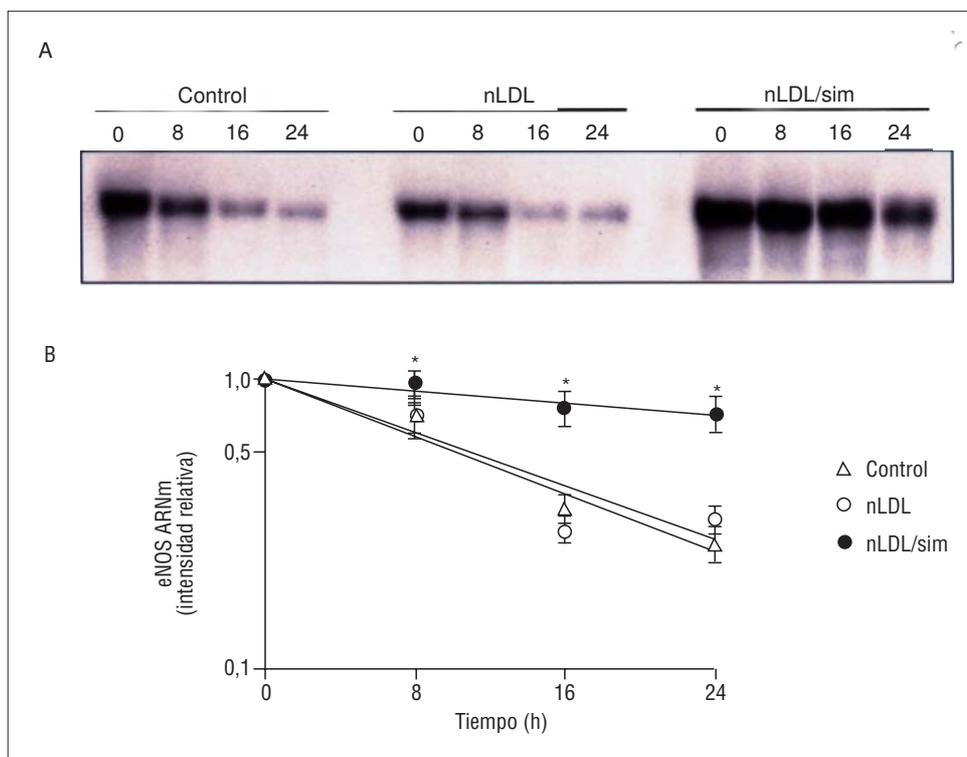


Fig. 6. Incremento de la vida media del ARN mensajero de eNOS por inhibidores de la HMG-CoA reductasa. *A)* CE humanas fueron incubadas con LDL (LDL, 180 mg/dl) en ausencia o en presencia de simvastatina (sim, 0,1 μ mol/l) durante 48 h y, posteriormente, durante tiempos variables (de 8 a 24 h) en presencia de un inhibidor de la transcripción. Se ilustra un experimento representativo de Northern blot donde se aprecia cómo la simvastatina incrementa significativamente la vida media del mensajero de eNOS. *B)* Resultado de la cuantificación de los experimentos de Northern blot. * < 0,05 frente a control. (Modificado de Martínez-González et al³³.)



mayor parte de las propiedades ateroprotectoras que se le atribuyen a éste: vasodilatador, antiagregante plaquetario, inhibidor de la proliferación de las CML, antioxidante e inhibidor de la expresión de CAM y la adhesión de monocitos. Por tanto, a través de la alteración de la producción de NO los estímulos aterogénicos perturban profundamente la homeostasis vascular y potencian el desarrollo de lesiones ateroscleróticas. Esta disminución de la dilatación dependiente del endotelio es la manifestación más temprana de la disfunción endotelial. Se observa tanto en pacientes con hipercolesterolemia como en aquellos con valores elevados de Lp(a), diabetes u homocistinuria^{24,25}. La

alteración de la dilatación dependiente del endotelio producida por la hipercolesterolemia se debe a una disminución de la biodisponibilidad de NO²⁶. Las LDL pueden alterar la producción de NO actuando de diferentes formas: incrementando la fracción de la enzima que regula la producción de NO (la óxido nítrico sintasa endotelial, eNOS) unida a caveolina-1, y por tanto insensible a la regulación por calcio-calmodulina²⁷, incrementando la degradación del NO²⁸, o bien aumentando la inhibición competitiva de la formación de NO por ADMA (*asymmetric dimethylarginine*), un inhibidor endógeno cuyos valores se encuentran elevados en pacientes hipercolesterolémicos²⁹. Sin embargo, *in*

vivo la hipótesis más verosímil parece ser una reducción neta de la actividad de la enzima eNOS debido a una inhibición de las concentraciones de ARNm y la proteína de esta enzima. Esta inhibición se ha observado *in vitro* en respuesta a LDLox³⁰ y concentraciones aterogénicas de LDL nativas^{31,32,33} (fig. 5). Además, se ha observado que las arterias humanas con lesiones ateroscleróticas contienen menor cantidad de eNOS³⁴.

La mejoría de la función endotelial producida por los tratamientos con fármacos hipolipemiantes^{35,36} ha llevado a un intenso estudio de los mecanismos moleculares que subyacen a tales efectos. Actualmente, varios grupos de investigación han puesto de manifiesto en CE en cultivo que la temprana mejoría de la dilatación dependiente del endotelio producida por los inhibidores de la HMG-CoA reductasa se debe a un incremento de la vida media del ARNm que codifica para la enzima eNOS³³ (fig. 6).

El endotelio como regulador del equilibrio hemostático/trombótico

Durante muchos años la incapacidad del endotelio de activar la cascada de coagulación y fomentar la adhesión de plaquetas se consideró una función pasiva, relacionada con ciertas carencias más que como resultado de su participación activa en la hemostasia. Esta idea cambió al descubrirse que las CE producían prostaciclina (PGI₂), un extraordinario inhibidor de la agregación plaquetaria. Posteriormente, se descubrió que el NO actúa sinérgicamente con la prostaciclina como antiagregante plaquetario²³. De hecho, el NO inhibe la adhesión, la activación, la secreción y la agregación plaquetaria.

El endotelio ejerce un papel central en la regulación de la hemostasia ya que aporta importantes elementos de los sistemas de coagulación, trombosis y fibrinólisis del organismo. Además de NO y PGI₂, las CE producen trombospondina, moléculas con actividad heparina-like y ADPasa, que hidroliza el ADP (agregante plaquetario). Como agentes protrombóticos secreta PAF, moléculas de adhesión para las plaquetas (como vWF, fibronectina y trombospondina) y factores de coagulación (como el factor V) y, en respuesta a distintos factores fisiopatológicos expresa factor tisular³⁷.

El endotelio también regula la fibrinólisis, ya que produce activador tisular del plasminógeno (t-PA), urocinasa e inhibidor-1 del t-PA (PAI-1). La biosíntesis de estas moléculas es alterada por los lípidos plasmáticos, particularmente por las VLDL³⁸, que ejercen su acción a través de un elemento de respuesta a VLDL presente en el promotor del gen que codifica para el PAI-1³⁹. Este efecto de las VLDL se incrementa si éstas proceden de individuos con hipertrigliceridemia³⁹. La susceptibilidad individual a la alteración de esta función endotelial por la hipertrigliceridemia parece ligada a la presencia de ciertas variantes polimór-

ficas en el gen del PA-1, como el polimorfismo *Hind*III que se ha asociado con diferencias en la actividad y la capacidad de las VLDL de modular la producción de PAI-1⁴⁰. Algunos estudios epidemiológicos han encontrado una asociación entre los valores elevados de colesterol en plasma y tiempo prolongado de euglobulina, lo que sugiere una alteración del equilibrio entre la liberación de activadores del plasminógeno y sus inhibidores por el endotelio⁴¹. El efecto de los inhibidores de la HMG-CoA reductasa sobre el equilibrio t-PA/PAI-1^{42,43} podría contribuir a los efectos vasculares directos que se han atribuido a estos fármacos.

Finalmente, los resultados de diferentes estudios epidemiológicos en relación con el posible efecto de los lípidos sobre la producción y la secreción del vWF son contradictorios. Unos estudios sugieren que el tamaño de las partículas de LDL es determinante de los valores de vWF circulante⁴¹; otros han encontrado una correlación entre los valores circulantes de vWF con las cifras de triglicéridos plasmáticos y HDL, pero no con los de colesterol total⁴⁴; mientras que el estudio EURODIAB únicamente encontró una correlación de los valores de vWF con el colesterol total y los triglicéridos en varones, pero no en mujeres⁴⁵.

Significación fisiopatológica del equilibrio proliferación/apoptosis en el endotelio

En condiciones normales las CE tienen un índice de recambio muy bajo, que aumenta significativamente en las zonas más vulnerables a la aparición de lesiones, donde también se observa un mayor número de células en proceso de apoptosis. De hecho, el flujo laminar, que se considera uno de los factores endógenos de mayor poder antiaterogénico, protege a las CE inhibiendo la apoptosis⁴⁶. Por el contrario, algunos factores proaterogénicos, como las LDLox⁴⁷, las citocinas inflamatorias, la angiotensina II y las especies reactivas de oxígeno, inducen apoptosis de las CE⁴⁸. Además, recientemente hemos observado que las LDL nativas a concentraciones aterogénicas promueven *per se* apoptosis de las CE⁴⁹. Por tanto, los valores circulantes de LDL modulan profundamente la fisiología del endotelio vascular y pueden condicionar la capacidad de respuesta de éste a estímulos proaterogénicos vinculados con otros factores de riesgo.

La relevancia del endotelio en la homeostasis de la pared vascular se evidencia de forma espectacular en las intervenciones intravasculares que causan desendotelización, con la consiguiente pérdida temporal de las funciones vasoprotectoras que éste realiza. La pérdida del endotelio y la exposición del contenido de las placas ateroscleróticas, sobre todo el componente lipídico⁵⁰, activa la adhesión/agregación de plaquetas, que liberan localmente factores quimiotácticos y mitogénicos que ponen en marcha la reparación de la pared vascular⁵¹. Aunque los mecanismos moleculares impli-

cados en la recuperación de un endotelio funcional se activan de forma inmediata, la exposición de la pared desprovista de endotelio puede persistir durante varias semanas⁵². En la reparación vascular se implican las CE, que a partir de los bordes del endotelio intacto colonizan las áreas contiguas desendotelizadas y las CML, que proliferan y secretan matriz extracelular⁵³.

La reendotelización se activa por la pérdida de la inhibición por contacto de la replicación, que mantiene al endotelio inactivo, y por la liberación local de factores que específicamente potencian dicha actividad, como el factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF)⁵⁴ y el factor de crecimiento derivado de fibroblastos (FGF)⁵⁵. El primero de ellos es sintetizado por las CML y ejerce un efecto trófico de forma relativamente específica sobre las CE, mientras que el FGF lo producen y almacenan tanto las CE como las CML, y ejerce efectos sobre ambas. El efecto de estos factores, particularmente del FGF, puede prolongarse en el tiempo ya que puede permanecer activo unido a proteínas de matriz extracelular. El NO también desempeña

un papel en los mecanismos de reparación vascular. El NO estimula la migración y la proliferación de las CE⁵⁶, lo que juntamente con su efecto inhibitorio sobre la migración y la proliferación de las CML⁵⁷, facilita la reendotelización y limita la proliferación neointimal ligada a la lesión vascular. De hecho, en modelos experimentales se ha observado que las áreas que reendotelizan antes presentan un menor grado de engrosamiento intimal y una proliferación de las CML⁵⁸.

Regulación de la función endotelial mediante el control de la expresión génica

La disfunción endotelial asociada a la aterogénesis implica una alteración profunda de su patrón de expresión génica que conlleva la inducción de genes que en condiciones fisiológicas estarían reprimidos, así como la inhibición de otros expresados en condiciones normales. Uno de los principales moduladores de la expresión endotelial de genes es el régimen de flujo al que está expuesto el endotelio. Las lesiones ateroscle-

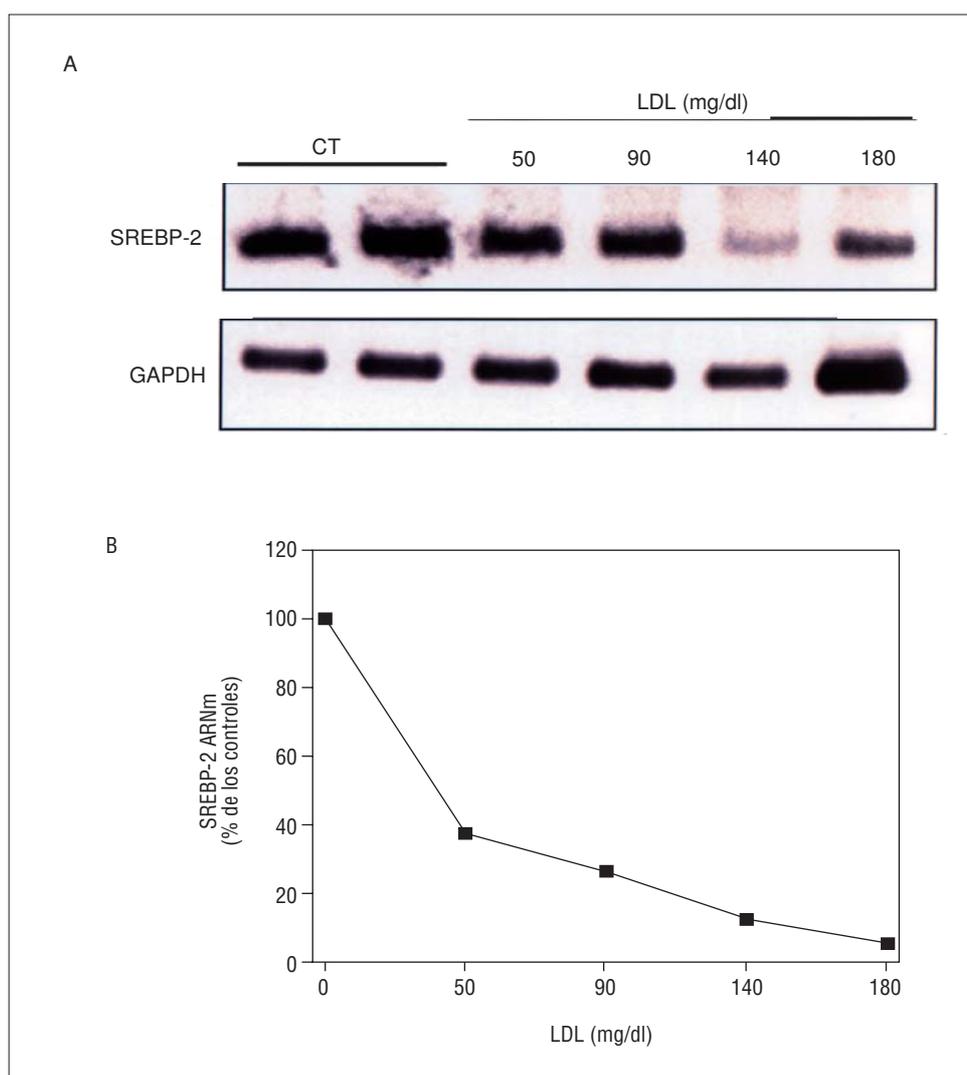


Fig. 7. Modulación de la expresión endotelial de SREBP-2 por las LDL. *A)* Inhibición dependiente de la dosis de los niveles de ARNm de SREBP-2 (principal factor de transcripción implicado en la regulación génica mediada por colesterol) por LDL en CE. *B)* Gráfica que ilustra la cuantificación de los valores de ARNm de SREBP-2 obtenidos mediante la reacción en cadena de la polimerasa. (Modificado de Rodríguez et al⁶⁸.)

róticas humanas se localizan preferentemente en las bifurcaciones y curvaturas de las arterias, donde el flujo sanguíneo es lento u oscilatorio⁵⁹. Por el contrario, las regiones de flujo laminar uniforme parecen estar relativamente protegidas del desarrollo de lesiones⁶⁰. En los últimos años se ha comenzado a comprender los mecanismos que subyacen en la modulación de la función endotelial por fuerzas mecánicas. Utilizando técnicas de análisis diferencial de la expresión génica se han identificado varios genes que son específicamente inducidos por flujo laminar, como la ciclooxygenasa-2 y la eNOS⁶¹. Por el contrario, en condiciones de flujo turbulento no se produce la activación de dichos genes. El flujo prácticamente modula todas las moléculas producidas por el endotelio: moléculas que regulan el tono vascular (NO, endotelina-1), el crecimiento celular (FGF, PDGF-AA y -BB, TGF- β), la adhesión (MCP-1, VCAM-1, ICAM-1), la fibrinólisis (t-PA) y la trombosis (trombomodulina y factor tisular)⁶²⁻⁶⁴. Los mecanismos responsables de la modulación por flujo están siendo objeto de estudio. Parece que estos efectos se deben, al menos en parte, a la presencia en el promotor de estos genes de elementos de respuesta a flujo (*shear stress response elements*, SSRE)⁶⁵. Además, el flujo modula la activación de múltiples factores de transcripción (NF- κ B, Egr-1, *c-jun*, *c-fos*) implicados en la activación/represión de los genes mencionados anteriormente⁶⁶.

En los últimos años también se han acumulado evidencias que subrayan la relevancia del factor nuclear kappa beta (NF- κ B) como común denominador en la expresión coordinada de los genes inducidos en la activación endotelial⁶⁷. El factor NF- κ B se encuentra en el citoplasma en forma de heterodímero inactivo unido a proteínas inhibitoras denominadas genéricamente I- κ B. Cuando la célula recibe estímulos inflamatorios se activa la fosforilización y ubiquitinación de I- κ B, lo que sirve de «señal» para que sufra degradación proteolítica. Entonces, los heterodímeros se translocan al núcleo donde activa la transcripción de genes diana que poseen en su promotor elementos de respuesta κ B. Entre los genes regulados por NF- κ B se encuentran las citocinas (factor necrosante de tumores [TNF- α e IL-1, -6 y -8]), los factores estimuladores de la formación de colonias de granulocitos/macrófagos (G-CSF, M-CSF, GM-CSF), MCP-1, el factor tisular, varias moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1) y *c-myc*.

Sin embargo, la disfunción endotelial puede involucrar a otros factores de transcripción. En este sentido, en un reciente estudio realizado en un modelo porcino de hipercolesterolemia, mediante técnicas de análisis diferencial de expresión génica hemos puesto de manifiesto que las LDL, a través de la regulación de factores de transcripción, como las proteínas de unión a elementos de regulación por esteroides (*sterol regulatory element binding proteins*, SREBP), modulan la expresión de enzimas implicadas en la síntesis endógena de

colesterol, tanto en CE en cultivo como en la pared vascular *in vivo*⁶⁸ (fig. 7). Dado que el número de genes regulados por SREBP es muy amplio e incluye algunos de notable interés en el desarrollo de lesiones ateroscleróticas, como los receptores de las LDL⁶⁹ y las HDL⁷⁰, la lipoproteinlipasa⁷¹ y PPAR γ ⁷², las LDL nativas podrían afectar a otros muchos genes a través de la modulación de la actividad de estos factores de transcripción.

BIBLIOGRAFÍA

1. Drexler H. Endothelial dysfunction: clinical implication. *Prog Cardiovasc Dis* 1997;4:287-324.
2. Rabiet MJ, Plantier JI, Rival Y, Genoux Y, Lampugnani MG, Dejana E. Polymorphonuclear leukocyte adhesion triggers the disorganization of endothelial cell-to-cell adherens junctions. *J Cell Biol* 1996;135:497-510.
3. Alexander JJ, Miguel R, Piotrowski JJ. Calcium regulation of endothelial permeability to low-density lipoprotein. *J Surg Res* 1995;59:371-7.
4. Langelier EG, Snelting-Havinga I, Van Hinsbergh VWM. Passage of low density lipoproteins through monolayers of human arterial endothelial cell: effects of vasoactive substances in an in vitro model. *Arteriosclerosis* 1989;9:550-9.
5. Gardner G, Banka CL, Roberts KA, Mullick AE, Rutledge JC. Modified LDL-mediated increases in endothelial layer permeability are attenuated with 17 β -estradiol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;19:854-61.
6. Rangaswamy S, Penn MS, Saidel GM, Chisolm GM. Exogenous oxidized low-density lipoprotein injures and alters the barrier function of endothelium in rats in vivo. *Circ Res* 1997;80:37-44.
7. Nordestgaard B, Nielsen L. Atherosclerosis and arterial influx of lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1994;5:252-7.
8. Zhao B, Ehringer WD, Dierichs R, Miller FN. Oxidized low-density lipoprotein increases endothelial intracellular calcium and alters cytoskeletal f-actin distribution. *Eur J Clin Invest* 1997;27:48-54.
9. Essler M, Retzer M, Bauer M, Heemskerk JW, Aepfelbacher M, Siess W. Mildly oxidized low density lipoprotein induces contraction of human endothelial cells through activation of Rho/Rho kinase and inhibition of myosin light chain phosphatase. *J Biol Chem* 1999;274:30361-4.
10. Pillarisetti S. Lipoprotein modulation of subendothelial heparan sulfate proteoglycans (Perlecan) and atherogenicity. *Trends Cardiovasc Med* 2000;10:60-5.
11. Martínez-González J, Llorente-Cortés V, Badimón L. Biología celular y molecular de las lesiones ateroscleróticas. *Rev Esp Cardiol* 2001;54:218-31.
12. Badimón L, Martínez-González J. Bases moleculares y genéticas de las cardiopatías. En: Bayés de Luna A, López Sendón JL, Attie F, editores. *Cardiología clínica* [en prensa]. Barcelona: Ed. Masson S.A. 2002.
13. Cybulski MI, Gimbrone MA Jr. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science* 1991;251:788-91.
14. Johnson-Tidey RR, McGregor JL, Taylor PR, Poston RN. Increase in the adhesion molecule P-selectin in endothelium overlying atherosclerotic plaques. coexpression with intercellular adhesion molecule-1. *Am J Pathol* 1994;144:952-61.
15. Ikeda H, Takajo Y, Ichiki K, Ueno T, Maki S, Noda T, et al. Increased soluble form of P-selectin in patients with unstable angina. *Circulation* 1995;92:1693-6.
16. Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharret AR, Smith LC, Davis LE, Gotto AM, et al. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1 and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) Study. *Circulation* 1997;96:4219-25.

17. Abe Y, El-Masi B, Kimball KT, Pownall H, Reilly CF, Osmundsen K, et al. Soluble cell adhesion molecules in hypertriglyceridemia and potential significance on monocyte adhesion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:723-31.
18. Frijns CJM, Kappelle LJ, Van Gijn J, Nieuwenhuis HK, Sixma JJ, Fijnheer R. Soluble adhesion molecules reflect endothelial cell activation in ischemic stroke and in carotid atherosclerosis. *Stroke* 1997;28:2214-8.
19. Peter K, Nawroth P, Conrad C, Nordt T, Weiss T, Boehme M, et al. Circulating vascular cell adhesion molecule-1 correlates with the extent of human atherosclerosis in contrast to circulating intercellular adhesion molecule-1, E-selectin, P-selectin, and trombosmodulin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:503-12.
20. Ridker P, Hennekens C, Roitman-Johnson B, Stampfer M, Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risk of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet* 1998;351:88-92.
21. Alonso R, Mata P, De Andrés R, Villacastin BP, Martínez-González J, Badimón L. Sustained long-term improvement of arterial endothelial function in heterozygous familial hypercholesterolemia patients treated with simvastatin. *Atherosclerosis* 2001;157:423-9.
22. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-6.
23. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-42.
24. Andrews HE, Bruckdorfer KR, Dunn RC, Jacobs M. Low density lipoproteins inhibit endothelium-dependent relaxation in rabbit aorta. *Nature* 1987;327:237-9.
25. Zeiher AM, Drexler H, Wollschlager H, Just H. Modulation of coronary vasomotor tone in humans. Progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1991;83:391-401.
26. Casino PR, Crescence MK, Quyyumi AA, Hoeg JM, Panza JA. The role of nitric oxide in endothelium-dependent vasodilation of hypercholesterolemic patients. *Circulation* 1993;88:2541-7.
27. Feron O, Dessy C, Moniotte S, Desager JP, Balligand JL. Hypercholesterolemia decreases nitric oxide production by promoting the interaction of caveolin and endothelial nitric oxide synthase. *J Clin Invest* 1999;103:897-905.
28. Chin JH, Azhar S, Hoffman BB. Inactivation of endothelial derived relaxing factor by oxidized lipoproteins. *J Clin Invest* 1992;89:10-8.
29. Boger RH, Bode-Boger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, et al. Asymmetric dimethylarginine/ADMA: a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998;98:1842-7.
30. 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.
31. Teupser D, Thiery J, Haas U, Stein O, Stein Y, Seidel D. Expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in the aorta of hypercholesterolemic rabbits with high (HAR) and low (LAR) atherosclerotic response. *Atherosclerosis* 1997;128:157-64.
32. Vidal F, Colomé 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.
33. Martínez-González J, Raposo B, Rodríguez C, Badimón L. HMG-CoA reductase inhibition prevents eNOS downregulation by atherogenic levels of native LDL: balance between transcriptional and post-transcriptional regulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:804-9.
34. Oemar BS, Tschudi MR, Godoy N, Brovkovich V, Malinski T, Lüscher TF. Reduced endothelial nitric oxide synthase expression and production in human atherosclerosis. *Circulation* 1998;97:2494-8.
35. O'Driscoll G, Green D, Taylor RR. Simvastatin, an HMG-Coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month. *Circulation* 1997;95:1126-31.
36. John S, Schlaich M, Langenfeld M, Weihprecht H, Schmitz G, Weidinger G, et al. Increased bioavailability of nitric oxide after lipid-lowering therapy in hypercholesterolemic patients. A randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Circulation* 1998;98:211-6.
37. Grabowski EF, Lam FP. Endothelial cell function, including tissue factor expression, under flow conditions. *Thromb Haemostasis* 1995;74:123-8.
38. Grafe M, Auch-Schwelk W, Hertel H, Terbeek D, Steinheider G, Loebe M, et al. Human cardiac microvascular and macrovascular endothelial cells respond differently to oxidatively modified LDL. *Atherosclerosis* 1998;137:87-95.
39. Erikson P, Nilsson L, Karpe F, Hamsten A. Very-low-density lipoprotein response element in the promoter of the human plasminogen activator inhibitor-1 gene implicated in the impaired fibrinolysis of hypertriglyceridemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:20-6.
40. Li XN, Grenet HE, Benza RL, Demissie S, Brown SL, Tabengwa EM, et al. Genotype-specific transcriptional regulation of PAI-1 expression by hypertriglyceridemic VLDL and Lp(a) in cultured human endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3215-23.
41. Dart M, Cooper B, Kay SB, Salem H. Relationships between protein C, protein S, von Willebrand factor and euglobulin lysis time and cardiovascular risk factors in subjects with and without coronary heart disease. *Atherosclerosis* 1998;140:55-64.
42. Bourcier T, Libby P. HMG-CoA reductase inhibitors reduce plasminogen activator inhibitor-1 by human vascular smooth muscle and endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:556-62.
43. López S, Peiretti F, Bonardo B, Juhan-Vague I, Nalbone G. Effect of atorvastatin and fluvastatin on the expression of plasminogen activator inhibitor type-1 in cultured human endothelial cells. *Atherosclerosis* 2000;152:359-66.
44. Conlan MG, Folsom AR, Finch A, Davis CE, Sorlie P, Marcucci G, et al. Association of factor VIII and von Willebrand factor with age, race, sex, and risk factors for atherosclerosis. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Thromb Haemostasis* 1993;70:380-5.
45. Greaves M, Malia RG, Goodfellow K, Mattock M, Stevens LK, Stephenson JM, et al. Fibrinogen and von Willebrand factor in IDDM: relationship to lipid vascular risk factors, blood pressure, glycaemic control and urinary albumin excretion rate: the EURO-DIAB IDDM Complications Study. *Diabetologia* 1997;40:698-705.
46. Dimmeler S, Haendeler J, Rippmann V, Nehls M, Zeiher AM. Shear stress inhibits apoptosis of human endothelial cells. *FEBS Letters* 1996;399:71-4.
47. Sato N, Kokame K, Miyata T, Kato H. Lysophosphatidylcholine decreases the synthesis of tissue pathway inhibitor in human umbilical vein endothelial cells. *Thromb Haemostasis* 1998;79:217-21.
48. Dimmeler S, Hermann C, Zeiher AM. Apoptosis of endothelial cells. Contribution to the pathophysiology of atherosclerosis. *Eur Cytokine Netw* 1998;9:697-8.
49. Rodríguez C, Martínez-González J, Raposo B, Badimón L. Las lipoproteínas nativas de baja densidad potencian la apoptosis inducida por privación de suero en células endoteliales. *Clin Invest Arterioscler* 2001;13:13-4.
50. Fernández-Ortiz A, Badimón JJ, Falk E, Fuster V, Meyer B, Mailhac A, et al. Characterization of the relative thrombogenicity of atherosclerotic plaque components: Implications for consequences of plaque rupture. *J Am Coll Cardiol* 1994;23:1562-9.
51. Badimón L, Martínez-González J, Royo T. Fisiopatología de los síndromes coronarios agudos. En: Betriu E, editor. *Síndromes coronarios agudos*. Madrid: Ed. Ergon S.A. 1999; p. 3-52.
52. Martínez-González J, Badimón L. Reendotelización, engrosamiento intimal y remodelado vascular. ¿Un denominador común? *Rev Esp Cardiol* 2000;53:1425-7.

53. Van Belle E, Bauters C, Asahara T, Isner JM. Endothelial re-growth after arterial injury: from vascular repair to therapeutics. *Cardiovas Res* 1998;38:54-68.
54. Tsurumi Y, Murohara T, Krasinski K, Chen D, Witzenbiehler B, Kearney M, et al. Reciprocal relationship between VEGF and NO in the regulation of endothelial integrity. *Nature Med* 1997;3:879-86.
55. Lindner V, Reidy MA. Expression of basic fibroblast growth factor and its receptor by smooth muscle cells and endothelium in injured rat arteries. An en face study. *Cir Res* 1993;73:589-95.
56. Fukuo K, Inoe T, Morimoto S, Nakahasi T, Yasuda O, Kitanno S, et al. Nitric oxide mediates cytotoxicity and basic fibroblasts growth factor release in cultured vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1995;95:669-76.
57. Varenne O, Pislaru S, Gillijns H, Pelt NV, Gerard RD, Zoldhelyi P, et al. Local adenoviru-mediated transfer of endothelial nitric oxide synthase reduces luminal narrowing after coronary angioplasty in pigs. *Circulation* 1998;98:919-26.
58. Clowes AW, Reidy MA, Clowes MM. Kinetics of cellular proliferation after arterial injury I. Smooth muscle growth in the absence of endothelium. *Lab Invest* 1983;49:327-33.
59. Ku DN, Giddens DP, Zarins CK, Glagov S. Pulsatile flow and atherosclerosis in the human carotid bifurcation. Positive correlation between plaque location and low oscillating shear stress. *Arteriosclerosis* 1985;5:293-302.
60. Zarins CK, Giddens DP, Bharadvaj BK, Sottiurai VS, Mabon RF, Glagov S. Carotid bifurcation atherosclerosis. Quantitative correlation of plaque localization with flow velocity profiles and wall shear stress. *Circ Res* 1983;53:502-14.
61. Topper JN, Cai J, Falb D, Gimbrone MA Jr. Identification of vascular endothelial genes differentially responsive to fluid mechanical stimuli: cyclooxygenase-2, manganese superoxide dismutase, and endothelial cell nitric oxide synthase are selectively up-regulated by steady laminar shear stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:10417-22.
62. Davies PF. Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Rev* 1995;75:519-60.
63. Ando J, Tsuboi H, Korenaga R, Takada Y, Toyama-Sorimachi N, Miyasaka M, et al. Shear stress inhibits adhesion of cultured endothelial cells to lymphocytes by downregulating VCAM-1 expression. *Am J Physiol* 1994;267:C679-87.
64. Tsao PS, Buitrago R, Chan JR, Cooke JP. Fluid flow inhibits endothelial adhesiveness: nitric oxide and transcriptional regulation of VCAM-1. *Circulation* 1996;94:1682-9.
65. Resnick N, Yahav H, Schubert S, Wolfvovitz E, Shay A. Signalling pathways in vascular endothelium activated by shear stress: relevance to atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2000;11:167-77.
66. Nagel T, Resnick N, Dewey CF, Gimbrone MA Jr. Vascular endothelial cells respond to spatial gradients in fluid shear stress by enhanced activation of transcription factors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1825-34.
67. Collins T, Read MA, Neish AS, Whitley MZ, Thanos D, Maniatis T. Transcriptional regulation of endothelial cell adhesion molecules: NF-kappa B and cytokine-inducible enhancers. *FASEB J* 1995;9:899-909.
68. Rodríguez C, Martínez-González J, Sánchez-Gómez S, Badimón L. LDL downregulate CYP51 in vascular endothelial cells and in the arterial wall through a SREBP-2 dependent mechanism. *Circ Res* 2001;88:268-74.
69. Yokohama C, Wang X, Briggs MR, Admon A, Wu J, Hua X, et al. SREBP-1, a basic helix-loop-helix leucine zipper protein that controls transcription of the LDL receptor gene. *Cell* 1993;75:187-97.
70. López D, McLean MP. Sterol regulatory element-binding protein-1a binds to cis elements in the promoter of the rat high density lipoprotein receptor SR-B1 gene. *Endocrinology* 1999;140:5669-81.
71. Yang WS, Deeb SS. Sp1 and Sp3 transactivate the human lipoprotein lipase gene promoter through to a CT element: synergy with the sterol regulatory element binding protein and reduced transactivation of a naturally occurring promoter variant. *J Lipid Res* 1998;39:2054-63.
72. Fajas L, Schoonjans K, Gelman L, Kim JB, Najib J, Martin G, et al. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor (expression by adipocyte differentiation and determination factor 1/sterol regulatory element binding protein 1: implications for adipocyte differentiation and metabolism. *Mol Cell Biol* 1999;19:5495-503.