

# El monocito/macrófago como diana terapéutica en la aterosclerosis

Jordi Pou, Alba Rebollo y Marta Alegret

Unidad de Farmacología y Farmacognosia. Departamento de Farmacología y Química Terapéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

---

Monocitos y macrófagos son células que desempeñan un papel clave en todas las etapas del desarrollo de la aterosclerosis. Uno de los fenómenos iniciales en este proceso es la unión de monocitos circulantes al endotelio arterial mediante las moléculas de adhesión (MA), y la subsiguiente transmigración hacia la capa íntima bajo la influencia de quimiocinas como la proteína quimiotáctica de monocitos (MCP-1). En fases posteriores, los monocitos reclutados se diferencian a macrófagos, proceso que comporta el incremento de la expresión de receptores *toll-like* (TLR), implicados en la respuesta inmune innata, y receptores *scavenger* (SR). Los TLR activan la respuesta inflamatoria en los macrófagos, induciendo la expresión de citocinas como IL-6, IL-1 $\beta$  y factor de necrosis tumoral (TNF). Por otra parte, los SR (principalmente SR-A y CD36) captan lipoproteínas modificadas de forma no regulada por los valores intracelulares de esteroides. El colesterol que el macrófago ha captado a través de estos receptores es almacenado en forma de ésteres de colesterol tras su esterificación por la enzima acil-CoA:colesterol aciltransferasa (ACAT), conduciendo a la formación de células espumosas. Para mantener la homeostasis lipídica, el macrófago depende de la existencia de mecanismos de exportación de colesterol al espacio extracelular, incluyendo el transporte hacia

las HDL maduras mediado por el receptor *scavenger* BI (SR-BI) y la transferencia de colesterol hacia la apolipoproteína AI a través del transportador *ATP-binding cassette* A1 (ABCA1). La modulación farmacológica de estas dianas (MA, quimiocinas, TLR, SR, ACAT y proteínas relacionadas con la exportación de colesterol), directa o indirectamente a través de factores de transcripción que controlan la expresión génica (receptor hepático X, factor nuclear  $\kappa$ B), puede limitar el desarrollo de la aterosclerosis.

*Palabras clave:*  
Aterosclerosis. Macrófagos. Moléculas de adhesión. Monocitos. Quimiocinas.

---

## MONOCYTES/MACROPHAGES AS THERAPEUTIC TARGETS IN ATHEROSCLEROSIS

Monocytes and macrophages play a key role in all stages of atherosclerosis development. One of the initial phenomena in this process is binding of circulating monocytes to the arterial endothelium through adhesion molecules (AM) and their subsequent transmigration toward the intimal layer under the influence of chemokines such as monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1). In subsequent phases, the recruited monocytes differentiate into macrophages, a process that increases the expression of toll-like receptors (TLRs), which are implicated in innate immune response, and scavenger receptors (SRs). TLRs activate the inflammatory response in macrophages, inducing the expression of cytokines such as interleukin (IL)-6, IL-1 $\beta$  and tumor necrosis factor (TNF). SRs (mainly SR-A and CD36) are involved in the uptake of modified lipoproteins in a manner not regulated by

---

Correspondencia: Dra. M. Alegret.  
Unidad de Farmacología y Farmacognosia.  
Departamento de Farmacología y Química Terapéutica.  
Facultad de Farmacia.  
Avda. Diagonal, 643. 08028 Barcelona. España.  
Correo electrónico: alegret@ub.edu

Recibido el 5 de febrero de 2007 y aceptado el 7 de febrero de 2007.

intracellular sterol levels. The cholesterol taken up by macrophages through these receptors is stored in the form of cholesteryl esters after esterification by the enzyme acyl-CoA:cholesterol acyltransferase (ACAT), leading to the formation of foam cells. To maintain lipid homeostasis, macrophages depend on the existence of mechanisms of cholesterol export to the extracellular space, including transport to mature HDL mediated by the BI scavenger receptor (SR-BI) and transfer to apolipoprotein AI through the ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1). Pharmacological modulation of these targets (AM, cytokines, TLRs, SRs, ACAT and proteins related to cholesterol export) directly or indirectly through transcription factors controlling gene expression (liver X receptor, nuclear factor- $\kappa$ B) could limit the development of atherosclerosis.

*Key words:*

Atherosclerosis. Macrophages. Adhesion molecules. Monocytes. Chemokines.

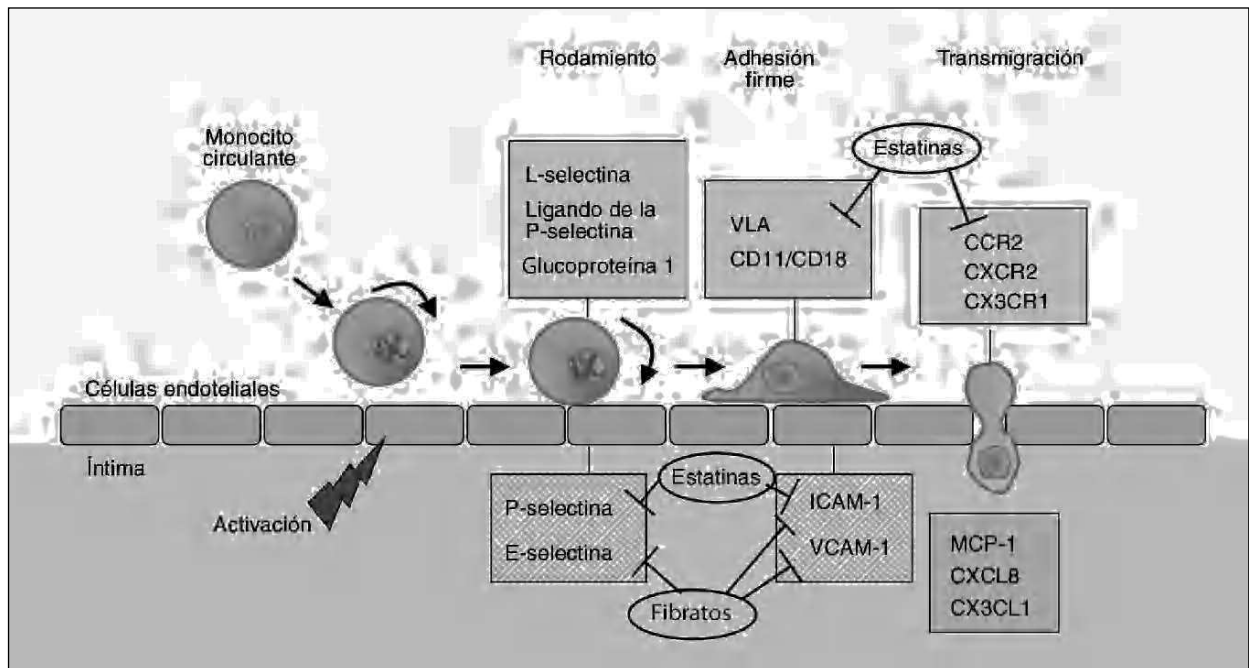
La aterosclerosis y sus consecuencias clínicas (enfermedad cardíaca coronaria y accidente cerebrovascular) son las principales causas de muerte no sólo en los países desarrollados, sino también en países con ingresos medios o bajos, y las previsiones para el año 2030 parecen seguir la misma tendencia<sup>1</sup>. En la actualidad, las principales aproximaciones terapéuticas destinadas a reducir el riesgo cardiovascular se basan en la corrección de las dislipemias mediante inhibidores de la 3-hidroxi-3-metil glutaril coenzima A reductasa (estatinas) y agonistas de los receptores activados por proliferadores peroxisómicos (PPAR)  $\alpha$  (fibratos). Sin embargo, los avances en la comprensión de las vías moleculares y de los procesos celulares implicados en la aterogénesis impulsan al desarrollo de nuevas estrategias que puedan actuar de forma independiente o adicional a la reducción de los lípidos plasmáticos. Una de estas estrategias se basa en el control directo de los procesos que tienen lugar en las propias células que formarán la placa de ateroma, entre las cuales destacan los monocitos y los macrófagos. Estas células desempeñan un papel clave en todas las fases del desarrollo de la aterosclerosis, desde sus inicios hasta la rotura de la placa de ateroma, por lo cual constituyen dianas terapéuticas idóneas para una acción antiaterosclerótica. En esta revisión se aborda la contribución de monocitos y macrófagos a cada una de las etapas de la formación de la placa de ateroma, los me-

canismos moleculares implicados y las potenciales dianas farmacológicas en cada caso.

### **Adhesión y migración de monocitos: fenómenos iniciales en la aterogénesis**

El reclutamiento de monocitos circulantes hacia la capa íntima arterial constituye uno de los fenómenos más tempranos en el desarrollo de la aterosclerosis. La disfunción y la activación de las células endoteliales, que resulta de un intento de adaptación a estímulos anormales (valores elevados de lipoproteínas de baja densidad [LDL], LDL modificadas, radicales libres, fuerzas hemodinámicas, concentraciones elevadas de homocisteína o combinaciones de estos factores)<sup>2</sup>, conduce a un incremento en la expresión de moléculas de adhesión celular (MA). Las MA median la adherencia y posterior transmigración de los leucocitos mononucleares (monocitos y células T) a través de la superficie endotelial, por lo que desempeñan un papel destacado en la génesis de la aterosclerosis<sup>3</sup>. Inicialmente, los monocitos se adhieren de forma lábil al endotelio vascular, proceso denominado “rodamiento” o “adhesión rodante”, que es mediado por las selectinas expresadas por las células endoteliales (E- y P-selectinas) y por los monocitos (L-selectina). El rodamiento causa la disminución de la velocidad de los monocitos y permite la interacción entre las integrinas leucocitarias (*very late-activation antigen* [VLA], CD11a/CD18 [LFA-1] y CD11b/CD18 [Mac-1]), y las MA de la superfamilia de las inmunoglobulinas expresadas por las células endoteliales<sup>4</sup>. Esta familia incluye la molécula de adhesión intercelular de tipo 1 (ICAM-1) y la molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1). Tanto en modelos animales de aterosclerosis como en lesiones ateroscleróticas humanas, dichas MA se hallan sobreexpresadas en relación con el tejido vascular normal<sup>5</sup>. Además, las concentraciones plasmáticas de MA solubles son mucho más elevadas en situaciones de hipertensión, obesidad, dislipemia y resistencia a la insulina<sup>3</sup>, así como en pacientes con enfermedad coronaria cardíaca<sup>6</sup>, en comparación con controles sanos.

Dado que la adhesión de los monocitos es una de las etapas más precoces en el desarrollo de la aterosclerosis, la inhibición de la expresión de MA es una opción de potencial utilidad antiaterogénica. La figura 1 muestra algunas de las dianas farmacológicas en esta fase inicial de la formación de lesiones ateroscleróticas. La inhibición directa de la función de las MA ha atraído un interés considerable en los últimos años, no sólo en el caso de la aterosclerosis sino en otras enfermedades de compo-



**Figura 1.** Dianas terapéuticas en fases iniciales del desarrollo de la aterosclerosis. La activación de células endoteliales conduce a un incremento de la expresión de moléculas de adhesión en estas mismas células (E- y P-selectinas) y de sus ligandos en la superficie de los monocitos (L-selectina y ligando de la P-selectina glucoproteína-1). La interacción entre selectinas y sus ligandos hace que los monocitos se deslicen rodando lentamente por la superficie del endotelio (rodamiento o adhesión rodante). Esto facilita la interacción entre las integrinas del monocito (*very late-activation antigen* [VLA] y heterodímeros CD11/CD18), y las proteínas de la familia de las inmunoglobulinas expresadas en las células endoteliales, como la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y la molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1), que median la adhesión firme. Posteriormente, los monocitos migran hacia la íntima en un proceso estimulado por quimiocinas como la proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1), CXCL8 y CX3CL1, que interactúan con sus respectivos receptores CCR2, CXCR2 y CX3CR1. La inhibición de la expresión de moléculas de adhesión quimiocinas o sus receptores resulta en una menor infiltración de monocitos que, teniendo en cuenta el papel de estas células en la aterosclerosis, puede reducir el desarrollo de lesiones. La figura muestra los puntos de actuación de fármacos de uso clínico (estatinas y fibratos) sobre estas dianas antiateroscleróticas tempranas.

nente inflamatorio como el asma, la enfermedad inflamatoria intestinal o la artritis reumatoide<sup>7,8</sup>. El bloqueo de selectinas mediante anticuerpos selectivos dio buenos resultados en los estudios preclínicos iniciales, pero los resultados obtenidos en la fase clínica han sido inconsistentes. De forma similar, los ensayos clínicos con anticuerpos contra CD18 (rovelizumab o erlizumab) o contra ICAM-1 (enlimomab) no han demostrado efectos beneficiosos en la isquemia-reperfusion después de infarto de miocardio o accidente cerebrovascular<sup>8</sup>. A pesar de estos resultados decepcionantes, lo que sí parece evidente es que los beneficios cardiovasculares de diversos fármacos utilizados actualmente en clínica derivan, al menos en parte, de su capacidad para modificar la expresión de MA, y por consiguiente inhibir la acumulación de monocitos en la íntima arterial. Así, las estatinas reducen la expresión de integrinas como VLA, CD11a/b o CD18<sup>9,10</sup>, así como la expresión de ICAM-1<sup>11,12</sup> y P-selectina en las célu-

las endoteliales<sup>13</sup>. Estos efectos parecen ser independientes de la reducción de lípidos plasmáticos, y se han relacionado con la reducción de la síntesis de intermediarios de tipo isoprenoide derivados del mevalonato que se produce como consecuencia de la inhibición de la enzima hidroximetil glutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa; ello comporta la inhibición de la isoprenilación de proteínas G pequeñas, como Rho, y por tanto de su activación<sup>14</sup>. Por otra parte, las estatinas pueden reducir la adhesión de linfocitos al endotelio a través de su unión a zonas reguladoras del antígeno LFA-1, de forma que estabilizan este receptor en su forma inactiva<sup>15,16</sup>. Este efecto no sólo es independiente de la reducción de lípidos, sino que tampoco se relaciona con la inhibición de la HMG-CoA reductasa y la isoprenilación de proteínas<sup>17</sup>. Los agonistas PPAR $\alpha$ , como los fibratos, también reducen la expresión de VCAM-1 e ICAM-1 inducida por citocinas proinflamatorias en el endotelio vascular, y reducen la con-

centración de ICAM-1 y E-selectina circulantes<sup>18</sup>. Dichos efectos están mediados, al menos en parte, por la interferencia con el factor proinflamatorio nuclear  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B). También los agonistas PPAR $\gamma$ , como la rosiglitazona, reducen la expresión de moléculas de adhesión en estudios *in vitro* y en modelos animales de isquemia de miocardio<sup>19,20</sup>. Un estudio reciente en un modelo animal de isquemia-reperusión sugiere que los efectos de la rosiglitazona ocurren básicamente durante la transición hacia el proceso de adhesión firme, ya que el fármaco reduce de forma marcada el ARNm y la proteína de VCAM-1<sup>21</sup>. Por otra parte, los bloqueadores de canales de calcio de tipo L, como el amlodipino, ampliamente utilizados en el tratamiento de la hipertensión y la enfermedad cardíaca coronaria, han demostrado ser capaces de inhibir la progresión de la aterosclerosis en modelos animales<sup>22</sup>. En ratones que no expresan apolipoproteína E (apo E<sup>-/-</sup>) alimentados con dieta rica en colesterol, el tratamiento concomitante con amlodipino impide el incremento en la expresión de moléculas de adhesión como ICAM-1 y VCAM-1, lo que podría explicar en parte su efecto ateroprotector<sup>23</sup>.

Una vez los monocitos se han adherido firmemente al endotelio, migran hacia la íntima en un proceso estimulado por quimiocinas sintetizadas por células de la pared arterial, como células endoteliales y células musculares lisas, así como por los propios macrófagos. Las quimiocinas son polipéptidos de pequeño tamaño que actúan a través de la interacción con receptores expresados en la superficie de los monocitos. Una de las mejor caracterizadas es la proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1), también denominada CCL2, que interactúa con el correspondiente receptor monocítico CCR2 y desempeña un papel crítico en el reclutamiento de monocitos a través de la pared arterial<sup>4,24</sup>. Otras quimiocinas importantes en este proceso son CXCL8 y CX3CL1, que se unen a sus respectivos receptores CXCR2 y CX3CR1<sup>25,26</sup>. Tanto las citocinas proinflamatorias como las LDL modificadas son capaces de incrementar la expresión de MCP-1 en las células endoteliales, facilitando la transmigración de los monocitos a la íntima arterial<sup>27</sup>. Por otra parte, la presencia de MCP-1 en lesiones ateroscleróticas humanas está bien documentada<sup>28</sup>. Así pues, MCP-1 constituye otra de las dianas terapéuticas “tempranas” cuya modulación puede reducir el desarrollo de la aterosclerosis (fig. 1). De hecho, diversos estudios han demostrado que tanto la terapia génica contra esta quimiocina como la delección del receptor CCR2 limitan la progresión de la aterosclerosis en ratones apo E<sup>-/-</sup><sup>29,30</sup>.

En la actualidad, terapias destinadas a bloquear la interacción de CCR2 con sus ligandos están siendo evaluadas en el ámbito clínico<sup>8</sup>.

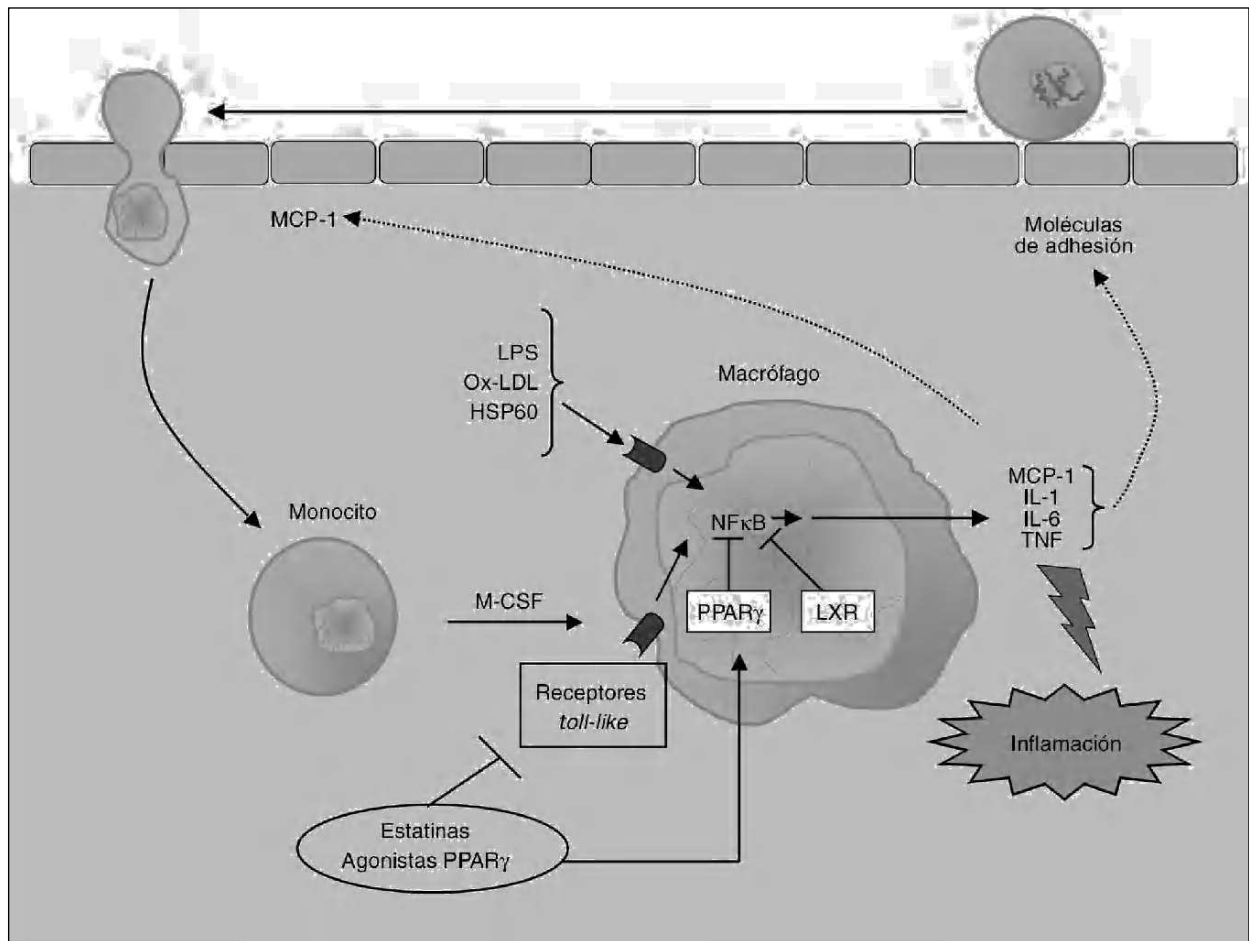
Por otra parte, algunos fármacos utilizados actualmente, como las estatinas, reducen la expresión de CCR2 en los monocitos, inhibiendo así la migración de estas células<sup>31-33</sup>. Este efecto se atribuye a la inhibición de la HMG-CoA reductasa en los monocitos circulantes, con la consiguiente reducción de los valores de geranilgeranil pirofosfato e inactivación de Rho A, lo que causa un incremento en la actividad PPAR $\gamma$ . En este sentido, otros estudios han demostrado que los agonistas PPAR $\gamma$  son capaces de reducir la expresión de CCR2 en monocitos THP-1<sup>34,35</sup>, ya que reprimen la expresión del promotor de este gen<sup>36</sup>.

Determinados componentes lipídicos presentes en las LDL oxidadas reducen la expresión de CCR2 en monocitos por un mecanismo dependiente de PPAR $\gamma$ ; este efecto bloquea la migración reversa del monocito, promoviendo su retención en la íntima arterial<sup>35</sup>. Recientemente se ha propuesto que la activación PPAR $\gamma$  por los lípidos oxidados promueve un cambio en la expresión de receptores (reducción de CCR2 e incremento de CX3CR1) que conduce al cese de la migración del monocito y activa los mecanismos de retención mediados por CX3CR1, de modo que se facilita la acumulación de monocitos/macrófagos en la pared del vaso. La expresión de CX3CL1 y de su receptor CX3CR1 es elevada en la enfermedad arterial coronaria y se reduce por el tratamiento con estatinas<sup>37</sup>. Todo ello sugiere que el sistema CX3CL1/CX3CR1 constituye otra diana terapéutica de potencial interés (fig. 1).

En síntesis, la modulación terapéutica de MA o de quimiocinas puede inhibir el reclutamiento de monocitos, una de las fases iniciales de la aterogénesis. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que el movimiento de monocitos a través de la íntima arterial es un proceso dinámico que tiene lugar a lo largo del desarrollo de la lesión, de modo que la inhibición del reclutamiento puede también influir fases más tardías del mismo<sup>38</sup>.

### Inflamación e inmunidad

Los monocitos que han sido reclutados se diferencian a macrófagos bajo la influencia del factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF), una citocina formada en la propia capa íntima inflamada<sup>24</sup> (fig. 2). La importancia del M-CSF en la aterosclerosis se evidenció a partir de estudios realizados en ratones *op/op*, un modelo de deficiencia de M-CSF caracterizado por una carencia de macrófagos diferenciados en diversos órganos y teji-



**Figura 2.** Modulación de la respuesta inflamatoria en el macrófago. Los monocitos que han sido reclutados se diferencian a macrófagos bajo la influencia del factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), proceso que se asocia con el incremento en la expresión de receptores *toll-like* (TLR), implicados en la respuesta inflamatoria e inmune. La activación de TLR en los macrófagos inicia una cascada de señalización mediada por el factor nuclear  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B) que conduce a la liberación de citocinas proinflamatorias (interleucina [IL]-1, IL-6 y factor de necrosis tumoral alfa [TNF- $\alpha$ ]) y de quimiocinas como la MCP-1, que contribuyen al establecimiento de una respuesta inflamatoria local lesiva para el tejido. Las citocinas secretadas por el macrófago estimulan la expresión de moléculas de adhesión, de forma que se reclutan más monocitos, creándose un círculo vicioso que amplifica y perpetúa la reacción inflamatoria. Los receptores activados por proliferadores peroxisómicos (PPAR)  $\gamma$  y los receptores hepáticos X (LXR) son reguladores negativos de la respuesta inflamatoria en el macrófago, por lo que constituyen dianas terapéuticas de gran interés para modular farmacológicamente la secreción de citocinas en estas células.

dos. Cuando estos ratones se cruzan con ratones apo E<sup>-/-</sup>, la descendencia presenta escasas lesiones ateroscleróticas, lo que confirma que la diferenciación de monocito a macrófago es un paso necesario en el desarrollo de aterosclerosis<sup>39</sup>.

La adquisición del fenotipo de macrófago se asocia con un incremento en la expresión de receptores de estructuras microbianas (*pattern-recognition receptors*), incluyendo los receptores *toll like* (TLR) y los receptores *scavenger* (SR). Los TLR del macrófago desempeñan un importante papel en la respuesta inmune que caracteriza el proceso aterosclerótico, y activan la respuesta inflamatoria en

estas células a través del sistema NF $\kappa$ B<sup>40</sup> (fig. 2). Hasta el momento se han identificado como mínimo 10 TLR para los cuales se conocen los ligandos activadores<sup>41</sup>; entre ellos, el TLR4 es uno de los mejor caracterizados en relación con el desarrollo de la aterosclerosis.

TLR4 reconoce lipopolisacáridos bacterianos (LPS) y otros ligandos relevantes para la aterogénesis, como las LDL oxidadas y las proteínas de choque térmico (*heat-shock proteins*) como la Hsp60. El receptor TLR4 se expresa en diversos tipos celulares de la pared arterial, y se detecta en lesiones ateroscleróticas humanas, principalmente colocali-

zado con macrófagos<sup>42</sup>. Además, los pacientes con síndrome coronario agudo muestran una elevada expresión de TLR4 en la superficie de los monocitos<sup>43</sup>, y la presencia de un polimorfismo en el gen que codifica para TLR4 (Asp299Gly) se ha asociado con una menor incidencia de aterosclerosis<sup>44</sup>. Éstas y otras evidencias sugieren que TLR4 está implicada en distintas fases del desarrollo de la aterosclerosis. Por ejemplo, en fases iniciales la activación de TLR4 causa un aumento en la expresión de MCP-1 y otras quimiocinas, de modo que se estimula el reclutamiento de monocitos<sup>42</sup>. En consonancia con un papel proaterogénico para TLR4, el déficit genético de este receptor se asocia con una reducción en el tamaño y en el contenido lipídico de las lesiones ateroscleróticas en ratones apo E<sup>-</sup> hipercolesterolémicos, sin que existan variaciones en las concentraciones de colesterol plasmático<sup>45</sup>. En cambio, la deficiencia selectiva de TLR4 en macrófagos no altera el desarrollo de aterosclerosis en ratones LDLR<sup>-</sup><sup>40</sup>.

A pesar de estos resultados contradictorios, TLR4 puede considerarse una diana para la intervención terapéutica en la aterosclerosis. Sin embargo, debido al papel de este receptor en la respuesta inmune y en la defensa contra patógenos, la inhibición sistémica de TLR4 causaría graves complicaciones, como un aumento de susceptibilidad ante las infecciones bacterianas<sup>46</sup>. El tratamiento local con agentes farmacológicos, ARN de interferencia o terapia génica para inhibir la señalización mediada por TLR4 podrían ser aproximaciones más adecuadas. En este aspecto, puede destacarse que las estatinas reducen la expresión de TLR4 en la superficie de los monocitos *in vitro* e *in vivo*, inhibiendo así la expresión de citocinas proinflamatorias; estos efectos están mediados por la inhibición de la geranilgeranilación y farnesilación de proteínas<sup>47</sup>. Recientemente, Niessner et al<sup>48</sup> demostraron que el pretratamiento con simvastatina en un modelo humano de endotoxemia reduce la expresión de TLR4 y TLR2, otro receptor *toll like* implicado en la aterosclerosis, en monocitos<sup>49</sup>. Por otra parte, se ha demostrado que también los agonistas PPAR $\gamma$  reprimen genes diana de TLR en macrófagos *in cultivo* e *in vivo* a través de mecanismos de transrepresión específicos<sup>50</sup>.

Como ya se ha comentado anteriormente, la activación de los TLR en macrófagos inicia una cascada de señalización que conduce a la liberación de mediadores inflamatorios como citocinas, quimiocinas, proteasas y radicales libres<sup>24</sup>. Las citocinas secretadas por los macrófagos estimulan la expresión de MA en células endoteliales, lo que

promueve el reclutamiento de más monocitos, creando un círculo vicioso que amplifica y perpetúa la reacción inflamatoria<sup>27</sup> (fig. 2). El estudio detallado del papel de las citocinas en el desarrollo, progresión y complicaciones de la aterosclerosis se halla fuera del ámbito de este artículo, pero el lector interesado puede consultar una completa revisión sobre este tema recientemente publicada<sup>51</sup>. Entre las citocinas secretadas por los macrófagos destacan especialmente la interleucina (IL) 1, la IL-6 y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), ya que no sólo median respuestas inflamatorias locales, sino también efectos distantes, como la activación de genes hepáticos que codifican para proteínas de fase aguda como el fibrinógeno, el amiloide A sérico y la proteína C reactiva (PCR)<sup>52</sup>.

Aparte de su papel en la respuesta inflamatoria, estas citocinas actúan regulando la captación de lipoproteínas modificadas a través de los SR del macrófago y la salida o exportación de colesterol desde estas células. Así pues, la reducción de la expresión de citocinas en macrófagos puede ser una estrategia de importante valor terapéutico para reducir o ralentizar la progresión de la aterosclerosis. Sin embargo, el uso de antagonistas del TNF- $\alpha$  o de la IL-1 en clínica es muy limitado y se asocia con la aparición de importantes efectos adversos<sup>53</sup>. Una aproximación alternativa se basa en el hecho de que los PPAR y los receptores hepáticos X (LXR, *liver X receptors*) actúan como reguladores negativos de la respuesta inflamatoria en el macrófago; por tanto, PPAR y LXR constituyen dianas terapéuticas más adecuadas para modular la producción de citocinas en el macrófago<sup>54</sup> (fig. 2).

En este sentido, se ha demostrado que los ligandos de PPAR $\gamma$  inhiben la expresión de diversos genes proinflamatorios en macrófagos, entre ellos TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ <sup>55</sup>. El mecanismo molecular por el cual se producen estos efectos no está del todo claro; así, el agonista PPAR $\gamma$  15-deoxi prostaglandina J2 inhibe la transcripción de citocinas mediada por NF $\kappa$ B por un mecanismo independiente de PPAR $\gamma$ <sup>56</sup>. Además, la delección de PPAR $\gamma$  en macrófagos derivados de células madre no altera la secreción de citocinas<sup>57,58</sup>. Se ha propuesto que los efectos antiinflamatorios de agonistas PPAR $\gamma$  como la rosiglitazona son independientes de PPAR $\gamma$  sólo cuando el fármaco se usa a concentraciones mayores que su EC<sub>50</sub>; a estas concentraciones, el efecto antiinflamatorio podría atribuirse a la activación de PPAR $\delta$ <sup>59</sup>. De hecho, los agonistas PPAR $\delta$  suprimen la expresión de IL-1 $\beta$  en macrófagos, lo que indica que la activación de esta isoforma de PPAR es también antiinflamatoria<sup>60</sup>.

Se ha observado que los agonistas LXR reprimen una serie de genes proinflamatorios como la ciclooxigenasa 2, la IL-6 y la IL1 $\beta$  en macrófagos<sup>61</sup>. Dado que no se han identificado elementos de respuesta a LXR en las regiones promotoras de estos genes, se ha propuesto la transrepresión de NF $\kappa$ B por LXR como posible mecanismo de acción<sup>61</sup>. Aunque estos efectos parecen sugerir acciones beneficiosas de los agonistas LXR en la aterosclerosis, la realidad es que la utilización terapéutica de estos agentes plantea importantes problemas, como se discutirá más adelante.

En cuanto a las estatinas, poseen propiedades antiinflamatorias que en parte son consecuencia de su capacidad de inhibir la adhesión de monocitos a la pared vascular y, por tanto, de reducir el número de células inflamatorias presentes en la lesión, como ya se ha comentado anteriormente. Pero además, las estatinas inhiben la producción de citocinas proinflamatorias en monocitos y macrófagos, lo que también contribuye a estos efectos. Así, estudios realizados en pacientes hipercolesterolémicos muestran que el tratamiento con simvastatina reduce la expresión de diversas citocinas (TNF, IL-1 $\beta$ <sup>62,63</sup>, IL-6 e IL-8<sup>32</sup>). In vitro, la simvastatina, la atorvastatina y la cerivastatina inhiben la transcripción de citocinas inducida por el tratamiento con TNF- $\alpha$  en monocitos humanos<sup>32</sup>. El mecanismo está relacionado con la reducción de isoprenoides derivados de la vía del mevalonato, inhibición de la señalización por Rho y activación PPAR $\gamma$ . La reducción en la expresión de citocinas inflamatorias por las estatinas no sólo se produce en macrófagos, sino también en otras células de la pared vascular (células musculares lisas, células endoteliales), lo que conduce a una menor concentración plasmática de estas citocinas y a una reducción de los valores de PCR, que se observa en diversos estudios clínicos realizados con este grupo de fármacos<sup>64-66</sup>.

### Receptores *scavenger* y acumulación de colesterol en los macrófagos

Aparte de la inducción de TLR, la diferenciación de monocito a macrófago se caracteriza por el incremento en la expresión de receptores *scavenger* (SR). El término *scavenger* fue acuñado por Goldstein y Brown para distinguir estos receptores de los receptores de LDL nativos, cuya expresión está regulada por los valores intracelulares de esteroides<sup>67</sup>. Los SR, en cambio, no están sometidos a esta regulación, y debido a su capacidad para unir e internalizar lipoproteínas modificadas, contribuyen de forma importante a la acumulación de colesterol en los macrófagos<sup>67</sup>.

Los macrófagos expresan diversas clases de SR<sup>68,69</sup>, entre ellos el receptor *scavenger* de tipo A (SR-A), CD36, CD68, *lectin-like oxidized receptor-1* (LOX-1) y el receptor *scavenger* que se une a fosfatidilserina y lipoproteínas oxidadas (SR-PSOX). La generación de ratones deficientes en SR-A y CD36 mostró que estos 2 receptores son responsables del 90% de la degradación de LDL acetiladas y oxidadas (ac-LDL y ox-LDL)<sup>70</sup>. Por ello, aunque otros receptores podrían contribuir a la acumulación de colesterol en el macrófago, por ejemplo CD68<sup>71</sup>, en la presente revisión nos referiremos únicamente a SR-A y CD36.

El gen correspondiente a SR-A, clonado en 1990 e inicialmente denominado receptor *scavenger* del macrófago (MSR)<sup>72</sup>, da lugar a 3 formas distintas del receptor por *splicing* alternativo del ARNm, denominados SR-AI, SR-AII y SR-AIII. Esta última forma contiene una alteración en la secuencia C-terminal y actúa como un mutante negativo de SR-A<sup>73</sup>. SR-AI y II se expresan en la superficie celular de macrófagos y células espumosas, y su presencia se ha detectado en placas ateroscleróticas<sup>74</sup>. Ambos receptores se unen a un amplio rango de moléculas polianiónicas, como las ac-LDL y las ox-LDL, aunque presentan una mayor afinidad por las prime-ras<sup>75</sup>. La función de SR-A en la captación de dichas lipoproteínas y la formación de células espumosas a partir de macrófagos sugiere, en principio, un papel proaterogénico para estos receptores. Para confirmar la implicación de SR-A en este proceso se generaron animales deficientes en estos receptores, y se cruzaron con modelos murinos susceptibles a la aterosclerosis. En los estudios iniciales realizados en ratones apo E<sup>-/-</sup> <sup>76</sup> o LDLR<sup>-/-77</sup>, la eliminación de SR-A produjo una reducción en el tamaño de la lesión. Sin embargo, en un tercer estudio realizado en ratones hiperlipémicos apo E3 Leiden, la delección de SR-A dio lugar a un incremento en el área de la lesión<sup>78</sup>. Estos resultados contradictorios se han atribuido a diferencias en la susceptibilidad a la aterosclerosis de las distintas cepas de ratones utilizadas. Sin embargo, estudios posteriores realizados en animales con una base genética más definida arrojaron también resultados confusos acerca del papel real de SR-A en la aterogénesis<sup>79,80</sup>. Además, la sobreexpresión de SR-A en los modelos murinos LDLR<sup>-/-81</sup> o apo E<sup>-/-82</sup> no dio lugar a diferencias significativas en el desarrollo de lesiones ateroscleróticas. Así pues, aunque resulta evidente que SR-A participa en la captación de lipoproteínas modificadas y en la formación de células espumosas, las discrepancias halladas en los diferentes modelos animales parecen

indicar que este receptor presenta múltiples propiedades biológicas, algunas de las cuales son claramente proaterogénicas, mientras que otras podrían ser antiaterogénicas<sup>83</sup>. El predominio de uno u otro papel puede depender de factores locales o genéticos o estar relacionado con la fase de la enfermedad<sup>84</sup>. Así, el bloqueo de SR-A en las etapas iniciales del desarrollo de la aterosclerosis podría reducir la adherencia de macrófagos al endotelio y retrasar el desarrollo de lesiones<sup>85</sup>. Sin embargo, en fases más avanzadas la presencia de SR-A puede ser incluso beneficiosa, debido a su capacidad de inducir la apoptosis y la eliminación de células espumosas apoptóticas, reduciendo así la formación del núcleo necrótico de la lesión<sup>84</sup>.

En cuanto a CD36, se trata de un receptor *scavenger* de clase B implicado en múltiples procesos biológicos, incluyendo el metabolismo lipídico, la inflamación y la angiogénesis<sup>86</sup>. Su capacidad para reconocer e internalizar LDL, incluso mínimamente modificadas, parece implicarlo claramente en la formación de células espumosas. En este sentido, se ha observado que los macrófagos de pacientes que presentan un polimorfismo en el gen de CD36<sup>87</sup>, así como macrófagos procedentes de ratones deficientes en CD36<sup>88</sup>, muestran una menor capacidad de unir y captar ox-LDL. Además, los ratones doblemente deficientes en CD36 y apo E desarrollan menos lesiones ateroscleróticas que los correspondientes apo E<sup>-/-</sup>CD36<sup>+/+</sup><sup>89</sup>. Resulta interesante que la exposición de macrófagos a ox-LDL da lugar a una marcada inducción de CD36<sup>90</sup>, mediada por la activación de PPAR $\gamma$  por parte de los derivados oxidados de los ácidos grasos presentes en dichas lipoproteínas<sup>91,92</sup>. Esto implica que las ox-LDL inducen su propia captación por el receptor CD36 del macrófago, autoamplificando así el proceso de formación de células espumosas.

El papel de SR-A y CD36 como mediadores cruciales en este proceso ha sido de nuevo cuestionado en un trabajo recientemente publicado por Moore et al<sup>80</sup>, en el que se demuestra que la eliminación de uno u otro receptor no inhibe el desarrollo de aterosclerosis en ratones apo E<sup>-/-</sup>. Es posible que ello se deba a la expresión compensatoria de otros SR, o que vías alternativas de captación de lípidos independientes de la presencia de SR puedan suplir la carencia de SR-A y CD36. Por otra parte, la eliminación de estos genes puede afectar otras vías (eliminación de células apoptóticas, adhesión celular, defensa y respuesta inmune) que también condicionan el desarrollo de la aterosclerosis.

La diversidad de funciones biológicas atribuible a estos receptores dificulta el diseño de estrategias

antiateroscleróticas basadas en modular terapéuticamente la actividad de SR-A y/o CD36. Sin embargo, diversos fármacos utilizados en clínica regulan la expresión de dichos receptores en macrófagos (fig. 3), efectos que pueden contribuir, en mayor o menor grado, a su eficacia terapéutica. Por ejemplo, se ha propuesto que las estatinas ejercen efectos directos sobre los macrófagos modulando la expresión de diversos SR por distintos mecanismos, no excluyentes entre sí: *a)* mediante la reducción de la oxidación de LDL, ya que las LDL modificadas inducen la expresión de los SR; *b)* mediante la inhibición de mediadores inflamatorios como NF $\kappa$ B, y *c)* como consecuencia de la inhibición de la isoprenilación de Rho y Ras. Se ha propuesto que las estatinas podrían actuar inhibiendo la expresión de SR-A<sup>93,94</sup>, aunque no todos los estudios realizados muestran dicha reducción<sup>95</sup>. De forma similar, los efectos de las estatinas sobre la expresión de CD36 en el macrófago tampoco están del todo claros, pues aunque en la mayoría de trabajos publicados se observa una reducción<sup>94-97</sup>, en ciertos estudios se evidencia un incremento<sup>98</sup>. Otro grupo de fármacos, las tiazolidindionas, produce una inducción de CD36 debido a la activación de PPAR $\gamma$ , aunque este efecto es compensado por una reducción en la expresión de SR-A y por una activación de las vías de salida de colesterol del macrófago, por lo que no se traduce en un aumento de las concentraciones intracelulares de lípidos<sup>99</sup>.

### Metabolismo intracelular de colesterol: papel de la acil-CoA:colesterol aciltransferasa

En el interior del macrófago, los ésteres de colesterol (EC) aportados por las lipoproteínas son hidrolizados y dan lugar a colesterol libre. Los reservorios celulares de colesterol esterificado y libre se hallan en un equilibrio dinámico controlado por las enzimas colesterol ester hidrolasa y acil-CoA:colesterol aciltransferasa (ACAT)<sup>100</sup>. Se han descrito 2 isoformas de esta enzima: ACAT1, la isoforma expresada en el macrófago<sup>101</sup>, sintetiza EC para su almacenamiento en el citosol celular, por lo que desempeña un papel crucial en la formación de células espumosas. De hecho, la ACAT1 se ha detectado en lesiones ateroscleróticas humanas, principalmente en células espumosas derivadas de macrófagos<sup>102</sup>. En cuanto a la ACAT2, se expresa principalmente en hepatocitos, donde actúa sintetizando los EC que serán secretados con las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), y en células intestinales, en las que su actividad es necesaria para una correcta absorción del colesterol de la dieta<sup>101</sup>.



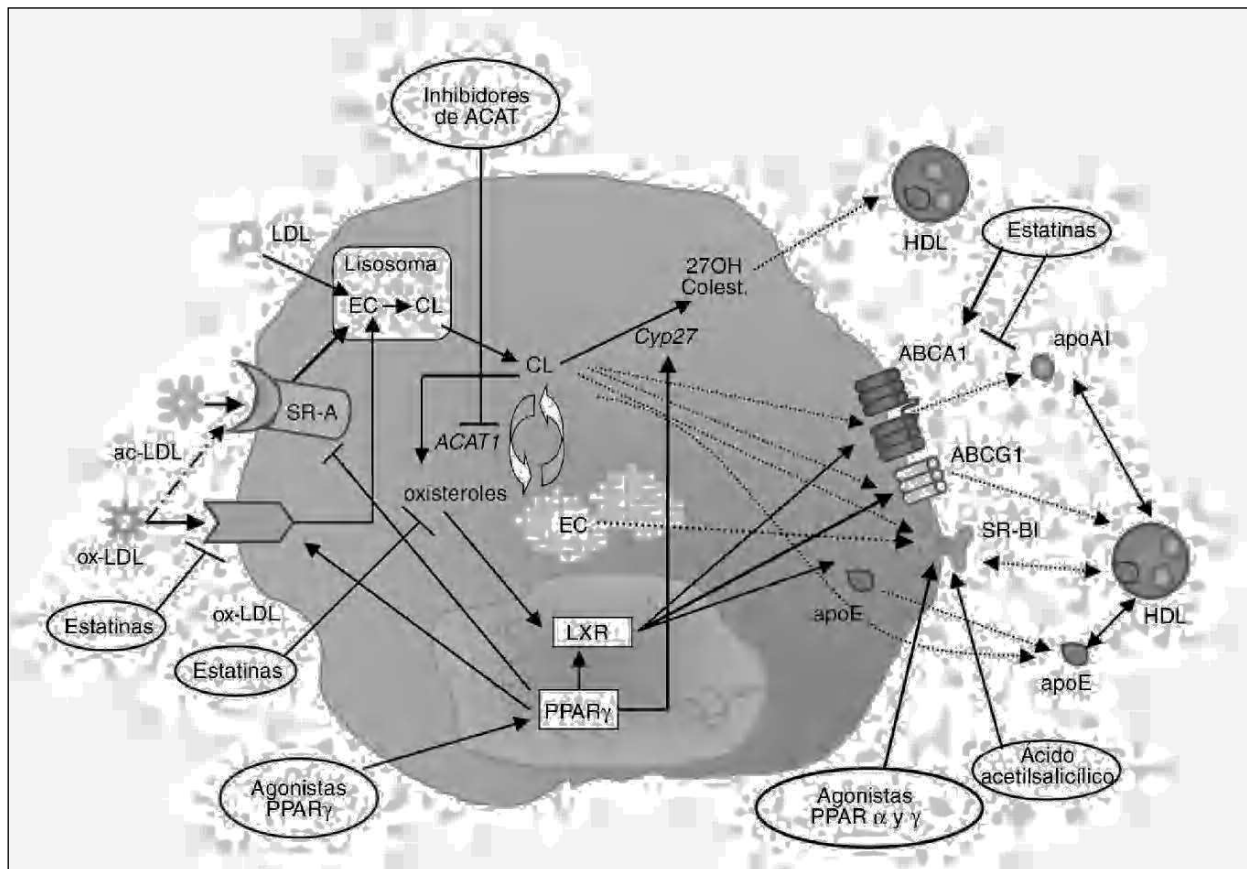


Figura 3. Inhibición de la formación de células espumosas como diana antiaterosclerótica. La diferenciación de monocito a macrófago se caracteriza por el incremento en la expresión de receptores *scavenger*, como el receptor *scavenger* de tipo A (SR-A) y CD36. Estos receptores contribuyen de forma muy importante a la acumulación de colesterol en los macrófagos, debido a su capacidad para unir e internalizar lipoproteínas modificadas como las LDL acetiladas (ac-LDL) u oxidadas (ox-LDL). Diversos agentes farmacológicos, como las estatinas y los agonistas PPAR $\gamma$ , pueden regular la expresión de estos receptores en macrófagos. En el interior de estas células, los ésteres de colesterol (EC) captados con las lipoproteínas se hidrolizan formando colesterol libre (CL) y son reesterificados por acción de la enzima acil-CoA:colesterol aciltransferasa 1 (ACAT1). Los inhibidores de esta enzima, al bloquear la síntesis de EC para su almacenamiento en el macrófago, potencialmente reducen la formación de células espumosas. Por otra parte, el colesterol libre puede salir del macrófago/célula espumosa por distintos mecanismos: vehiculado hacia las HDL maduras vía receptor *scavenger* BI (SR-BI) o transportador ABCG1, o hacia lipoproteínas poco lipidadas como la apo E o la apo A-I vía ABCA1. Otra posible vía de eflujo de colesterol implica su hidroxilación por la estero 27-hidroxilasa (Cyp27) a metabolitos más polares que pueden ser vehiculizados hacia las HDL. Los LXR son los principales reguladores de muchos de los genes relacionados con la salida de colesterol del macrófago, como ABCA1, ABCG1 y apo E. Los agonistas PPAR $\gamma$  inducen la expresión de ABCA1 y apoE en el macrófago a través de LXR. La estatinas pueden activar PPAR $\gamma$  por su capacidad de reducir la geranilgeranilación de RhoA, y de este modo activar LXR e inducir la expresión génica de ABCA1; paradójicamente, al reducir la síntesis de oxisteroles, que son ligandos de LXR, las estatinas podrían reducir la activación de ABCA1.

Debido a su implicación en el metabolismo lipoproteico y en la formación de células espumosas, la ACAT constituye una atractiva diana terapéutica para conseguir retrasar el desarrollo de la lesión aterosclerótica. Desde un punto de vista teórico, los inhibidores de ambas isoformas actuarían como fármacos hipolipemiantes y antiateroscleróticos a 3 niveles<sup>103</sup>: a) bloqueando la absorción intestinal de colesterol; b) inhibiendo la síntesis de VLDL hepática e incrementando el colesterol libre

que puede ser excretado por la bilis, y c) inhibiendo la acumulación de EC en los macrófagos de la pared arterial, de forma que se reduciría la formación de células espumosas. Este último es un mecanismo antiaterosclerótico directo que podría bloquear el progreso de la lesión independientemente de cualquier efecto sobre los valores de lípidos plasmáticos. En este sentido, algunos inhibidores sistémicos de la ACAT, como el avasimibe o el HL-004, son capaces de reducir el almacenamiento

de CE en macrófagos humanos<sup>104,105</sup> y de inhibir el desarrollo de lesiones ateroscleróticas, e incluso inducir su regresión, en modelos animales<sup>106</sup>.

En las 2 últimas décadas se han desarrollado numerosos compuestos como inhibidores de la ACAT. Sin embargo, en las fases de investigación clínica dichos fármacos nunca han demostrado ser eficaces. Así, en el estudio A-PLUS<sup>107</sup>, en el que se administró avasimibe a más de 600 pacientes con enfermedad coronaria durante 2 años, se evidenció que el fármaco no reduce el volumen de la placa aterosclerótica, determinado por ultrasonografía intravascular; además se observó una tendencia hacia la elevación de los valores de colesterol LDL. Más recientemente, los efectos de otro inhibidor no selectivo de la ACAT, el pactimibe, se determinaron en 408 pacientes con aterosclerosis coronaria<sup>108</sup>. Los resultados también fueron negativos, ya que el volumen total del ateroma, así como el cambio de volumen en el segmento con la mayor gravedad de lesión, fueron significativamente peores en el grupo tratado con pactimibe que en el grupo placebo. A la luz de estos resultados, se deduce que la inhibición no selectiva de la ACAT es inefectiva como terapia antiaterosclerótica, e incluso puede resultar perjudicial. Los motivos de este aparente fracaso podrían deberse a que la inhibición de la actividad ACAT elimina un sistema de defensa del organismo contra la acumulación intracelular de colesterol libre. El exceso de colesterol libre que se produce al inhibir la ACAT no puede salir fácilmente de la célula y se acumula en su interior, causando toxicidad. Aunque es cierto que el colesterol sólo puede salir del macrófago cuando está en forma libre, también es cierto que para que se produzca una exportación efectiva de colesterol deben existir aceptores adecuados en el medio extracelular; por tanto, la inhibición de la ACAT debería combinarse con terapias que lograran incrementar la cifra de partículas aceptoras en el entorno de la placa, permitiendo así la salida del colesterol libre generado y su vehiculización hacia el hígado. Por el momento, el desarrollo terapéutico de inhibidores de la ACAT deberá realizarse con extrema cautela, teniendo en consideración estos posibles efectos adversos.

### Salida del colesterol del macrófago

Las células periféricas dependen de la existencia de mecanismos de exportación de colesterol para mantener la homeostasis lipídica ya que, a diferencia de los hepatocitos, no disponen de sistemas de catabolismo como la formación de ácidos biliares. Esto es particularmente importante en el caso de

los macrófagos, ya que, como se ha comentado anteriormente, la acumulación de colesterol no está controlada por mecanismos de regulación de la captación de lipoproteínas. Por ello, las vías de salida o exportación de colesterol constituyen dianas terapéuticas importantes en la prevención de la formación de células espumosas y del desarrollo de aterosclerosis<sup>109</sup>. Existen distintas vías para la salida de colesterol hacia el medio extracelular (fig. 3): *a*) difusión pasiva; *b*) transferencia de colesterol hacia apolipoproteínas pobres en lípidos, como la apo A-I, por medio del transportador *ATP binding cassette 1* (ABCA1), y *c*) transporte de colesterol hacia lipoproteínas de alta densidad (HDL) maduras a través del transportador ABCG1 o del receptor *scavenger SR-BI*.

SR-BI es un receptor multiligando que media el flujo bidireccional entre las HDL y las células. El colesterol que sale del macrófago a través de SR-BI es convertido en EC por la enzima lecitina:colesterol aciltransferasa, y posteriormente estos EC que transportan las HDL pueden ser captados de forma selectiva por los hepatocitos a través del mismo receptor SR-BI. La participación de este receptor tanto en las fases iniciales como en las fases finales del proceso de transporte reverso de colesterol sugiere un rol protector contra el desarrollo de aterosclerosis<sup>110</sup>, lo que se ha confirmado en los estudios realizados en animales transgénicos. Así, la sobreexpresión hepática de SR-BI resulta en reducción de la aterosclerosis<sup>111-113</sup>, mientras que su eliminación en ratones apo E<sup>-/-</sup> o LDLR<sup>-/-</sup> induce el desarrollo de lesiones<sup>114,115</sup>. Incluso la eliminación selectiva de SR-BI en macrófagos causa un incremento en las lesiones<sup>115,116</sup>, lo que indica que el receptor SR-BI del macrófago es una diana potencial de terapia antiaterosclerótica (fig. 3). En este sentido, se ha demostrado que la activación de PPAR $\alpha$ <sup>117</sup> y  $\gamma$ <sup>95,117,118</sup> por agonistas específicos resulta en la inducción de CLA-1 (el homólogo humano de SR-BI) en monocitos humanos y macrófagos. Las estatinas son capaces también de inducir la expresión de SR-BI en macrófagos murinos<sup>119</sup> y humanos<sup>118</sup>. Este efecto puede deberse a la inhibición de la respuesta inflamatoria, ya que NF $\kappa$ B modula la expresión de SR-BI<sup>119</sup>. El ácido acetilsalicílico es otro fármaco capaz de inducir la expresión de SR-BI en macrófagos humanos, probablemente por un mecanismo postranscripcional independiente de la inhibición de ciclooxigenasas<sup>120,121</sup>. Estos efectos sobre SR-BI podrán contribuir a las acciones ateroprotectoras que poseen los agonistas PPAR, las estatinas o el ácido acetilsalicílico.

Una de las rutas más importantes de exportación de colesterol del macrófago es la mediada por los transportadores ABCA1 y ABCG1 (fig. 3). El papel de ABCA1 en este proceso se descubrió al identificarlo como el gen defectuoso en la enfermedad de Tangier, caracterizada por una práctica ausencia de HDL y apo A-I en plasma y por la deposición de colesterol en los macrófagos tisulares<sup>122</sup>. A pesar de que no se cuestiona el papel fundamental de ABCA1 en el eflujo de colesterol, los experimentos realizados en ratones que sobreexpresan este transportador han dado lugar a resultados contradictorios en relación con el desarrollo de la aterosclerosis<sup>123,124</sup>; además, el estudio de ratones ABCA1<sup>-/-</sup> no ha ayudado a resolver esta cuestión<sup>125</sup>. Sin embargo, en estudios de trasplante de médula ósea en los que el gen ABCA1 ha sido eliminado de forma selectiva de los macrófagos, se ha observado un incremento de lesiones ateroscleróticas<sup>126,127</sup>, y al contrario, el trasplante de macrófagos que sobreexpresan ABCA1 en ratones LDLR<sup>-/-</sup> protege frente al desarrollo de aterosclerosis<sup>128</sup>. En cuanto a ABCG1, vehiculiza colesterol y fosfolípidos hacia las HDL<sup>129</sup>, un aceptor que se halla en mayor proporción que la apo A-I en plasma, por lo que su papel en el eflujo de colesterol podría ser incluso más relevante que el de ABCA1. Resulta interesante que la lipidación de la apo A-I mediada por ABCA1 da lugar a un aceptor eficiente del colesterol que es eliminado vía ABCG1, lo que sugiere que ambos transportadores actúan de forma sinérgica para facilitar el eflujo de colesterol desde el macrófago<sup>130</sup>. La expresión de ABCA1 y ABCG1 en macrófagos es controlada por los receptores nucleares LXR $\alpha$  y  $\beta$ <sup>131,132</sup>; se trata de un mecanismo homeostático diseñado para reducir la carga de colesterol libre intracelular, ya que se activa por los propios oxisteroles aportados por las lipoproteínas modificadas que el macrófago capta.

Aunque la importancia relativa y la relevancia fisiológica de ABCA1/G1 en el transporte reverso de colesterol desde el macrófago no están claramente establecidas, la modulación farmacológica de estos transportadores se considera una aproximación potencialmente beneficiosa para el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares. En este aspecto, los agonistas PPAR $\alpha$  y PPAR $\gamma$  son capaces de inducir ABCA1 en macrófagos humanos, promoviendo así el eflujo de colesterol<sup>133</sup>. Paradójicamente, las estatinas parecen reducir la expresión de ABCA1 en diversos estudios *in vitro*<sup>118,134-137</sup>, lo que podría considerarse un efecto pleiotrópico negativo. Por el contrario, Argmann et al<sup>138</sup> observaron que la atorvastatina aumenta los valores de ARNm

de ABCA1 y ABCG1 y el eflujo de colesterol en macrófagos THP-1. Estos resultados divergentes se explicarían por un efecto dual de los intermediarios de la vía del mevalonato sobre ABCA1: por una parte, la depleción de isoprenoides producida por la estatina conduce a una menor geranilgeranilación de RhoA, con lo que se activaría PPAR $\gamma$  y por consiguiente LXR, resultando en una inducción de ABCA1<sup>138</sup>; por otra parte, las estatinas reducen la síntesis de oxisteroles, que son ligandos de LXR, lo que conduciría a la menor activación de ABCA1<sup>136</sup>. De acuerdo con esta hipótesis, las estatinas no reducen la expresión de ABCA1 en presencia de un agonista LXR<sup>135</sup>, ni en macrófagos cargados de colesterol<sup>95,137</sup>. El hecho de que las estatinas no inhiban ABCA1 en macrófagos enriquecidos en colesterol sugiere que estos fármacos no afectarían negativamente el eflujo de colesterol en situaciones de hipercolesterolemia, de forma que sus propiedades antiaterogénicas no resultarían reducidas<sup>137</sup>.

La salida de colesterol hacia el medio extracelular es facilitada por la capacidad del propio macrófago de sintetizar y secretar apo E. Parece ser que la apo E secretada por los macrófagos puede actuar como aceptor de colesterol libre que sale de la célula en ausencia de otros aceptores en el medio<sup>139</sup>, de forma que facilita el transporte reverso de colesterol y contribuye a la reducción de la formación de células espumosas. El papel ateroprotector de la apo E parece confirmarse por experimentos en los que se demuestra que los macrófagos que no expresan apo E tienen menor capacidad de eflujo de colesterol<sup>140</sup>. Además, el trasplante de médula ósea de ratones deficientes en apo E a ratones LDLR<sup>-/-</sup> aumenta el tamaño de las lesiones ateroscleróticas<sup>141</sup>. A la inversa, la expresión de la apo E en ratones apo E<sup>-/-</sup> humana de forma selectiva en macrófagos es suficiente para reducir la aterosclerosis<sup>142</sup>. El mecanismo por el cual la secreción endógena de apo E estimula la salida de colesterol podría implicar, al menos en parte, el transportador ABCA1<sup>143</sup>. Así, se ha propuesto que la apo E secretada por el macrófago llega a la superficie celular en forma poco lipidada, donde es retenida por unión a proteoglicanos, facilitando la salida de lípidos a través de ABCA1<sup>144</sup>. Además, parece ser que ABCA1 modula la secreción de apo E por macrófagos humanos<sup>145</sup>. Sin embargo, el mecanismo no está del todo claro, ya que también existen evidencias que indican que la producción de apo E estimula el eflujo de colesterol independientemente de ABCA1<sup>143,146</sup>.

Gran parte de los genes que participan en el flujo de colesterol en los macrófagos están regulados

por LXR, como es el caso de ABCA1, ABCG1<sup>131,132</sup> y apo E<sup>147</sup>. Así, las tiazolidindionas incrementan la expresión de ABCA1 por un mecanismo que implica la activación de PPAR $\gamma$  y la inducción de LXR $\alpha$ <sup>148</sup>. Los agonistas PPAR $\gamma$  pueden actuar sobre otras vías de salida de colesterol de forma independiente de LXR, por ejemplo estimulando el eflujo hacia las HDL por inducción de ABCG1<sup>149</sup>. En cambio, la inhibición de la formación de células espumosas por parte de los agonistas PPAR $\alpha$  parece requerir LXR, y posiblemente uno de los genes diana de LXR implicados es la apo E<sup>149</sup>. La regulación de la apo E es específica de tejido, ya que existe un elemento de respuesta a LXR en el promotor de la apo E de macrófagos y adipocitos pero no en células hepáticas<sup>147</sup>. De este modo, la activación LXR induce la salida de colesterol del macrófago no sólo por incremento de la expresión de ABCA1 sino también por el aumento de disponibilidad de aceptores del colesterol eliminado por esta vía, como la apo E. Además, la activación de LXR en macrófagos conduce a la inducción coordinada de otras apolipoproteínas, como la apo C-I, la apo C-IV y la apo C-II<sup>150</sup>.

Por todo lo que se ha expuesto, los LXR constituyen dianas muy atractivas para el desarrollo de fármacos antiateroscleróticos, ya que su activación tiene efectos antiinflamatorios, estimula el proceso de salida de colesterol del macrófago y el transporte reverso de colesterol in vivo<sup>151</sup>. En concordancia, los agonistas LXR reducen la formación de lesiones en modelos animales<sup>152</sup>. Sin embargo, la activación de LXR induce también la expresión la proteína de unión a elementos de respuesta a esteroides 1c (SREBP-1c)<sup>153</sup>, que controla la expresión de enzimas lipogénicas como la ácido graso sintasa (FAS). De forma similar a la inducción de transportadores ABC, el incremento en la expresión de FAS representa un mecanismo homeostático para reducir el potencial citotóxico del colesterol libre, en este caso promoviendo la síntesis de ácidos grasos para la formación de ésteres de colesterol. Sin embargo, este mecanismo adaptativo se convierte en un inconveniente cuando se trata de diseñar fármacos clínicamente útiles, ya que la activación LXR comportará esteatosis hepática e hiperlipemia. Se han propuesto diversas alternativas para evitar la aparición de estos efectos adversos: una de ellas es el diseño de agonistas selectivos de LXR $\beta$ , ya que parece ser que el subtipo LXR $\alpha$  controla la expresión hepática de SREBP1c, mientras que la isoforma  $\beta$  regula la expresión basal de ABCA1 en macrófagos<sup>154</sup>. De esta forma, la activación selectiva de LXR $\beta$  podría estimular la salida de colesterol del

macrófago sin inducir lipogénesis hepática. El principal problema de esta estrategia radica en la similitud entre los dominios de unión al ligando de una y otra isoforma, lo que dificulta encontrar agonistas específicos<sup>155</sup>. La segunda aproximación se basa en el hecho de que los genes diana de LXR difieren en su capacidad de reclutar coactivadores y correpresores. Por ejemplo, los heterodímeros LXR/RXR en ausencia de ligando reprimen la expresión de genes diana por unión a correpresores como NCoR, y la activación por ligando conduce a la disociación de NCoR y el reclutamiento de coactivadores. Sin embargo, en macrófagos LXR<sup>-</sup> el correpresor NCoR no es reclutado a sus genes diana, lo cual es suficiente para permitir la inducción de ABCA1 sin que se desreprima SREBP1c ni se produzca un incremento en la síntesis de ácidos grasos<sup>54</sup>. Así pues, la síntesis de ligandos LXR que de forma selectiva impidieran la unión de correpresores sin inducir el reclutamiento de coactivadores resultaría en una activación LXR restringida a ciertos genes, evitándose el incremento en la lipogénesis.

El estudio de las vías metabólicas implicadas en la salida de colesterol de las células continúa desvelando nuevos mecanismos de regulación de este proceso. Así, la hidroxilación de colesterol por la enzima estero 27-hidroxilasa (Cyp27) facilita su salida del macrófago al convertirlo en metabolitos más polares, como el 27-hidroxicolesterol<sup>156</sup>. Los macrófagos humanos expresan Cyp27 de forma particularmente abundante, probablemente como un mecanismo de defensa ante la acumulación de colesterol intracelular. De acuerdo con esta hipótesis, la expresión de Cyp27 está incrementada en tejidos ateroscleróticos, colocalizando con macrófagos en las lesiones más avanzadas<sup>157</sup>. Recientemente, Quinn et al<sup>158</sup> han demostrado que los ligandos RXR y PPAR $\gamma$  inducen la expresión de CYP27 en macrófagos, lo que podría constituir un nuevo mecanismo de protección contra el desarrollo de aterosclerosis mediado por estos agentes. Otro ejemplo lo constituye la proteína AEBP1 (*adipocyte enhancer-binding protein 1*), identificada como un nuevo regulador del eflujo de colesterol y de la respuesta inflamatoria en el macrófago<sup>159</sup>. Parece ser que AEBP1 reprime transcripcionalmente PPAR $\gamma$ , LXR $\alpha$  y sus genes diana, induce la expresión de mediadores proinflamatorios y reduce la salida del colesterol del macrófago, promoviendo la formación de células espumosas. Por tanto, AEBP1 se suma a la lista de dianas farmacológicas potencialmente interesantes para el desarrollo de terapias antiaterogénicas.

## Conclusión

En la actualidad la aterosclerosis ya no se contempla únicamente como un trastorno del metabolismo lipídico, sino como una enfermedad crónica de carácter inflamatorio en la que los monocitos y macrófagos desempeñan un papel muy destacado. En consecuencia, las aproximaciones farmacológicas destinadas a inhibir o retrasar el desarrollo de la aterosclerosis han pasado de la simple reducción de las concentraciones plasmáticas de lípidos a la intervención directa en las células de la pared arterial. Desde este punto de vista, la identificación de dianas terapéuticas en monocitos y macrófagos destinadas a reducir la adhesión y el reclutamiento de estas células, o a inhibir la inflamación y la formación de células espumosas, adquiere una especial relevancia. El desarrollo de nuevos fármacos que actúen modulando estas dianas puede llevar, en un futuro que no debería estar muy lejano, a una mejora sustancial en el tratamiento y la prevención de la enfermedad aterosclerótica.

## Bibliografía

- Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med.* 2006;3:e442.
- Stoll G, Bendszus M. Inflammation and atherosclerosis: novel insights into plaque formation and destabilization. *Stroke.* 2006;37:1923-32.
- Schram MT, Stehouwer CD. Endothelial dysfunction, cellular adhesion molecules and the metabolic syndrome. *Horm Metab Res.* 2005;37 Suppl 1:49-55.
- Stokes KY. Microvascular responses to hypercholesterolemia: the interactions between innate and adaptive immune responses. *Antioxid Redox Signal.* 2006;8:1141-51.
- Huo Y, Ley K. Adhesion molecules and atherogenesis. *Acta Physiol Scand.* 2001;173:35-43.
- Haught WH, Mansour M, Rothlein R, Kishimoto TK, Mainolfi EA, Hendricks JB, et al. Alterations in circulating intercellular adhesion molecule-1 and L-selectin: further evidence for chronic inflammation in ischemic heart disease. *Am Heart J.* 1996;132:1-8.
- Ulbrich H, Eriksson EE, Lindbom L. Leukocyte and endothelial cell adhesion molecules as targets for therapeutic interventions in inflammatory disease. *Trends Pharmacol Sci.* 2003;24:640-7.
- Kaneider NC, Leger AJ, Kuliopulos A. Therapeutic targeting of molecules involved in leukocyte-endothelial cell interactions. *FEBS J.* 2006;273:4416-24.
- Weber C, Erl W, Weber KS, Weber PC. HMG-CoA reductase inhibitors decrease CD11b expression and CD11b-dependent adhesion of monocytes to endothelium and reduce increased adhesiveness of monocytes isolated from patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 1997;30:1212-7.
- Yoshida M, Sawada T, Ishii H, Gerszten RE, Rosenzweig A, Gimbrone MA Jr., et al. Hmg-CoA reductase inhibitor modulates monocyte-endothelial cell interaction under physiological flow conditions in vitro: involvement of Rho GTPase-dependent mechanism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:1165-71.
- Niwa S, Totsuka T, Hayashi S. Inhibitory effect of fluvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, on the expression of adhesion molecules on human monocyte cell line. *Int J Immunopharmacol.* 1996;18:669-75.
- Takeuchi S, Kawashima S, Rikitake Y, Ueyama T, Inoue N, Hirata K, et al. Cerivastatin suppresses lipopolysaccharide-induced ICAM-1 expression through inhibition of Rho GTPase in BAEC. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;269:97-102.
- Pruefer D, Scalia R, Lefer AM. Simvastatin inhibits leukocyte-endothelial cell interactions and protects against inflammatory processes in normocholesterolemic rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:2894-900.
- Weitz-Schmidt G. Statins as anti-inflammatory agents. *Trends Pharmacol Sci.* 2002;23:482-6.
- Weitz-Schmidt G, Welzenbach K, Brinkmann V, Kamata T, Kallen J, Bruns C, et al. Statins selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site. *Nat Med.* 2001;7:687-92.
- Weitz-Schmidt G. Statins as anti-inflammatory agents. *Trends Pharmacol Sci.* 2002;23:482-6.
- Bonetti PO, Lerman LO, Napoli C, Lerman A. Statin effects beyond lipid lowering – are they clinically relevant? *Eur Heart J.* 2003;24:225-48.
- Zambon A, Gervois P, Pauletto P, Fruchart JC, Staels B. Modulation of hepatic inflammatory risk markers of cardiovascular diseases by PPAR-alpha activators: clinical and experimental evidence. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:977-86.
- Pasceri V, Wu HD, Willerson JT, Yeh ET. Modulation of vascular inflammation in vitro and in vivo by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activators. *Circulation.* 2000;101:235-8.
- Yue TL, Chen J, Bao W, Narayanan PK, Bril A, Jiang W, et al. In vivo myocardial protection from ischemia/reperfusion injury by the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist rosiglitazone. *Circulation.* 2001;104:2588-94.
- Johns DG, Ao Z, Eybye M, Olzinski A, Costell M, Gruver S, et al. Rosiglitazone protects against ischemia/reperfusion-induced leukocyte adhesion in the Zucker diabetic fatty rat. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005;315:1020-7.
- Pitt B, Byington RP, Furberg CD, Hunninghake DB, Mancini GB, Miller ME, et al. Effect of amlodipine on the progression of atherosclerosis and the occurrence of clinical events. *PREVENT Investigators.* *Circulation.* 2000;102:1503-10.
- Yoshii T, Iwai M, Li Z, Chen R, Ide A, Fukunaga S, et al. Regression of atherosclerosis by amlodipine via anti-inflammatory and anti-oxidative stress actions. *Hypertens Res.* 2006;29:457-66.
- Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2005;352:1685-95.
- Boisvert WA, Santiago R, Curtiss LK, Terkeltaub RA. A leukocyte homologue of the IL-8 receptor CXCR-2 mediates the accumulation of macrophages in atherosclerotic lesions of LDL receptor-deficient mice. *J Clin Invest.* 1998;101:353-63.
- Combadiere C, Potteaux S, Gao JL, Esposito B, Casanova S, Lee EJ, et al. Decreased atherosclerotic lesion formation in CX3CR1/apolipoprotein E double knockout mice. *Circulation.* 2003;107:1009-16.
- Barter P. The inflammation: lipoprotein cycle. *Atheroscler Suppl.* 2005;6:15-20.
- Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D, Wilcox JN. Monocyte chemoattractant protein-1 in human atheromatous plaques. *J Clin Invest.* 1991;88:1121-7.
- Boring L, Gosling J, Cleary M, Charo IF. Decreased lesion formation in CCR2<sup>-/-</sup> mice reveals a role for chemokines in the initiation of atherosclerosis. *Nature.* 1998;394:894-7.
- Inoue S, Egashira K, Ni W, Kitamoto S, Usui M, Otani K, et al. Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy limits progression and destabilization of established atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation.* 2002;106:2700-6.
- Romano M, Diomedea L, Sironi M, Massimiliano L, Sottocorno M, Polentarutti N, et al. Inhibition of monocyte chemotactic protein-1 synthesis by statins. *Lab Invest.* 2000;80:1095-100.
- Rezaie-Majd A, Maca T, Bucek RA, Valent P, Muller MR, Husslein P, et al. Simvastatin reduces expression of cytokines interleukin-6, interleukin-8, and monocyte chemoattractant protein-1 in circulating monocytes from hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:1194-9.
- Han KH, Ryu J, Hong KH, Ko J, Pak YK, Kim JB, et al. HMG-CoA reductase inhibition reduces monocyte CC chemokine receptor 2 expression and monocyte chemoattractant protein-1-mediated monocyte recruitment in vivo. *Circulation.* 2005;111:1439-47.
- Tanaka T, Fukunaga Y, Itoh H, Doi K, Yamashita J, Chun TH, et al. Therapeutic potential of thiazolidinediones in activation of

- peroxisome proliferator-activated receptor gamma for monocyte recruitment and endothelial regeneration. *Eur J Pharmacol*. 2005;508:255-65.
35. Han KH, Chang MK, Boullier A, Green SR, Li A, Glass CK, et al. Oxidized LDL reduces monocyte CCR2 expression through pathways involving peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *J Clin Invest*. 2000;106:793-802.
  36. Chen Y, Green SR, Ho J, Li A, Almazan F, Quehenberger O. The mouse CCR2 gene is regulated by two promoters that are responsive to plasma cholesterol and peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;332:188-93.
  37. Damas JK, Boullier A, Waehre T, Smith C, Sandberg WJ, Green S, et al. Expression of fractalkine (CX3CL1) and its receptor, CX3CR1, is elevated in coronary artery disease and is reduced during statin therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:2567-72.
  38. Choudhury RP, Lee JM, Greaves DR. Mechanisms of disease: macrophage-derived foam cells emerging as therapeutic targets in atherosclerosis. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2005;2:309-15.
  39. Hansson GK. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:1876-90.
  40. Tobias P, Curtiss LK. Thematic review series: The immune system and atherogenesis. Paying the price for pathogen protection: toll receptors in atherogenesis. *J Lipid Res*. 2005;46:404-11.
  41. Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol*. 2004;4:499-511.
  42. Pasterkamp G, Van Keulen JK, De Kleijn DP. Role of Toll-like receptor 4 in the initiation and progression of atherosclerotic disease. *Eur J Clin Invest*. 2004;34:328-34.
  43. Methe H, Kim JO, Kofler S, Weis M, Nabauer M, Koglin J. Expansion of circulating Toll-like receptor 4-positive monocytes in patients with acute coronary syndrome. *Circulation*. 2005;111:2654-61.
  44. Kiechl S, Lorenz E, Reindl M, Wiedermann CJ, Oberhollenzer F, Bonora E, et al. Toll-like receptor 4 polymorphisms and atherogenesis. *N Engl J Med*. 2002;347:185-92.
  45. Michelsen KS, Wong MH, Shah PK, Zhang W, Yano J, Doherty TM, et al. Lack of Toll-like receptor 4 or myeloid differentiation factor 88 reduces atherosclerosis and alters plaque phenotype in mice deficient in apolipoprotein E. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:10679-84.
  46. Poltorak A, He X, Smirnova I, Liu MY, Van HC, Du X, et al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science*. 1998;282:2085-8.
  47. Methe H, Kim JO, Kofler S, Nabauer M, Weis M. Statins decrease Toll-like receptor 4 expression and downstream signaling in human CD14<sup>+</sup> monocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:1439-45.
  48. Niessner A, Steiner S, Speidl WS, Pleiner J, Seidinger D, Maurer G, et al. Simvastatin suppresses endotoxin-induced upregulation of toll-like receptors 4 and 2 in vivo. *Atherosclerosis*. 2006;189:408-13.
  49. Mullick AE, Tobias PS, Curtiss LK. Modulation of atherosclerosis in mice by Toll-like receptor 2. *J Clin Invest*. 2005;115:3149-56.
  50. Ogawa S, Lozach J, Benner C, Pascual G, Tangirala RK, Westin S, et al. Molecular determinants of crosstalk between nuclear receptors and toll-like receptors. *Cell*. 2005;122:707-21.
  51. Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. *Physiol Rev*. 2006;86:515-81.
  52. Koh KK, Han SH, Quon MJ. Inflammatory markers and the metabolic syndrome: insights from therapeutic interventions. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46:1978-85.
  53. Furst DE, Breedveld FC, Kalden JR, Smolen JS, Burmester GR, Bijlsma JW, et al. Updated consensus statement on biological agents, specifically tumour necrosis factor alpha (TNFalpha) blocking agents and interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra), for the treatment of rheumatic diseases, 2005. *Ann Rheum Dis*. 2005;64 Suppl 4:iv2-14.
  54. Ricote M, Valledor AF, Glass CK. Decoding transcriptional programs regulated by PPARs and LXRs in the macrophage: effects on lipid homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:230-9.
  55. Jiang C, Ting AT, Seed B. PPAR-gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature*. 1998;391:82-6.
  56. Straus DS, Pascual G, Li M, Welch JS, Ricote M, Hsiang CH, et al. 15-deoxy-delta 12,14-prostaglandin J2 inhibits multiple steps in the NF-kappa B signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97:4844-9.
  57. Chawla A, Barak Y, Nagy L, Liao D, Tontonoz P, Evans RM. PPAR-gamma dependent and independent effects on macrophage-gene expression in lipid metabolism and inflammation. *Nat Med*. 2001;7:48-52.
  58. Moore KJ, Rosen ED, Fitzgerald ML, Randow F, Andersson LP, Altshuler D, et al. The role of PPAR-gamma in macrophage differentiation and cholesterol uptake. *Nat Med*. 2001;7:41-7.
  59. Welch JS, Ricote M, Akiyama TE, Gonzalez FJ, Glass CK. PPAR-gamma and PPARDelta negatively regulate specific subsets of lipopolysaccharide and IFN-gamma target genes in macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:6712-7.
  60. Lee CH, Chawla A, Urbiztondo N, Liao D, Boisvert WA, Evans RM, et al. Transcriptional repression of atherogenic inflammation: modulation by PPARDelta. *Science*. 2003;302:453-7.
  61. Joseph SB, Castrillo A, Laffitte BA, Mangelsdorf DJ, Tontonoz P. Reciprocal regulation of inflammation and lipid metabolism by liver X receptors. *Nat Med*. 2003;9:213-9.
  62. Ferro D, Parrotto S, Basili S, Alessandri C, Viola F. Simvastatin inhibits the monocyte expression of proinflammatory cytokines in patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36:427-31.
  63. Okopien B, Krysiak R, Kowalski J, Madej A, Belowski D, Zielinski M, et al. Monocyte release of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta in primary type IIa and IIb dyslipidemic patients treated with statins or fibrates. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2005;46:377-86.
  64. Albert MA, Danielson E, Rifai N, Ridker PM. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: the pravastatin inflammation/CRP evaluation (PRINCE): a randomized trial and cohort study. *JAMA*. 2001;286:64-70.
  65. Jialal I, Stein D, Balis D, Grundy SM, Adams-Huet B, Devaraj S. Effect of hydroxymethyl glutaryl coenzyme a reductase inhibitor therapy on high sensitive C-reactive protein levels. *Circulation*. 2001;103:1933-5.
  66. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks F, Braunwald E. Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. The Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation*. 1999;100:230-5.
  67. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu Rev Biochem*. 1983;52:223-61.
  68. Murphy JE, Tedbury PR, Homer-Vanniasinkam S, Walker JH, Ponnambalam S. Biochemistry and cell biology of mammalian scavenger receptors. *Atherosclerosis*. 2005;182:1-15.
  69. Moore KJ, Freeman MW. Scavenger receptors in atherosclerosis: beyond lipid uptake. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26:1702-11.
  70. Kunjathoor VV, Febbraio M, Podrez EA, Moore KJ, Andersson L, Koehn S, et al. Scavenger receptors class A-I/II and CD36 are the principal receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages. *J Biol Chem*. 2002;277:49982-8.
  71. Llaverias G, Noe V, Penuelas S, Vazquez-Carrera M, Sanchez RM, Laguna JC, et al. Atorvastatin reduces CD68, FABP4, and HBP expression in oxLDL-treated human macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;318:265-74.
  72. Kodama T, Freeman M, Rohrer L, Zabrecky J, Matsudaira P, Krieger M. Type I macrophage scavenger receptor contains alpha-helical and collagen-like coiled coils. *Nature*. 1990;343:531-5.
  73. Gough PJ, Greaves DR, Gordon S. A naturally occurring isoform of the human macrophage scavenger receptor (SR-A) gene generated by alternative splicing blocks modified LDL uptake. *J Lipid Res*. 1998;39:531-43.
  74. Naito M, Suzuki H, Mori T, Matsumoto A, Kodama T, Takahashi K. Coexpression of type I and type II human macrophage scavenger receptors in macrophages of various organs and foam cells in atherosclerotic lesions. *Am J Pathol*. 1992;141:591-9.

75. Lougheed M, Lum CM, Ling W, Suzuki H, Kodama T, Steinbrecher U. High affinity saturable uptake of oxidized low density lipoprotein by macrophages from mice lacking the scavenger receptor class A type I/II. *J Biol Chem.* 1997;272:12938-44.
76. Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M, Kamada N, Kataoka M, Jishage K, et al. A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. *Nature.* 1997;386:292-6.
77. Sakaguchi H, Takeya M, Suzuki H, Hakamata H, Kodama T, Horiuchi S, et al. Role of macrophage scavenger receptors in diet-induced atherosclerosis in mice. *Lab Invest.* 1998;78:423-34.
78. De Winther MP, Gijbels MJ, Van Dijk KW, Van Gorp PJ, Suzuki H, Kodama T, et al. Scavenger receptor deficiency leads to more complex atherosclerotic lesions in APOE3Leiden transgenic mice. *Atherosclerosis.* 1999;144:315-21.
79. Babaev VR, Gleaves LA, Carter KJ, Suzuki H, Kodama T, Fazio S, et al. Reduced atherosclerotic lesions in mice deficient for total or macrophage-specific expression of scavenger receptor-A. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:2593-9.
80. Moore KJ, Kunjathoor VV, Koehn SL, Manning JJ, Tseng AA, Silver JM, et al. Loss of receptor-mediated lipid uptake via scavenger receptor A or CD36 pathways does not ameliorate atherosclerosis in hyperlipidemic mice. *J Clin Invest.* 2005;115:2192-201.
81. Herijgers N, De Winther MP, Van EM, Havekes LM, Hofker MH, Hoogerbrugge PM, et al. Effect of human scavenger receptor class A overexpression in bone marrow-derived cells on lipoprotein metabolism and atherosclerosis in low density lipoprotein receptor knockout mice. *J Lipid Res.* 2000;41:1402-9.
82. van EM, de Winther MP, Herijgers N, Havekes LM, Hofker MH, Groot PH, et al. Effect of human scavenger receptor class A overexpression in bone marrow-derived cells on cholesterol levels and atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:2600-6.
83. Platt N, Gordon S. Is the class A macrophage scavenger receptor (SR-A) multifunctional? - The mouse's tale. *J Clin Invest.* 2001;108:649-54.
84. Moore KJ, Freeman MW. Scavenger receptors in atherosclerosis: beyond lipid uptake. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:1702-11.
85. Jalkanen J, Leppanen P, Narvanen O, Greaves DR, Yla-Herttuala S. Adenovirus-mediated gene transfer of a secreted decoy human macrophage scavenger receptor (SR-AI) in LDL receptor knockout mice. *Atherosclerosis.* 2003;169:95-103.
86. Febbraio M, Hajjar DP, Silverstein RL. CD36: a class B scavenger receptor involved in angiogenesis, atherosclerosis, inflammation, and lipid metabolism. *J Clin Invest.* 2001;108:785-91.
87. Nozaki S, Kashiwagi H, Yamashita S, Nakagawa T, Kostner B, Tomiyama Y, et al. Reduced uptake of oxidized low density lipoproteins in monocyte-derived macrophages from CD36-deficient subjects. *J Clin Invest.* 1995;96:1859-65.
88. Febbraio M, Abumrad NA, Hajjar DP, Sharma K, Cheng W, Pearce SF, et al. A null mutation in murine CD36 reveals an important role in fatty acid and lipoprotein metabolism. *J Biol Chem.* 1999;274:19055-62.
89. Febbraio M, Podrez EA, Smith JD, Hajjar DP, Hazen SL, Hoff HF, et al. Targeted disruption of the class B scavenger receptor CD36 protects against atherosclerotic lesion development in mice. *J Clin Invest.* 2000;105:1049-56.
90. Han J, Hajjar DP, Febbraio M, Nicholson AC. Native and modified low density lipoproteins increase the functional expression of the macrophage class B scavenger receptor, CD36. *J Biol Chem.* 1997;272:21654-9.
91. Tontonoz P, Nagy L, Alvarez JG, Thomazy VA, Evans RM. PPAR-gamma promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL. *Cell.* 1998;93:241-52.
92. Nagy L, Tontonoz P, Alvarez JG, Chen H, Evans RM. Oxidized LDL regulates macrophage gene expression through ligand activation of PPARgamma. *Cell.* 1998;93:229-40.
93. Umetani N, Kanayama Y, Okamura M, Negoro N, Takeda T. Lovastatin inhibits gene expression of type-I scavenger receptor in THP-1 human macrophages. *Biochim Biophys Acta.* 1996;1303:199-206.
94. Hrboticky N, Draude G, Hapfelmeier G, Lorenz R, Weber PC. Lovastatin decreases the receptor-mediated degradation of acetylated and oxidized LDLs in human blood monocytes during the early stage of differentiation into macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:1267-75.
95. Llavrias G, Lacasa D, Vinals M, Vazquez-Carrera M, Sanchez RM, Laguna JC, et al. Reduction of intracellular cholesterol accumulation in THP-1 macrophages by a combination of rosiglitazone and atorvastatin. *Biochem Pharmacol.* 2004;68:155-63.
96. Fuhrman B, Koren L, Volkova N, Keidar S, Hayek T, Aviram M. Atorvastatin therapy in hypercholesterolemic patients suppresses cellular uptake of oxidized-LDL by differentiating monocytes. *Atherosclerosis.* 2002;164:179-85.
97. Pietsch A, Erl W, Lorenz RL. Lovastatin reduces expression of the combined adhesion and scavenger receptor CD36 in human monocytic cells. *Biochem Pharmacol.* 1996;52:433-9.
98. Ruiz-Velasco N, Dominguez A, Vega MA. Statins upregulate CD36 expression in human monocytes, an effect strengthened when combined with PPAR-gamma ligands putative contribution of Rho GTPases in statin-induced CD36 expression. *Biochem Pharmacol.* 2004;67:303-13.
99. Marx N, Duez H, Fruchart JC, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptors and atherogenesis: regulators of gene expression in vascular cells. *Circ Res.* 2004;94:1168-78.
100. Cascieri MA. The potential for novel anti-inflammatory therapies for coronary artery disease. *Nature Reviews Drug Discovery.* 2002;1:122-30.
101. Buhman KF, Accad M, Farese RV Jr. Mammalian acyl-CoA:cholesterol acyltransferases. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1529:142-54.
102. Miyazaki A, Sakashita N, Lee O, Takahashi K, Horiuchi S, Hakamata H, et al. Expression of ACAT-1 protein in human atherosclerotic lesions and cultured human monocytes-macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18:1568-74.
103. Matsuda K. ACAT inhibitors as antiatherosclerotic agents: compounds and mechanisms. *Med Res Rev.* 1994;14:271-305.
104. Llavrias G, Jove M, Vazquez-Carrera M, Sanchez RM, Diaz C, Hernandez G, et al. Avasimibe and atorvastatin synergistically reduce cholesteryl ester content in THP-1 macrophages. *Eur J Pharmacol.* 2002;451:11-7.
105. Rodriguez A, Usher DC. Anti-atherogenic effects of the acyl-CoA:cholesterol acyltransferase inhibitor, avasimibe (CI-1011), in cultured primary human macrophages. *Atherosclerosis.* 2002;161:45-54.
106. Alegret M, Llavrias G, Silvestre JS. Acyl coenzyme A:cholesterol acyltransferase inhibitors as hypolipidemic and antiatherosclerotic drugs. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 2004;26:563-86.
107. Tardif JC, Gregoire J, L'allier PL, Anderson TJ, Bertrand O, Reeves F, et al. Effects of the acyl coenzyme A:cholesterol acyltransferase inhibitor avasimibe on human atherosclerotic lesions. *Circulation.* 2004;110:3372-7.
108. Nissen SE, Tuzcu EM, Brewer HB, Sipahi I, Nicholls SJ, Ganz P, et al. Effect of ACAT inhibition on the progression of coronary atherosclerosis. *N Engl J Med.* 2006;354:1253-63.
109. Ohashi R, Mu H, Wang X, Yao Q, Chen C. Reverse cholesterol transport and cholesterol efflux in atherosclerosis. *QJM.* 2005;98:845-56.
110. Trigatti B, Covey S, Rizvi A. Scavenger receptor class B type I in high-density lipoprotein metabolism, atherosclerosis and heart disease: lessons from gene-targeted mice. *Biochem Soc Trans.* 2004;32:116-20.
111. Arai T, Wang N, Bezouevski M, Welch C, Tall AR. Decreased atherosclerosis in heterozygous low density lipoprotein receptor-deficient mice expressing the scavenger receptor BI transgene. *J Biol Chem.* 1999;274:2366-71.
112. Ueda Y, Gong E, Royer L, Cooper PN, Francone OL, Rubin EM. Relationship between expression levels and atherogenesis in scavenger receptor class B, type I transgenics. *J Biol Chem.* 2000;275:20368-73.
113. Kozarsky KF, Donahee MH, Glick JM, Krieger M, Rader DJ. Gene transfer and hepatic overexpression of the HDL receptor SR-BI reduces atherosclerosis in the cholesterol-fed LDL receptor-deficient mouse. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:721-7.
114. Trigatti B, Rayburn H, Vinals M, Braun A, Miettinen H, Penman M, et al. Influence of the high density lipoprotein receptor SR-BI on reproductive and cardiovascular pathophysiology. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96:9322-7.

115. Covey SD, Krieger M, Wang W, Penman M, Trigatti BL. Scavenger receptor class B type I-mediated protection against atherosclerosis in LDL receptor-negative mice involves its expression in bone marrow-derived cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:1589-94.
116. Zhang W, Yancey PG, Su YR, Babaev VR, Zhang Y, Fazio S, et al. Inactivation of macrophage scavenger receptor class B type I promotes atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation.* 2003;108:2258-63.
117. Chinetti G, Gbaguidi FG, Griglio S, Mallat Z, Antonucci M, Poulain P, et al. CLA-1/SR-BI is expressed in atherosclerotic lesion macrophages and regulated by activators of peroxisome proliferator-activated receptors. *Circulation.* 2000;101:2411-7.
118. Llaverias G, Rebollo A, Pou J, Vazquez-Carrera M, Sanchez RM, Laguna JC, et al. Effects of rosiglitazone and atorvastatin on the expression of genes that control cholesterol homeostasis in differentiating monocytes. *Biochem Pharmacol.* 2006;71:605-14.
119. Han J, Parsons M, Zhou X, Nicholson AC, Gotto AM Jr, Hajjar DP. Functional interplay between the macrophage scavenger receptor class B type I and pitavastatin (NK-104). *Circulation.* 2004;110:3472-9.
120. Vinals M, Bermudez I, Llaverias G, Alegret M, Sanchez RM, Vazquez-Carrera M, et al. Aspirin increases CD36, SR-BI, and ABCA1 expression in human THP-1 macrophages. *Cardiovasc Res.* 2005;66:141-9.
121. Tancevski I, Wehinger A, Schgoer W, Eller P, Cuzzocrea S, Foege B, et al. Aspirin regulates expression and function of scavenger receptor-BI in macrophages: studies in primary human macrophages and in mice. *FASEB J.* 2006;20:1328-35.
122. Oram JF. Tangier disease and ABCA1. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1529:321-30.
123. Singaraja RR, Fievet C, Castro G, James ER, Hennuyer N, Clees SM, et al. Increased ABCA1 activity protects against atherosclerosis. *J Clin Invest.* 2002;110:35-42.
124. Joyce CW, Amar MJ, Lambert G, Vaisman BL, Paigen B, Najib-Fruchart J, et al. The ATP binding cassette transporter A1 (ABCA1) modulates the development of aortic atherosclerosis in C57BL/6 and apoE-knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:407-12.
125. McNeish J, Aiello RJ, Guyot D, Turi T, Gabel C, Aldinger C, et al. High density lipoprotein deficiency and foam cell accumulation in mice with targeted disruption of ATP-binding cassette transporter-1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97:4245-50.
126. Van EM, Bos IS, Kaminski WE, Orso E, Rothe G, Twisk J, et al. Leukocyte ABCA1 controls susceptibility to atherosclerosis and macrophage recruitment into tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:6298-303.
127. Aiello RJ, Brees D, Bourassa PA, Royer L, Lindsey S, Coskran T, et al. Increased atherosclerosis in hyperlipidemic mice with inactivation of ABCA1 in macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:630-7.
128. Van EM, Singaraja RR, Ye D, Hildebrand RB, James ER, Hayden MR, et al. Macrophage ATP-binding cassette transporter A1 overexpression inhibits atherosclerotic lesion progression in low-density lipoprotein receptor knockout mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:929-34.
129. Kennedy MA, Barrera GC, Nakamura K, Baldan A, Tarr P, Fishbein MC, et al. ABCG1 has a critical role in mediating cholesterol efflux to HDL and preventing cellular lipid accumulation. *Cell Metab.* 2005;1:121-31.
130. Baldan A, Tarr P, Lee R, Edwards PA. ATP-binding cassette transporter G1 and lipid homeostasis. *Curr Opin Lipidol.* 2006;17:227-32.
131. Costet P, Luo Y, Wang N, Tall AR. Sterol-dependent transactivation of the ABC1 promoter by the liver X receptor/retinoid X receptor. *J Biol Chem.* 2000;275:28240-5.
132. Sabol SL, Brewer HB Jr, Santamarina-Fojo S. The human ABCG1 gene: identification of LXR response elements that modulate expression in macrophages and liver. *J Lipid Res.* 2005;46:2151-67.
133. Chinetti G, Lestavel S, Bocher V, Remaley AT, Neve B, Torra IP, et al. PPAR-alpha and PPAR-gamma activators induce cholesterol removal from human macrophage foam cells through stimulation of the ABCA1 pathway. *Nat Med.* 2001;7:53-8.
134. Sone H, Shimano H, Shu M, Nakakuki M, Takahashi A, Sakai M, et al. Statins downregulate ATP-binding-cassette transporter A1 gene expression in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;316:790-4.
135. Ando H, Tsuruoka S, Yamamoto H, Takamura T, Kaneko S, Fujimura A. Effects of pravastatin on the expression of ATP-binding cassette transporter A1. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004;311:420-5.
136. Wong J, Quinn CM, Brown AJ. Statins inhibit synthesis of an oxysterol ligand for the liver X receptor in human macrophages with consequences for cholesterol flux. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:2365-71.
137. Zanotti I, Poti F, Favari E, Steffensen KR, Gustafsson JA, Bernini F. Pitavastatin effect on ATP binding cassette A1-mediated lipid efflux from macrophages: evidence for liver X receptor (LXR)-dependent and LXR-independent mechanisms of activation by cAMP. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006;317:395-401.
138. Argmann CA, Edwards JY, Sawyez CG, O'Neil CH, Hegele RA, Pickering JG, et al. Regulation of macrophage cholesterol efflux through hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibition: a role for RhoA in ABCA1-mediated cholesterol efflux. *J Biol Chem.* 2005;280:22212-21.
139. Zhang WY, Gaynor PM, Kruth HS. Apolipoprotein E produced by human monocyte-derived macrophages mediates cholesterol efflux that occurs in the absence of added cholesterol acceptors. *J Biol Chem.* 1996;271:28641-6.
140. Langer C, Huang Y, Cullen P, Wiesenhuber B, Mahley RW, Assmann G, et al. Endogenous apolipoprotein E modulates cholesterol efflux and cholesteryl ester hydrolysis mediated by high-density lipoprotein-3 and lipid-free apolipoproteins in mouse peritoneal macrophages. *J Mol Med.* 2000;78:217-27.
141. Fazio S, Babaev VR, Murray AB, Hasty AH, Carter KJ, Gleaves LA, et al. Increased atherosclerosis in mice reconstituted with apolipoprotein E null macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94:4647-52.
142. Bellosa S, Mahley RW, Sanan DA, Murata J, Newland DL, Taylor JM, et al. Macrophage-specific expression of human apolipoprotein E reduces atherosclerosis in hypercholesterolemic apolipoprotein E-null mice. *J Clin Invest.* 1995;96:2170-9.
143. Huang ZH, Fitzgerald ML, Mazzone T. Distinct cellular loci for the ABCA1-dependent and ABCA1-independent lipid efflux mediated by endogenous apolipoprotein E expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:157-62.
144. Greenow K, Pearce NJ, Ramji DP. The key role of apolipoprotein E in atherosclerosis. *J Mol Med.* 2005;83:329-42.
145. Von EA, Langer C, Engel T, Schauk I, Cignarella A, Reinhardt J, et al. ATP binding cassette transporter ABCA1 modulates the secretion of apolipoprotein E from human monocyte-derived macrophages. *FASEB J.* 2001;15:1555-61.
146. Huang ZH, Lin CY, Oram JF, Mazzone T. Sterol efflux mediated by endogenous macrophage ApoE expression is independent of ABCA1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:2019-25.
147. Laffitte BA, Repa JJ, Joseph SB, Wilpitz DC, Kast HR, Mangelsdorf DJ, et al. LXRs control lipid-inducible expression of the apolipoprotein E gene in macrophages and adipocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:507-12.
148. Zhang L, Chawla A. Role of PPARgamma in macrophage biology and atherosclerosis. *Trends Endocrinol Metab.* 2004;15:500-5.
149. Li AC, Binder CJ, Gutierrez A, Brown KK, Plotkin CR, Pattison JW, et al. Differential inhibition of macrophage foam-cell formation and atherosclerosis in mice by PPARalpha, beta/delta, and gamma. *J Clin Invest.* 2004;114:1564-76.
150. Mak PA, Laffitte BA, Desrumaux C, Joseph SB, Curtiss LK, Mangelsdorf DJ, et al. Regulated expression of the apolipoprotein E/C-IV/C-II gene cluster in murine and human macrophages. A critical role for nuclear liver X receptors alpha and beta. *J Biol Chem.* 2002;277:31900-8.
151. Naik SU, Wang X, Da Silva JS, Jaye M, Macphee CH, Reilly MP, et al. Pharmacological activation of liver X receptors promotes reverse cholesterol transport in vivo. *Circulation.* 2006;113:90-7.
152. Joseph SB, McKilligin E, Pei L, Watson MA, Collins AR, Laffitte BA, et al. Synthetic LXR ligand inhibits the development of atherosclerosis in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:7604-9.
153. Repa JJ, Liang G, Ou J, Bashmakov Y, Lobbaccaro JM, Shimomura I, et al. Regulation of mouse sterol regulatory element-binding



- protein-1c gene (SREBP-1c) by oxysterol receptors, LXRalpha and LXRbeta. *Genes Dev.* 2000;14:2819-30.
154. Geyeregger R, Zeyda M, Stulnig TM. Liver X receptors in cardiovascular and metabolic disease. *Cell Mol Life Sci.* 2006;63:524-39.
155. Zelcer N, Tontonoz P. Liver X receptors as integrators of metabolic and inflammatory signaling. *J Clin Invest.* 2006;116:607-14.
156. Bjorkhem I, Diczfalusy U, Lutjohann D. Removal of cholesterol from extrahepatic sources by oxidative mechanisms. *Curr Opin Lipidol.* 1999;10:161-5.
157. Crisby M, Nilsson J, Kostulas V, Bjorkhem I, Diczfalusy U. Localization of sterol 27-hydroxylase immuno-reactivity in human atherosclerotic plaques. *Biochim Biophys Acta.* 1997;1344:278-85.
158. Quinn CM, Jessup W, Wong J, Kritharides L, Brown AJ. Expression and regulation of sterol 27-hydroxylase (CYP27A1) in human macrophages: a role for RXR and PPARgamma ligands. *Biochem J.* 2005;385:823-30.
159. Majdalawieh A, Zhang L, Fuki IV, Rader DJ, Ro HS. Adipocyte enhancer-binding protein 1 is a potential novel atherogenic factor involved in macrophage cholesterol homeostasis and inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:2346-51.