

La hipótesis de la modificación oxidativa en la aterogénesis

J. Sillero F. de Cañete

La génesis de la aterosclerosis es sin duda un proceso complejo que, de acuerdo con lo postulado por Fuster (1), consideramos divisible en etapas, iniciándose con la disfunción endotelial, prosiguiendo con la formación de la placa ateromatosa y concluyendo en obstrucción vascular por trombosis sobre la placa ulcerada.

Su fisiopatología es multifactorial, así que nuestro comentario debe ceñirse a una sola faceta—desde luego importante, quizá crucial— del proceso: el papel de la oxidación de las lipoproteínas depositadas bajo la íntima vascular en la formación de una lesión ateromatosa definitiva. Consideraremos sucesivamente el fenómeno oxidativo en sí, las pruebas *in vitro* de su relevancia aterogénica, las experiencias confirmatorias de su papel en animales y los estudios en humanos. El corolario obligado de esta disquisición teórica será el posible beneficio de las sustancias con capacidad antioxidante en la prevención y tratamiento del proceso aterosclerótico.

I. Parece cada vez más claro el papel patógeno de los llamados radicales libres de oxígeno (superóxido, hidroxilo, etc.), al punto de constituirse hoy en un mecanismo de lesión aplicable a muchas facetas del enfermar del hombre, desde los procesos inflamatorios a las degeneraciones, desde el envejecimiento al cáncer. En esta línea de polivalencia, hay que situar su influencia en el desarrollo de la enfermedad vascular aterosclerótica, postulado en la hipótesis denominada de la «modificación oxidativa» (2).

De acuerdo con este presupuesto, las lipoproteínas de baja densidad (LDL) que se acumulan bajo el endotelio, en la región subintimal, lo hacen en principio extracelularmente y pronto, a expensas de células vasculares residentes (miocitos, endotelio, macrófagos) sufren una oxidación que en una primera fase es de grado ligero, lo que da lugar a la aparición de unas LSL «mínimamente modificadas» (3). Estas LDL algo oxidadas son empero capaces de inducir en el endotelio la síntesis de una proteína I con acción quimiotáctica sobre los monocitos circulantes, promoviendo de este modo su reclutamiento local, parietal; también se activan factores estimulantes de colonias de granulocitos-macrófagos, con el mismo resultado, además de la transformación de los monocitos en células macrofágicas.

Son precisamente estas células monocitarias y macrofágicas las que procuran una oxidación adicional de las LDL (4), fe-

nómeno conocido como lipoperoxidación. Los lipoperóxidos así generados poseen una apolipoproteína (B-100) con mayor carga negativa, lo que facilita su reconocimiento por los receptores de los macrófagos y subsiguiente internalización endocelular. Hay que tener en cuenta que así como la LDL nativa —no oxidada— es captada bajo regulación de un feedback (es decir, que su unión al receptor macrofágico produce un freno para el enlace de nuevas moléculas lipoproteicas), la LDL oxidada elude tal control y penetra en el fagocito con facilidad. Se producen de este modo las clásicas células espumosas («foam cells»), que caracterizan a la placa ateromatosa madura (5).

Estos lipoperóxidos no solamente alientan un ulterior y más intenso reclutamiento monocitario por quimiotaxis positiva, sino que además dificultan su salida, la transferencia al lumen vascular. Resultan citotóxicos para la célula que lo alberga (4), que al final termina por destruirse y liberar su contenido lisosomal claramente injurioso para el propio endotelio. Así, la disfunción de este último se intensifica, la permeabilidad para nuevas aportaciones de lipoproteínas desde el plasma acrece y el proceso aterogénico se perpetúa y aumenta (6).

De este modo, de acuerdo con la hipótesis de la modificación oxidativa, la lipoperoxidación es un paso clave en la progresión de la degeneración ateromatosa.

II. La hipótesis de la modificación oxidativa parece apoyada por algunos datos obtenidos en el laboratorio, que tienden a confirmar que la oxidación de las lipoproteínas tiene lugar realmente in vivo y contribuye al desarrollo de la degradación vascular.

He aquí algunos de los hechos registrados, resumidos puntualmente:

- anticuerpos reactivos frente a LDL oxidadas son capaces de fijarse en segmentos arteriales escleróticos pero no en trozos de pared vascular normal (7)
- la LDL extraída de las placas ateroscleróticas es semejante a la LDL oxidada in vitro, lo que no ocurre con la mayor parte de la lipoproteína de baja densidad procedente del plasma (8)
- no obstante lo dicho en el párrafo anterior, es lo cierto que en pacientes que han sufrido un infarto agudo de miocardio se detectan concentraciones plasmáticas más altas de LDL oxidada inmunorreactiva que en sujetos normales (9)
- por último, los pacientes con aterosclerosis carotídea demostrada exhiben niveles conspicuos de autoanticuerpos frente a estos lipoperóxidos (10).

III. En un paso adelante, podemos examinar cómo la experimentación animal también favorece la hipótesis de la modificación oxidativa. Conejos Watanabe hiperlipidémicos hereditariamente ven frenado el desarrollo del disturbio lípido

si se someten precozmente a un tratamiento con probucol, que previene las lesiones vasculares arterioscleróticas (11). Probucol es un hipocolesterolemiante relativamente mediocre, ya que reduce el colesterol unido a ciertas fracciones de las lipoproteínas de alta densidad, pero está dotado de un interesante poder antioxidante. A mayor abundamiento, estas LDL de los conejos tratados con probucol resultan más refractarias a la oxidación *in vitro* que las de los conejos control. Esta misma experiencia se ha repetido en monos con idénticos resultados (12), los que igualmente se alcanzan en el aludido tipo de cunicidos tratados con otro antioxidante sintético, la difenil-fenilendiamina (13). Por su parte, la vitamina E reduce la aterogénesis en conejos Watanabe y hamsters, aunque en aquéllos también tiene capacidad hipocolesterolemiante.

IV. Si ahora enfocamos nuestra atención sobre los estudios en humanos, deberemos citar en primer lugar los trabajos de tipo epidemiológico que tratan de relacionar el tipo de dieta y su presunto contenido en antioxidantes con la frecuencia de eventos clínicos relacionados con la aterosclerosis avanzada (enfermedad cardíaca coronaria, ictus). Hay en este sentido estudios de índole descriptiva como el de Verlangieri et al. (14) que encuentra una relación inversa entre la ingesta de frutas y verduras y la tasa de mortalidad cardiovascular; Gey y Puska (15) por su parte demuestran una asociación inversa entre la concentración de alfa-tocoferol en plasma y la mortalidad por patología cardiovascular.

Los estudios tipo caso-control van en el mismo sentido: así, Riemersma et al. (16) evidencian menores niveles de alfa-tocoferol en pacientes con angina de pecho que en sujetos normales, y Ramírez y Flowers (17) han señalado que las concentraciones de otro antioxidante —ácido ascórbico— a nivel leucocitario también resultan menguadas en pacientes con cardiopatía coronaria.

Entre los ensayos prospectivos que han valorado —además de otros parámetros— esta faceta, destaca el conocido Nurses' Health Study (18), referido a más de 87.000 mujeres: una vez más, hay una asociación inversa entre ingesta de alfa-tocoferol (19) y eventos coronarios. Eso mismo se reitera (y no sólo respecto a vitamina E, sino también en relación a betacaroteno) en el Health Professionals Follow-up Study, que reunió casi a 40.000 profesionales; pero la relación inversa sólo resultó significativa en el grupo de fumadores. El beneficio es sobre todo neto con ingresos de tocoferol entre 100 y 250 mg. En cambio, los estudios de intervención terapéutica han sido más bien de sentido negativo: así ocurrió entre los 30.000 finlandeses fumadores en el ATBC (Alphatocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study), que quizá usaron una posología demasiado baja de vitamina E (50 mg por día). Por

lo mismo, en el CHAOS (Cambridge Heart Antioxidant Study) (20), con posologías de tocoferol entre 400 y 800 mg diarios, los pacientes con arteriopatía coronaria demostrada angiográficamente que emplearon la vitamina consiguieron una reducción del 77% de infartos de miocardio no fatales.

V. En el último punto de nuestra disgresión sobre la oxidación lipídica y sus consecuencias, quisiéramos hacer algunas matizaciones:

- la primera, que resulta verosímil que la influencia beneficiosa de los antioxidantes se ejerza más bien sobre la estabilidad de la placa ateromatosa que sobre su crecimiento en volumen. Conocemos hoy bien que placas de tamaño medio pero inestables resultan muy frecuentemente responsables de los eventos oclusivos con repercusión clínica. Y es que los macrófagos necróticos por su contenido en lipoperóxidos liberan enzimas proteolíticas capaces de alterar la integridad estructural de la cubierta fibrosa en la placa ateromatosa, favoreciendo así su fisuración con todas las previsibles consecuencias (21). La denudación endotelial promovida por estas lipoproteínas fuertemente oxidadas favorece además la trombosis local y oclusión (1), que también se ven alentadas por la reducción del factor relajador derivado del endotelio, el óxido nítrico (22)

- en segundo lugar, debemos señalar que los antioxidantes poseen otras acciones antiaterogénicas ajenas a su intrínseca capacidad inhibitoria de los fenómenos de peroxidación lipídica, como son la de inhibición de la adherencia leucocitaria a la pared vascular (y muy particularmente de monocitos) (23) y las de interferencia con la activación de plaquetas (24) y proliferación de la musculatura lisa vascular (25), tan importantes al inicio del proceso aterogénico.

Quisiera recordar, para finalizar, la bella y documentada conferencia del profesor Serrano Ríos en nuestro Instituto durante el curso pasado, en la que trató precisamente este tópico referido al campo de la diabetes: el papel de los radicales libres de oxígeno en la génesis de la micro- y macroangiopatía diabéticas. Confiamos en poder publicar próximamente esta aportación al problema.

En cualquier caso, comenzamos a preguntarnos si será en el futuro una práctica terapéutica habitual el consumo de un antioxidante como profilaxis secundaria o aún primaria de los eventos vasculares promovidos por la aterosclerosis, al mismo o parecido título de lo que hoy sucede con la aspirina... ◀

Bibliografia

1. FUSTER, V.; BADIMON, L.; BADIMON, J.J.; CHESEBRO, J.H.: «The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes». *N. Engl. J. Med.* 1992. 326: 310-318.
2. DÍAZ, M.N.; FREY, B.; VITA, J.A.; KEANEY, J.F.: «Antioxidants and atherosclerosis heart disease». *N. Engl. J. Med.* 1997. 337: 408-416.
3. PARHAMI, E.; FANG, Z.T.; FOGELMAN, A.M.; et al.: «Minimally modified low density lipoprotein-induced responses in endothelial cells are mediated by cyclic adenosine monophosphate». *J. Clin. Invest.* 1993. 92:471-478.
4. CATHCART, M.K.; MOREL, D.W.; CHISOLM, G.M.: «Monocytes and neutrophils oxidize low density lipoproteins making it cytotoxic». *J. Leukoc. Biol.* 1985. 38: 341-350.
5. HENRIKSEN, T.; MAHONEY, E.M.; STEINBERG, D.: «Enhanced macrophage degradation of low density lipoprotein previously incubated endothelial cells: recognition by receptors for acetylated low density lipoproteins». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1981. 78: 6499-6503.
6. SCHWARTZ, C.J.; VALENTE, A.J.; SPRAGUE, E.A.; et al.: «The pathogenesis of atherosclerosis: an overview». *Clin. Cardiol.* 1991. 14:S1-2:116.
7. PALINSKI, W.; ROSENFELD, M.E.; YLÄ-HERTTUALA, S.; et al.: «Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1989. 86: 1372-1376.
8. YLÄ-HERTTUALA, S.; PALINSKI, W.; ROSENFELD, M.E.; et al.: «Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoproteins in atherosclerotic lesions of rabbit and man». *J. Clin. Invest.* 1989. 84: 1086-1095.
9. HOLVOET, P.; PÉREZ, G.; ZHAO, Z.; etc.: «Malondialdehyde-modified low density lipoprotein in atherosclerotic disease». *J. Clin. Invest.* 1995. 95: 2611-2619.
10. SALONE, T.; YLÄ-HERTTUALA, S.; YAMAMOTO, R.; et al.: «Autoantibody against oxidised LDL and progression of carotid atherosclerosis». *Lancet.* 1992. 339: 883-887.
11. KITA, T.; NAGANO, Y.; YOKODE, M.; et al.: «Probucol prevents the progression of atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit, an model animal for familial hypercholesterolemia». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1987. 84: 5928-5931.
12. SASAHARA, M.; RAINES, E.W.; CHAIT, A.; et al.: «Inhibition of hypercholesterolemia induced atherosclerosis in nonhuman primate by probucol. I. Is the extent of atherosclerosis related to resistance of LDL to oxidation?». *J. Clin. Invest.* 1994. 94: 155-164.
13. SPARROW, C.P.; DOBBER, T.W.; OLSZEWSKI, J.; et al.: «Low density lipoprotein is protected from oxidation and the progression of atherosclerosis is slowed in cholesterol-fed rabbits by the antioxidant N-N'-diphenyl-phenylenediamine». *J. Clin. Invest.* 1992. 89: 1885-1891.
14. VERLANGIERI, A.J.; KAPEGHIAN, J.C.; EL-DEAN, S.; et al.: «Fruit and vegetable consumption and cardiovascular disease mortality». *Med. Hypothesis.* 1985. 16:7-15.
15. GEY, K.F.; PUSKA, P.: «Plasma vitamins E and A inversely correlated to mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology». *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1989. 570: 268-282.
16. RIEMERSMA, R.A.; WOOD, D.A.; MACINTYRE, C.C.H.; et al.: «Risk of angina pectoris and plasma concentrations of vitamins A, C, and E, and carotenes». *Lancet.* 1991. 377: 1-5.
17. RAMÍREZ, J.; FLOWERS, N.C.: «Leukocyte ascorbic acid and its relationship to coronary heart disease in man». *Am. J. Clin. Nutr.* 1980. 33: 2079-2087.
18. STAMPFER, M.J.; HENNEKENS, C.H.; MANSON, J.E.; et al.: «Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women». *N. Engl. J. Med.* 1993. 328: 1444-1449.
19. «The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group: The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers». *N.Engl. J. Med.* 1994. 330: 1029-1035.
20. STEPHENS, N.G.; PARSONS, A.; SCHOFIELD, P.M.; et al.: «Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS)». *Lancet.* 1996. 347: 781-786.
21. FALK, E.: «Why do plaques rupture?». *Circulation.* 1992. 86: Suppl. III, III-30, III-42.
22. CHIN, J.H.; AZHAR, S.; HOFFMAN, B.B.: «Inactivation of endothelial derived relaxing factor by oxidized lipoproteins». *J. Clin. Invest.* 1992: 89:10-18.

-
23. FARUGI, R.; DE LA MORTE, C.; DICORLETO, PE.: «Alpha-tocopherol inhibits agonist-induced monocytic cell adhesion to cultured endothelial cells». *J. Clin. Invest.* 1994. 94: 592-600.
24. FREEDMAN, JE.; FARHAT, JH.; LOSCALZO, J.; et al.: « α Tocopherol inhibits aggregation of human platelets by a protein kinase C dependent mechanism». *Circulation.* 1996. 94: 2434-2440.
25. BOSCOBOINIK, D.; SZEWCYK, A., AZZI, A.: «Alpha-tocopherol (vitamin E) regulates vascular smooth muscle cell proliferation and protein kinase C activity». *Arch. Biochem. Biophys.* 1991. 286:264-269.

