

Revisión

Efectos protectores de los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados sobre el desarrollo de la enfermedad cardiovascular

C. M.^a Aguilera, M. C. Ramírez-Tortosa, M.^a D. Mesa y Ángel Gil

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos. Granada. España.

Resumen

La aterosclerosis es una enfermedad compleja con numerosos factores de riesgo que pueden ser afectados por la dieta. En este artículo se pretende revisar el efecto de los ácidos grasos insaturados sobre la enfermedad cardiovascular, dando un énfasis especial a las modificaciones sobre el perfil lipídico de las lipoproteínas y a los mecanismos por los que los ácidos grasos insaturados influyen en el sistema inmune durante el desarrollo de la aterosclerosis. El proceso de aterosclerosis ocurre en tres etapas: disfunción del endotelio vascular, formación de la estría grasa y formación de la capa fibrosa. Cada una de estas etapas está regulada por la acción de moléculas de adhesión, factores de crecimiento y citocinas todos ellos mediadores de la respuesta inmune. La calidad de los lípidos de la dieta puede afectar al metabolismo de las lipoproteínas alterando su concentración en la sangre y favoreciendo su captación por la pared del endotelio vascular. La sustitución de una dieta saturada por grasa monoinsaturada o poliinsaturada ocasiona una disminución del colesterol plasmático, así como de los niveles del colesterol LDL. Por otra parte, una dieta rica en ácidos grasos monoinsaturados previene la modificación oxidativa de las lipoproteínas, más que una rica en ácidos grasos poliinsaturados, y el consumo de aceite de oliva reduce la oxidación de las LDL mediada por los ácidos grasos n-3 en pacientes con patología vascular periférica. Sin embargo, existe una gran controversia en la literatura científica sobre el efecto de los distintos ácidos grasos insaturados en la enfermedad cardiovascular. El tipo de la grasa de la dieta puede afectar directa e indirectamente algunos de los factores mediadores de la respuesta inmune; los ácidos grasos n-3 son potentes agentes antiinflamatorios. Los ácidos grasos de la dieta ocasionan una menor o mayor susceptibilidad a la oxidación de las lipoproteínas ejerciendo un gran efecto sobre la activación de las moléculas de adhesión y otros factores inflamatorios. Muchos trabajos científicos han

PROTECTIVE EFFECTS OF MONOUNSATURATED FATTY ACIDS AND POLYUNSATURATED FATTY ACIDS IN THE DEVELOPMENT OF CARDIOVASCULAR DISEASE

Abstract

Cardiovascular disease has a multifactorial aetiology, as is illustrated by the existence of numerous risk indicators, many of which can be influenced by dietary means. In this article, the effects of unsaturated fatty acids on cardiovascular disease are reviewed, with special emphasis on the modifications of the lipoprotein profile and the mechanism by which fatty acids may affect the immune response on the development of the atherosclerotic lesion. Atherosclerosis occurs fundamentally in three stages: dysfunction of the vascular endothelium, fatty streak and fibrous cap formation. Each of the three stages is regulated by the action of vasoactive molecules, growth factors and cytokines, mediators of the immune response. Dietary lipid quality can affect the lipoprotein metabolism, altering their concentrations in the blood, permitting a greater or lesser recruitment of them in the artery wall. The replacement of dietary saturated fat by mono- or polyunsaturated fats significantly lowers the plasma-cholesterol and LDL-cholesterol levels. Likewise, an enriched monounsaturated fatty acid diet prevents LDL oxidative modifications more than an enriched polyunsaturated diet, and the oxidation of LDL in patients with peripheral vascular disease mediated by n-3 fatty acids can be reduced by the simultaneous consumption of olive oil. However, strong controversy surrounds the effect of the different unsaturated fatty acids. The type of dietary fat can directly or indirectly influence some of the mediating factors of the immune response; n-3 fatty acids have powerful anti-inflammatory properties. Dietary fatty acids strongly determine the susceptibility of lipoproteins to oxidation, which also has an impact on the activation of molecules of adhesion and other inflammatory factors. Moreover, several works have demonstrated a direct effect of fatty acids on the genetic expression of many of those factors. Finally, certain aspects of blood platelet function, blood coagulability, and fibrinolytic activity associated with cardio-

Correspondencia: Ángel Gil Hernández.
 Departamento de Bioquímica y Biología Molecular.
 Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos.
 Ramón y Cajal, 4.
 18071 Granada.

Recibido: 23-10-2000.
 Aceptado: 24-11-2000.

demostrado un efecto directo de estos ácidos grasos sobre la expresión génica de muchos de aquellos factores. Así, el ácido oleico de la dieta disminuye la expresión génica de la VCAM-I. Finalmente, no hay que olvidar que la función plaquetaria, la coagulación sanguínea y la actividad fibrinolítica, todas ellas factores de riesgo de la enfermedad cardiovascular, están influenciadas por los ácidos grasos de la dieta, especialmente por los n-3, que ejercen un efecto inhibitorio de la agregación plaquetaria y activador de la fibrinólisis.

(Nutr Hosp 2001, 16:78-91)

Palabras clave: Ácidos grasos monoinsaturados. Ácidos grasos poliinsaturados. Aterosclerosis. Enfermedad cardiovascular.

Abreviaturas

AT-III: antitrombina III; EC: colesterol esterificado; CL: colesterol libre; CT: colesterol total; DHA: ácido docosahexaenoico; ECV: enfermedades cardiovasculares, EPA: ácido eicosapentaenoico; FGF: factor de crecimiento fibroblástico; FL: fosfolípidos; FVIIc: factor VII de coagulación; HB-EGF: factor de crecimiento epidérmico unido a heparina; HDL: lipoproteína de alta densidad, HUVEC: células endoteliales humanas de la vena umbilical; ICAM: moléculas de adhesión intercelulares; IL: interleucina; LDL: lipoproteína de baja densidad; LPL: lipoproteína lipasa; MCP: proteína quimiotáctica de monocitos; MCSF: factor de activación de colonias de monocitos; MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; NFκB: factor nuclear κB, NO: óxido nítrico, PAF: factor activador de plaquetas; PAI: inhibidor de la activación del plasminógeno; PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas; PUFA: ácidos grasos poliinsaturados; QM: quilomicrones; SFA: ácidos grasos saturados; SMC: células del músculo liso; TF: factor tisular; TG: triglicéridos; TGF: factor de crecimiento transformante; TNF-α: factor de necrosis tumoral; tPA: activador del plasminógeno; VCAM: moléculas de adhesión de células vasculares; β-TG: β-tromboglobulina; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad.

Introducción

La aterosclerosis es una enfermedad compleja con numerosos factores de riesgo entre los que destaca la hipercolesterolemia. Esta situación ocurre por un desajuste en la homeostasis del colesterol corporal producida por un mayor aporte dietético, una menor captación tisular, una mayor síntesis endógena y cambios en la eliminación hepatoiliar de esta molécula. Los efectos beneficiosos de la sustitución de una dieta rica en grasa saturada y colesterol por otras ricas en grasas insaturadas han sido ampliamente estudiados. La grasa de la dieta, tanto en cantidad como en calidad, condiciona determinadas modificaciones fisiológicas que afectan

vascular risk, are modulated by dietary fatty acids; n-3 fatty acids strongly inhibits platelet aggregation and activate thrombolytic processes.

(Nutr Hosp 2001, 16:78-91)

Key words: Atherosclerosis. Cardiovascular disease. Monounsaturated fatty acids. Polyunsaturated fatty acids.

directamente a la patología vascular. Una alta ingesta de lípidos o de energía provoca un aumento en el colesterol y en los triglicéridos plasmáticos, lo que implica un aumento del tamaño o número de las partículas de VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad), LDL (lipoproteínas de baja densidad) y QM (quilomicrones), que favorecen el desarrollo de la enfermedad.

Numerosos estudios clínicos y epidemiológicos han demostrado que un alto contenido de grasa saturada en la dieta origina un incremento de la concentración de colesterol plasmático y de colesterol-LDL (LDLc), mientras que la sustitución de esta grasa por otra poliinsaturada provoca un descenso de dichas concentraciones. Muchos trabajos concluyen que al sustituir la grasa saturada de la dieta por ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA) n-6 se obtienen efectos hipocolesterolémicos similares¹. Otros estudios muestran que los MUFA no producen cambios en el colesterol plasmático² o incrementan el colesterol-HDL (HDLc)³, en comparación con los PUFA n-6 que provocan un descenso. El aceite de pescado, rico en PUFA n-3, reduce la concentración de triglicéridos en plasma, a la vez que aumenta discretamente el HDLc. En cambio, este tipo de aceite se ha asociado con incrementos en las concentraciones de LDLc. Sin embargo, estos efectos dependen en gran medida de las dosis y tipo de aceite de pescado empleados en el experimento, ya que algunos de ellos, escasamente purificados, contienen cantidades elevadas de colesterol. Los resultados encontrados en la literatura científica siguen siendo contradictorios, de manera que se sigue cuestionando el papel de la grasa de la dieta en la enfermedad cardiovascular (ECV)⁴.

Las modificaciones debidas a la oxidación de las LDL desempeñan un papel importante en el inicio y progresión de la aterosclerosis; estas modificaciones se deben principalmente a la peroxidación de los ácidos grasos insaturados. La presencia de PUFA en las partículas lipoproteicas supone una mayor susceptibilidad a la oxidación, ya que esos ácidos grasos poseen mayor número de dobles enlaces sensibles al ataque de los radicales libres.

Las lesiones ateroscleróticas provocan una respuesta celular y molecular específica, mediada por macrófagos y por linfocitos T, entendiéndose como una enfermedad inflamatoria⁵. El proceso de aterogénesis es mucho más que una acumulación de lípidos en la pared arterial, como se ha considerado a lo largo de la historia. A pesar de los cambios en el estilo de vida y el continuo uso de nuevos fármacos para reducir las concentraciones de colesterol plasmático⁶, la ECV continúa siendo la principal causa de muerte en los Estados Unidos, Europa y parte de Asia⁷.

El tipo de grasa de la dieta puede influir directa o indirectamente sobre los factores mediadores de la respuesta inmune relacionados recientemente con la ECV. En esta revisión pretendemos evaluar si realmente los ácidos grasos (MUFA y PUFA) de la dieta influyen sobre el desarrollo de la aterosclerosis; por un lado, sobre el metabolismo lipídico y la susceptibilidad a la oxidación de las lipoproteínas, y por el otro, sobre la funcionalidad vascular y la respuesta inmune.

Influencia de los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados sobre el desarrollo de la lesión aterosclerótica

El desarrollo de la placa de ateroma ha sido y es motivo de discusión en la literatura científica. El proceso aterosclerótico ocurre principalmente en tres etapas, siendo difícil determinar donde acaba una y empieza otra. El inicio del proceso o primera etapa, es la disfunción del endotelio vascular, que consiste en un aumento de la permeabilidad y una migración y adhesión de leucocitos; esto permite la entrada de las lipoproteínas y otros componentes plasmáticos en la pared arterial. La siguiente etapa es de progresión de la placa, en donde hay una deposición de lípidos, formación de células espumosas y procesos oxidativos, lo que lleva a la formación de una estría grasa. La formación de una capa fibrosa se puede considerar como la tercera etapa; en ésta tiene lugar una proliferación de las células del músculo liso hacia la íntima, con secreción de sus productos metabólicos y respuesta inflamatoria. Por último, la progresión de la placa origina la aparición de lesiones avanzadas como calcificación, necrosis y trombosis. Cada una de las etapas anteriores está regulada por la actuación de moléculas vasoactivas, factores de crecimiento y citoquinas, mediadores de la respuesta inmune.

El tipo de grasa de la dieta puede influir, directa o indirectamente, sobre algunos de estos factores mediadores de la respuesta inmune. Los ácidos grasos de la dieta afectan de manera importante a la susceptibilidad a la oxidación de las lipoproteínas, lo que también influye sobre la activación de moléculas de adhesión y otros factores inflamatorios. Por otro lado, se han publicado varios trabajos que demuestran un efecto directo de los ácidos grasos sobre la expresión génica de muchos de estos factores. Aunque no hay que olvidar que la presencia de sustancias de carácter

antioxidante presentes en los aceites utilizados en algunos estudios pueden enmascarar el verdadero efecto de los ácidos grasos por sí mismos. A continuación se detallan los procesos involucrados en la formación de las placas ateroscleróticas y el papel que tienen los lípidos y sus derivados oxidados en ellos.

Disfunción endotelial

Los primeros cambios que preceden a la formación de las lesiones ateroscleróticas tienen lugar en el endotelio vascular. Estos cambios son el incremento de la permeabilidad a las lipoproteínas y otros constituyentes del plasma, la activación de la adhesión molecular de los leucocitos y la migración de los mismos a través del endotelio vascular.

Las células del endotelio vascular actúan como barrera para el transporte de lipoproteínas desde el plasma hasta la íntima de la pared arterial, donde las lipoproteínas como LDL, IDL (lipoproteínas de densidad intermedia), VLDL, QMr (quilomicrones remanentes) y lipoproteína a (Lp(a)) se acumulan y conducen al desarrollo de la aterosclerosis. Las investigaciones realizadas en este sentido indican la importancia de determinados factores como son: la permeabilidad de la pared arterial, el incremento de las lipoproteínas en el plasma, el menor tamaño de las partículas y la alta presión sanguínea.

Función de las lipoproteínas

Se acepta universalmente que altos niveles de LDL en plasma constituyen un importante factor de riesgo de ECV. En cambio, el mecanismo por el que la lipoproteína entra en la pared arterial no está totalmente claro. Los factores determinantes para la entrada de LDL en la íntima han sido recogidos en varias revisiones; hipertensión, tabaquismo, predisposición genética, menor tamaño de LDL, daño mecánico e inmunológico, incremento de permeabilidad en los sitios susceptibles de aterosclerosis e incremento de los niveles de LDL plasmática. Es importante tener en cuenta que la concentración de LDL en la superficie luminal puede aumentar en áreas donde la velocidad del flujo sanguíneo es menor y donde la permeabilidad de la capa endotelial está incrementada, favoreciéndose el flujo de LDL hacia la íntima.

El receptor de LDL (LDL-R) es el mayor receptor celular para la LDL nativa. Su regulación se da principalmente a nivel transcripcional y está controlado por la concentración de colesterol libre (CL) en la célula. Algunos mediadores inflamatorios como las citoquinas y los factores de crecimiento también pueden promover la unión y captación de la LDL. Entre estos mediadores se incluyen el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y la interleucina-1 (IL-1)⁸. Algunos de estos mediadores, como TNF- α e IL-1, afectan la regula-

ción transcripcional de los genes de LDL-R a nivel del promotor. De cualquier manera es poco probable que la activación por citocinas de los LDL-R provoque la acumulación de colesterol, ya que ni el TNF- α ni la IL-1 pueden predominar sobre la actividad inhibidora del LDL-R provocada por el colesterol exógeno.

La adición de LDL a las células vasculares provoca una respuesta mediada por el LDL-R. Por ejemplo, la LDL fue mitogénica para las células endoteliales y las del músculo liso en un estudio de Scott-Burden⁹. Por otro lado, en algunos trabajos se observó que el efecto mitogénico de la LDL era nutricional, como resultado de la provisión de colesterol y ácidos grasos esenciales (araquidónico y linoleico) necesarios para el crecimiento y funcionamiento celular¹⁰. La LDL también puede estimular directamente la producción de PDGF en las células endoteliales¹¹.

Desde hace tiempo se mantiene el debate sobre si niveles elevados de triglicéridos (TG) en plasma, o lo que es lo mismo niveles elevados de VLDL e IDL, suponen un factor de riesgo independiente para la ECV. En un trabajo realizado por Havel¹² se establecieron varias razones por las que estas lipoproteínas debían ser consideradas como potencialmente aterogénicas: en primer lugar, su alto contenido en TG, ésteres de colesterol (CE) y apoE se relacionan con un rápido desarrollo de la estría grasa y posterior formación de la placa de ateroma, hecho demostrado en animales de experimentación. En segundo lugar, la acumulación de QM y VLDL remanentes en la disbetalipoproteíemia familiar causada por una mutación en la apoE, provoca el desarrollo prematuro de la enfermedad ateroesclerótica al estar impedida la captación y eliminación de estas lipoproteínas por su receptor, lo que ocasiona un aumento de su concentración y del tiempo de circulación en el plasma. Por lo que la enfermedad ateromatosa está asociada con un incremento de las VLDL y de las IDL.

Zilversmit¹³ propuso la consideración de las lipoproteínas postprandiales ricas en TG y sus remanentes como potencialmente aterogénicas. En un estudio reciente, tras incubar QMr aislados de sujetos hiperlipidémicos con tiras de aorta de conejo durante 2 h, se observó una menor vasorelajación en respuesta a la acetilcolina en el tejido aórtico. Por tanto, los QMr pueden provocar una disfunción endotelial importante en la enfermedad coronaria.

Mamo y Wheeler¹⁴ estudiaron la acumulación de QMr y LDL en la pared arterial de conejos después de una inyección intravenosa de QM de rata marcados y LDL humana o de conejo. Los QMr se acumularon en la pared arterial de la misma manera que la LDL. Este mismo estudio mostró que el principal sitio de acumulación de las lipoproteínas fue las células del músculo liso (SMC) de la media y no en la íntima.

El mecanismo de actuación de la enzima lipoproteína lipasa (LPL) sobre los QMr fue descrito por Mulder¹⁵. Esta enzima favorece la unión de los QM a los proteoglicanos heparan sulfato ejerciendo de puente entre la lipoproteína y las células endoteliales. Otra molécula que une los QM con las células endoteliales es la apoE, que hace de puente con la LPL. Se ha comprobado la presencia de elevados niveles de lipoproteínas con apoE en el interior celular al favorecer su unión a los proteoglicanos heparansulfato.

Una vez visto el papel que desempeñan las lipoproteínas en las primeras etapas de formación de la placa de ateroma, vamos a considerar la influencia que tiene la grasa de la dieta sobre estas partículas. La calidad lipídica de la dieta puede afectar al metabolismo lipoproteico, alterando las concentraciones de estas partículas en sangre, permitiendo un mayor o menor reclutamiento de las mismas en la pared arterial. La sustitución de grasa saturada por otras mono o poliinsaturadas en la dieta origina descensos significativos de los niveles de colesterol plasmático y LDLc, hecho ampliamente aceptado y que concuerda con los resultados obtenidos en nuestro último trabajo realizado en conejos con aterosclerosis experimental¹⁶. Sin embargo, existe una gran controversia en cuanto al efecto de los distintos ácidos grasos insaturados. La influencia de los MUFA de la dieta sobre los lípidos plasmáticos no está clara. En el pasado, estos ácidos grasos se consideraban neutros en cuanto a su efecto sobre las lipoproteínas plasmáticas. En cambio, investigaciones recientes sugieren que los MUFA pueden tener un efecto favorable sobre las concentraciones lipídicas en sangre, así como sobre la ECV¹⁷. Principalmente debido a un incremento de HDLc y a una caída en los niveles de colesterol total CT y LDLc¹⁸. El consumo de dietas ricas en aceite de oliva también se ha asociado a descensos en la concentración de TG¹⁹. Aunque existen estudios que llegan a conclusiones contradictorias como es el de Chang²⁰, que ha encontrado un incremento del VLDLc y los VLDL-TG tras el consumo de una dieta alta en MUFA.

El efecto de los PUFA n-6 en la dieta sobre las lipoproteínas también ha sido y es motivo de discusión científica. Varios trabajos afirman que las dietas ricas en PUFA n-6 disminuyen las concentraciones de CT, HDL y LDL²¹. El descenso en la concentración de HDL parece estar relacionado con una mayor degradación de la misma a nivel hepático, favoreciéndose el transporte inverso del colesterol²².

La acción principal de los PUFA n-3 en humanos es la reducción de la concentración de TG en plasma²³. Eso mismo ocurre en otras especies animales; por otra parte, *in vitro* se observa la incorporación de los PUFA n-3 células hepáticas y del intestino²⁵. Sin embargo, los datos de los muchos estudios realizados hasta hoy carecen de consistencia, ya que existen muchas diferencias entre dosis y composición del aceite

de pescado utilizado, entre la edad y el estado de salud de los sujetos del estudio y entre las concentraciones plasmáticas de lípidos y la duración del estudio. Así como tiene una gran influencia la presencia de otros factores de la dieta como es el colesterol, los ácidos grasos saturados y los PUFA n-6²⁶.

Importancia de las lipoproteínas oxidadas

Muchos estudios *in vitro* e *in vivo* señalan que la oxidación de las lipoproteínas puede ayudar al reclutamiento de los monocitos en la pared arterial induciendo su activación y adhesión. Al enfrentar *in vitro* células del endotelio vascular con LDL oxidadas parcialmente (LDLmox) se observó un incremento de la unión de los monocitos a las células endoteliales²⁷ y una mayor producción de activadores de monocitos como la proteína quimiotáctica de monocitos (MCP-1), el factor estimulante de las colonias de monocitos (MCSF) y la proteína G²⁸. La LDLmox también induce la síntesis de MCP-1 por las células del músculo liso. El lípido de las LDLmox responsable de estos efectos parece ser el ácido araquidónico oxidado de los fosfolípidos (FL) de la partícula. El metabolito de este lípido, el ácido epoxieicosatrienoico, también promueve la adhesión de los monocitos. En las estrías grasas se han encontrado niveles elevados de RNAM de MCSF y MCP-1²⁹. Recientemente se ha demostrado que el MCP-1 induce la actividad del factor tisular (TF) en la superficie de las células del músculo liso (SMC), lo que podría provocar el avance en el desarrollo de la enfermedad³⁰.

De igual manera, la LDL altamente oxidada (LDL-Lox) también media la unión de monocitos y neutrófilos a los capilares³¹. Esta unión parece estar mediada por los lípidos y los leucotrienos. Por otro lado, se ha encontrado un incremento de los niveles de P-selectina en las lesiones ateroscleróticas³². La LDLox *in vitro* provocó la liberación de P-selectina y se favoreció la unión de neutrófilos y monocitos³³. Sin embargo, en estos estudios la presencia de neutrófilos en las lesiones era escasa, lo cual puede ser debido a la falta de moléculas activadoras de neutrófilos.

La LDLox por sí misma puede atraer a los monocitos e inhibir la migración de los macrófagos que se localizan en áreas específicas de la pared arterial³⁴. De esta forma, se observó que la LDL glicosilada podía atraer por sí misma a los monocitos y activar a las células del endotelio vascular *in vitro*, provocando la unión de los monocitos³⁵.

Es conocido que la resistencia a la oxidación lipídica de las lipoproteínas puede ser modificada por el perfil de ácidos grasos en la dieta y por su contenido en antioxidantes. Parthasarathy y cols.³⁶ observaron que las fracciones de VLDL y LDL aisladas de animales alimentados con aceite de oliva fueron mucho más resistentes a la oxidación que las de aquellos alimentados con aceite de girasol. Además la generación de dienos conjugados fue significativamente menor

en la LDL del grupo de oliva. A su vez, esta LDL incubada con células endoteliales fue menos degradada por los macrófagos. Desde entonces numerosos equipos de investigación han estudiado si realmente una dieta rica en MUFA previene la modificación oxidativa de las lipoproteínas más que una rica en PUFA, generando lipoproteínas de marcada resistencia a la oxidación.

De hecho, Aviram y cols.³⁷ observaron que la LDL incubada con ácido oleico era menos oxidada que otra incubada con ácido linoleico o araquidónico. En un trabajo reciente realizado en hamsters se ha observado un incremento de la fase de retraso y una menor formación de dienos conjugados en las LDL aisladas de los animales sometidos a una dieta suplementada con ácido 18:1 *cis* y *trans*, junto a una mayor concentración de α -tocoferol en dichas partículas. En nuestro equipo de investigación hemos demostrado que el consumo de una dieta rica en aceite de oliva virgen o refinado en conejos con aterosclerosis experimental protege a las partículas de LDL frente a la oxidación¹⁶. Igualmente los últimos estudios realizados en pacientes hipercolesterolémicos han concluido que partículas de LDL ricas en ácido oleico y pobres en PUFA, tras ingerir una dieta rica en aceite de oliva, son más resistentes frente a la oxidación³⁸. Por lo que el ácido oleico protege a la LDL por sí mismo frente a la oxidación.

Muchos estudios sugieren que la sustitución de la grasa saturada de la dieta por PUFA n-3 provoca una mayor susceptibilidad de la LDL a ser oxidada. En los humanos la susceptibilidad a la oxidación de la LDL está muy correlacionada con el estado de desarrollo de la estenosis coronaria. Los efectos adversos de los PUFA n-3 en la oxidación de la LDL *in vitro* no ocurren *in vivo*, de esta forma se puede explicar el efecto protector de los PUFA n-3 frente a la aterosclerosis. En un trabajo reciente se ha observado un menor desarrollo de lesiones ateroscleróticas en el tejido aórtico de conejos WHHL alimentados con 1,5 ml/kg peso de aceite de pescado, a pesar de una mayor susceptibilidad a la oxidación en comparación con el consumo de aceite de oliva³⁹. Asimismo, en un estudio del efecto de diferentes ácidos grasos sobre cultivos de células endoteliales y su posible influencia sobre la peroxidación lipídica de la LDL, se ha observado un incremento significativo en la peroxidación de LDL mediada por células suplementadas con PUFA, lo que indica que el alto grado de insaturación de las series n-6 y n-3 puede acelerar la peroxidación de la LDL y agravar el proceso aterosclerótico.

Los estudios realizados por nuestro grupo de investigación en un modelo de aterosclerosis experimental en conejos, coinciden con los anteriores. De manera que el enriquecimiento de la LDL con PUFA n-3 provoca una mayor susceptibilidad a la oxidación en la misma, en comparación a los PUFA n-6 y MUFA¹⁶. Pero además hemos observado que las modificaciones oxidativas de las LDL con alto porcentaje de PUFA

n-3 en pacientes con patología vascular periférica, pueden ser reducidas por el consumo simultáneo de aceite de oliva virgen extra. Ya que se ha demostrado una menor captación por macrófagos y una menor movilidad electroforética de las LDL del grupo de pacientes que ingirieron diariamente 40 g de aceite de oliva virgen extra junto a un suplemento de 16 g de aceite de pescado durante 3 meses, en comparación a un grupo control de pacientes sin tratamiento dietético^{23, 24}.

Otros estudios^{23, 40} destacan el importante papel que puede tener la presencia de compuestos con carácter antioxidante en la fracción insaponificable de los aceites vegetales. Se ha observado una menor susceptibilidad a la oxidación de la LDL de pacientes normolipémicos al comparar el consumo de aceite de oliva virgen extra frente al de aceite de girasol alto en oleico. Se han estudiado compuestos como el tirosol, cumarina, oleuropeínas y bifenoles que protegen la LDL frente a la oxidación⁴¹. Estos resultados abren una nueva línea en la investigación de la aterosclerosis, destacando el papel protector que puede desempeñar la presencia de sustancias antioxidantes naturales, principalmente polifenoles y tocoferoles, presentes en la fracción insaponificable del aceite de oliva virgen extra, sobre el desarrollo de las ECV.

Efecto de los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados sobre las moléculas de adhesión

Los niveles de las moléculas de adhesión vascular (VCAM-1), que permiten una adhesión firme de los monocitos a la superficie vascular, se elevan en el endotelio vascular en las primeras etapas de la aterosclerosis en animales alimentados con dietas ricas en colesterol⁴². En tratamientos del endotelio vascular con lisofosfatidil colina y con ácido 13-hidroperoxioctadecanoico⁴³ se han encontrado contenidos de VCAM-1 elevados. El tratamiento prolongado con LDLmox provocó niveles mayores de otras moléculas de adhesión monocitaria en humanos⁴⁴.

En los últimos años numerosos grupos de investigación han estudiado el posible efecto de los ácidos grasos sobre los niveles de las moléculas de adhesión y su influencia en el desarrollo de la aterosclerosis. Se ha publicado que el ácido docosahexaenoico (DHA) disminuye significativamente la expresión de las moléculas de adhesión intracelulares (ICAM-1), VCAM-1 y E-selectina en cultivos de células endoteliales humanas⁴⁵. En este trabajo el ácido eicosapentaenoico (EPA) no mostró ningún efecto, hecho que es discutido en la literatura ya que se ha demostrado efectos de ambos, EPA y DHA, sobre la expresión de los mRNA de ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina en células endoteliales de cordón umbilical humano (HUVEC). A su vez Khalifoun y cols.⁴⁶ observaron que ambos ácidos grasos inhibían la adhesión de linfocitos de sangre periférica a HUVEC *in vitro*, aunque el DHA mostró un efecto inhibitorio más potente.

Los estudios realizados en humanos muestran efectos similares a los realizados *in vitro* y anteriormente descritos. Hughes y cols.⁴⁷ fueron los primeros que demostraron que un suplemento de aceite de pescado en la dieta de humanos sanos provocó un descenso significativo de la expresión de ICAM-1 y del antígeno-1 leucocitario en células mononucleadas de sangre periférica, aunque no está claro si este hecho afecta al proceso de adhesión celular. En un interesante trabajo realizado en mujeres y hombres de una comunidad religiosa que fueron sometidos, durante 4 períodos consecutivos de 5 semanas, a dietas que diferían en su perfil lipídico según su contenido en SFA, MUFA o PUFA n-6 y n-3 se observó que la adhesión de monocitos a HUVEC inducida por la LDL no se afectaba por los PUFA n-3 de la dieta, en cambio era menor en el período MUFA⁴⁸. Esta discrepancia en los resultados puede ser debida a que en el primer experimento se usó aceite de pescado encapsulado, mientras que en el segundo aumentó el consumo diario del aceite sin encapsular. El trabajo realizado en pacientes con ECV por Johansen y cols.⁴⁹ mantiene que la mayor susceptibilidad a la oxidación de los PUFA n-3 puede originar compuestos oxidantes y provocar un incremento en la respuesta inflamatoria a través del factor nuclear κ B (NF κ B) que modula la expresión de la E-selectina y de la VCAM-1. Mazierec y cols.⁵⁰ obtuvieron resultados similares en trabajos *in vitro* con fibroblastos humanos incubados con distintos ácidos grasos. Por lo que la administración de PUFA n-3 debe ir acompañada de sustancias antioxidantes como la vitamina E.

Se han propuesto tres posibles mecanismos para explicar el efecto de los Pufa n-3 sobre la expresión de las moléculas de adhesión. El primero es a través de la alteración de los eicosanoides derivados del ácido araquidónico, ya que son los activadores de las citocinas que estimulan la adhesión celular. El enriquecimiento de PUFA n-3 en las membranas celulares conlleva a una inhibición de la síntesis de prostaglandinas E₂ y leucotrienos B₄ ampliamente aceptados como promotores del proceso inflamatorio⁵¹.

En segundo lugar los PUFA n-3 pueden influir directamente sobre la expresión génica de muchos factores mediadores de la respuesta inmune. Los ácidos grasos de la dieta y sus metabolitos pueden regular la activación de los factores de transcripción, mediante fosforilación, modificación proteolítica o unión covalente alterando la expresión génica. La expresión génica de las citocinas y de las moléculas de adhesión está regulada por el NF κ B, de manera que la fosforilación del mismo por la proteincinasa C y la consecuente disociación de su inhibidor, el I κ B, da lugar a la activación de citocinas como la IL-2 e IL6, y de moléculas de adhesión como la ICAM-1⁵².

Por último, se ha demostrado que los PUFA n-3 pueden influir sobre la producción de óxido nítrico (NO), ya que disminuye la expresión del TNF α a través del factor de transcripción NF κ B, inhibiéndose por tanto la estimulación de VCAM-1 e ICAM-1⁴³. El

NO presenta una acción redox por la que interacciona con los radicales libres y, dependiendo de su concentración, puede provocar una inducción o una inhibición⁵³ de la peroxidación lipídica. Numerosos estudios han destacado el importante papel que tiene el NO en el desarrollo de la aterosclerosis; así, algunos investigadores han comprobado que la hipercolesterolemia provoca un descenso del mismo, lo que puede contribuir a la entrada de los monocitos en el endotelio vascular. Por ejemplo, el tratamiento de conejos con el éster metílico de la L-nitroso arginina, un antagonista del NO, incrementó la entrada de monocitos en la pared arterial en especial en las zonas de los vasos de bajo flujo donde se localizan mayoritariamente las lesiones⁵⁴. Por otro lado, se observó que un tratamiento oral con arginina, sustrato para la NO sintasa, inhibió la formación de estrías grasas en animales alimentados con dietas ricas en colesterol⁵⁵. En un estudio reciente realizado en individuos con superproducción de NO (síndrome de Bartter y Gitelman), se ha comprobado una menor susceptibilidad a la oxidación *in vitro* de la LDL aislada de estos pacientes, lo que sugiere el posible papel protector del NO en el desarrollo de la aterosclerosis⁵⁶.

Numerosos trabajos han demostrado que el aceite de pescado en la dieta aumenta la producción de NO por los macrófagos⁵⁷. Se ha encontrado un incremento de metabolitos de NO en la orina de humanos sanos tras el consumo diario de 5 g de un concentrado de aceite de pescado durante 3 semanas. Por el contrario otros trabajos aseguran un efecto neutro⁵⁸ o inhibitorio de los PUFA n-3 sobre la producción de NO, debido a un efecto inhibitorio del DHA sobre la transcripción de la enzima NO-sintasa y la acumulación de su mRNA⁵⁹. A pesar de todo, parece estar más ampliamente aceptado el posible efecto estimulador de la producción de NO por el aceite de pescado.

La menor incidencia de ECV en los países mediterráneos y la tendencia a considerarla como una enfermedad inflamatoria, ha llevado a estudiar la influencia de los MUFA sobre el sistema inmune, aunque en este sentido son pocos los estudios realizados. Los trabajos de Mata y cols.⁴⁸ y De Caterina y cols.⁴⁵ anteriormente comentados, mostraron efectos de los MUFA similares a los del DHA, ya que descendía la expresión de la VCAM-1. También los niveles de expresión de las moléculas de adhesión CD2 e ICAM-1 descendieron en linfocitos de ratas alimentadas con aceite de oliva y de pescado⁶⁰. Yaqoob y cols.⁵² observaron un descenso significativo de la expresión de VCAM-1 en los monocitos de hombres sanos de mediana edad que habían consumido una dieta rica en aceite de oliva. Igualmente se ha encontrado una menor expresión de VCAM-1 *in vitro*, después de incubar HUVEC con oleato sódico, junto a menores niveles de su RNAm. La presencia de oleato en el medio también inhibió la activación del NFκB tras alterar la composición de los fosfolípidos de membrana celulares incrementando el contenido de ácido oleico y dis-

minuyendo la proporción de saturados (palmítico y esteárico)⁶¹.

Estos estudios ponen de manifiesto el papel que desempeñan las lipoproteínas y los ácidos grasos en la captación de los monocitos por el endotelio vascular. De hecho estas partículas pueden estimular la quimiotaxis de los monocitos y activar su captación por el endotelio vascular. La interacción de las lipoproteínas con el endotelio y con las SMC en la íntima quizás tenga un papel importante en la captación de los monocitos antes de que éstos entren en la pared. De esta forma los lípidos de la dieta, tal y como hemos indicado antes, pueden alterar el metabolismo de las lipoproteínas y, por tanto, ejercer un efecto sobre el inicio de la lesión aterosclerótica. Por otro lado, pueden influir directamente sobre la expresión de las moléculas de adhesión que permiten la entrada de los monocitos en el endotelio vascular.

Formación de estrías grasas

El inicio de la formación de la estría grasa consiste en la captación y acumulación de lípidos en monocitos y macrófagos que terminarán formando las células espumosas. Este proceso está acompañado por la migración de SMC, la activación de las células T y la adherencia y agregación plaquetaria.

La formación de células espumosas puede tener un efecto positivo y negativo en la aterogénesis: las células espumosas son secuestradoras potenciales de los lípidos bioactivos; sin embargo, está en discusión la captación de los productos de oxidación lipídica y la estimulación de la producción de citocinas por las SMC. Haberland y cols.⁶² describieron la influencia de diferentes lipoproteínas sobre la formación de células espumosas. Ambos, macrófagos y SMC, acumulan colesterol de una manera incontrolada hasta formar las células espumosas, aunque las SMC lo hacen en menor grado. El consumo elevado de colesterol dio lugar a una interacción colesterol-fosfolípidos en las membranas de las SMC, provocando una alteración en la bicapa lipídica debido a la gran saturación con colesterol. Estas alteraciones en la estructura y organización de las SMC pueden tener un papel importante en la acción de estas células en el desarrollo aterosclerótico.

La acumulación de colesterol en los macrófagos procedente de lipoproteínas ricas en TG, como son las VLDL y los QM, ha sido ampliamente discutida en la literatura científica. Numerosos estudios han demostrado la captación por macrófagos de VLDL aisladas de sujetos normales y su competencia con las VLDLβ (ricas en colesterol y apoE después de una dieta rica en grasa)⁶³. Hace algunos años se demostró que la VLDL de sujetos normotriglicéridémicos no fue captada, mientras que la obtenida de sujetos hipertriglicéridémicos sí lo fue. Estas últimas pueden unirse a la protrombina, que es activada a trombina y puede modificar algunas apolipoproteínas, permitiendo el reconocimiento por los macrófagos. Mazzone y cols.⁶⁴ ob-

servaron una acumulación de ésteres de colesterol en los macrófagos provocada por la VLDL acetilada.

La oxidación de la LDL provoca una alteración de la misma que permite el reconocimiento por los receptores "scavenger" de los macrófagos, llevando a la formación de las células espumosas. El clásico receptor "scavenger" de los macrófagos ha sido clonado y secuenciado, y se ha demostrado su importancia en la formación de las células espumosas en estudios realizados con cultivos celulares⁶⁵.

El reconocimiento de la LDLox por los receptores "scavenger" de los macrófagos está asociado a la pérdida del residuo de lisina de la apo B100 junto a algunas modificaciones del mismo (reacciones con malondialdehído y anhídrido acético) que lo convierten en un ligando perfecto para estos receptores. Además, la peroxidación lipídica genera la formación de grupos carbonilo que se unen covalentemente a los grupos amino de los residuos de lisina. Todo está apoyado con la demostración de que los receptores "scavenger" captan una gran variedad de proteínas modificadas por los productos de oxidación lipídica generados especialmente por el ácido araquidónico⁶⁶. La naturaleza de estos productos de oxidación que reaccionan con los residuos de lisina está profusamente descrita.

La fagocitosis es otro mecanismo por el que los macrófagos pueden acumular colesterol. Cuando la LDL se oxida con cobre o con hipoclorito es captada por los macrófagos mediante fagocitosis, permitiendo la formación de las células espumosas. Se ha demostrado la existencia de anticuerpos frente a proteínas o lípidos oxidados que pueden unirse a la LDLox formando un complejo anticuerpo-lipoproteína que puede ser captado por los macrófagos.

Aunque la acumulación de lipoproteínas en la pared arterial tiene lugar preferentemente en los macrófagos, también las SMC arteriales pueden llegar a formar células espumosas. La ausencia de receptores "scavenger" en estas células hace más difícil el entendimiento de los mecanismos por los que acumulan ésteres de colesterol. Varios autores sugieren un mecanismo independiente del LDL-R, como por ejemplo, pinocitosis, endocitosis adsortiva no específica, o posiblemente mediante una captación a través de un receptor de baja afinidad aún no conocido. Se han identificado otros receptores de la LDLox en los macrófagos y en las SMC, como es el CD 36, aunque aún no son conocidos⁶⁷. Otro mecanismo posible es la transferencia directa de ésteres de colesterol a las SMC desde las lipoproteínas sin una captación previa mediada por las apoproteínas⁶⁸.

La acumulación de LDLox en las células espumosas inhibe la actividad de las enzimas lisosómicas ya que tan sólo un 50% de ésta es degradada. Además, la actividad lisosómica de algunas células espumosas parece ser deficiente puesto que se ha encontrado apolipoproteína B100 intacta en los lisosomas después de incubar durante 24 h un cultivo de macrófagos con LDLox⁶⁹.

La activación de las células T es otro mecanismo que interviene en la formación de la estría grasa. Numerosos estudios, tanto en animales como en humanos, han demostrado que estas células son activadas en presencia de la LDLox o de sus productos. Wuttge y cols.⁷⁰ comprobaron que las células T se activan en ratones reconociendo diferentes derivados de la oxidación lipídica.

Además de las LDLox, los factores implicados en la formación y activación de las células espumosas son el M-CSF, la IL-1 y el TNF α . A su vez, la activación de las células T está mediada por el TNF α y la IL-2. Las SMC de las arterias migran, se diferencian hacia células de tipo fibroblasto y se multiplican por el PDGF, FGF-2 y el factor de crecimiento de transformación blástica β (TGF- β). Todos estos procesos, junto con la adherencia y agregación plaquetaria, activados por integrinas, selectinas P, fibrina, tromboxano A₂, factor tisular y los factores de adherencia y migración de los leucocitos, anteriormente señalados, conducen a la formación de estrías grasas. El efecto de los lípidos de la dieta sobre estos factores se describe en el siguiente apartado, ya que muchos de ellos también desempeñan un papel importante en el desarrollo de la capa fibrosa de la lesión ateromatosa.

Desarrollo de la capa fibrosa

La formación de la capa fibrosa en las lesiones ateroscleróticas conlleva la migración de las SMC. La proliferación y migración de estas células da lugar a un importante avance en el desarrollo de la aterosclerosis, ya que supone un aumento de tamaño de la lesión y una disminución en el grosor de la capa media. Un gran número de citocinas y de factores de crecimiento regulan estos procesos. Principalmente se pueden citar: PDGF, FGF, IL-1 n, IL-6, TNF α y factor de crecimiento epidémico ligado a la heparina (HB-EGF).

Varios autores han estudiado la influencia de las lipoproteínas oxidadas y sus productos derivados sobre estos factores reguladores de la proliferación celular. Se ha observado que la lisofosfadil colina, un producto de oxidación, incrementa los niveles de RNAm de PDGF y HB-EGF, en las células endoteliales, SMC y macrófagos. La LDLox, así como los lípidos oxidados y en general los aldehídos, incrementan la producción de TL-1 β por los monocitos⁷¹. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la LDLox puede inhibir la inducción del RNAm de algunos genes. Los niveles de RNAm para PDGF, IL-1 β , TNF α , IL-6 y HB-EGF están elevados en las lesiones⁷². A pesar de estos resultados, es necesario aclarar que la presencia de estas citocinas no garantiza su actividad, ya que algunas pueden estar unidas a la matriz en forma inactiva.

El contenido de la matriz en la placa aterosclerótica está regulado por el balance entre la síntesis de proteínas en la matriz extracelular por las células del músculo liso y su degradación por las metalo-proteasas.

La síntesis de moléculas de la matriz está regulada por varios factores: TGF β , TNF α e IL-1; al menos dos de ellos aparecen elevados en las lesiones. Se discute si la síntesis de IL-1 está incrementada por la LDLox y los productos de oxidación lipídica. Muchos estudios revelan que la degradación de la matriz se ve afectada por el TNF α y la IL-1 β , ya que activan a las metaloproteasas sin afectar a sus inhibidores⁷³; la degradación de la matriz está asociada a los macrófagos. Estudios recientes muestran que la LDLox puede incrementar los niveles de RNAm de las metaloproteasas en las SMC, mientras que dietas bajas en lípidos pueden reducir la expresión y actividad de estas enzimas⁷⁴.

Los resultados encontrados en la literatura científica sobre la influencia de los lípidos de la dieta en la producción de citocinas y factores de crecimiento importantes en el desarrollo tanto de estrías grasas como de capa fibrosa, son diferentes sin llegar a conclusiones contundentes. Robinson y cols.⁷⁵ demostraron que los linfocitos de ratones alimentados con dietas ricas en aceite de pescado producían niveles inferiores de mRNA de TL-1 β que aquellos alimentados con sebo de ternera. Este efecto parece estar asociado a una inhibición de la transcripción génica de la citocina, aunque se desconoce el mecanismo molecular. En un interesante estudio de Fernandes y cols.⁷⁶ se obtuvieron diferentes efectos del aceite de pescado de la dieta sobre la expresión del TGF- β 1 en diferentes órganos. De manera que la expresión de su mRNA fue menor en riñón pero aumentó en el bazo, en comparación con lo ocurrido en otros animales alimentados con aceite de maíz. Los efectos del ácido γ -linoléico son homogéneos en varios trabajos, en los que se habla de una supresión de la producción de IL-2 en las células en crecimiento⁷⁷.

Recientemente se ha publicado un trabajo que estudia la influencia de distintos lípidos de la dieta (aceites de coco, oliva, girasol y pescado) sobre la producción de citocinas en ratones como respuesta a un lipopolisacárido bacteriano. Las concentraciones de TNF- α , IL-1 β e IL-6 en plasma fueron menores en los animales alimentados con aceite de coco y de pescado que en los alimentados con girasol, mientras que las de IL-10 fueron mayores en el grupo que ingirió aceite de coco, sugiriendo que en comparación al aceite de girasol, el de coco y de pescado pueden ser útiles como terapia antiinflamatoria. El consumo de MUFA no afecta a los niveles de TNF α ⁷⁸. Mientras que los PUFA n-6 pueden ejercer una acción proinflamatoria, especialmente el ácido linoleico que parece tener un importante papel en la expresión génica de factores reguladores de la funcionalidad vascular, como son las citocinas, la actividad de los factores de transcripción endoteliales parece estar regulada por el balance entre el estrés oxidativo celular y el estatus antioxidante. El ácido linoleico se puede considerar como un ácido graso aterogénico ya que activa la expresión génica de las citocinas mediadoras de la respuesta inmu-

ne en la pared vascular al incrementar el estrés oxidativo. La sustitución del aceite de soja por uno de oliva en la base de emulsiones lipídicas para alimentación parenteral da lugar a una menor respuesta inflamatoria, según demuestra un estudio *in vitro* con linfocitos humanos donde se ha observado una menor producción de TNF α e IL-1 β en el grupo tratado con emulsiones de base oleica⁷⁹.

Por el contrario, otros trabajos demuestran un efecto neutro de los PUFA n-3 sobre estos factores de crecimiento y citocinas. Así, parece que la ingesta de tales lípidos no influye sobre el estado de la IL-10 ni sobre los niveles de RNAm de HB-EGF. En un estudio realizado en perros, la administración de una dieta suplementada con PUFA n-3, no afectó a la producción de IL-1, IL-6 ni TNF α (Kearns y cols., 1999). En cambio, estos lípidos pueden disminuir la expresión génica de PDGF y MCP-1, sin observarse cambios provocados por el consumo de PUFA n-6 ni de MUFA⁸⁰.

Lesiones avanzadas en la aterosclerosis

Necrosis y calcificación

La necrosis desempeña un papel importante en la ruptura de la placa y la calcificación reduce la flexibilidad de los vasos. La causa de muerte de los macrófagos en el núcleo de la placa aún no está totalmente clara. Hay evidencias de la existencia de muerte celular por apoptosis inducida por TNF- α . La LDLox es extremadamente letal para las células en división. Los tipos de células para los que la LDLox es letal en cultivos son los macrófagos, las SMC, los fibroblastos y las células endoteliales. Los lípidos responsables de esta toxicidad incluyen los productos de oxidación del colesterol y el hidroxinonenal⁸¹. La letalidad se ha asociado con la necrosis y apoptosis. Ambos procesos parecen ser el resultado de un incremento del flujo de calcio⁸².

La calcificación parece iniciarse cerca de las áreas de necrosis. Numerosos estudios sobre la calcificación vascular asemejan el proceso con el de la formación del hueso por osteoblastos⁸³. Este proceso se ha observado en cultivos de células de la pared arterial, en los que el sistema de oxisteroles puede inducir clones de las células de la pared arterial hasta formar una matriz calcificada.

Estos resultados sugieren que el núcleo necrótico en las lesiones ateroscleróticas puede ser un núcleo apoptótico y, a su vez, los lípidos oxidados pueden provocar apoptosis. Las membranas de las vesículas liberadas en el proceso de apoptosis y posiblemente algunos productos de oxidación pueden contribuir a la calcificación.

Numerosos estudios ponen de manifiesto los cambios provocados en el tejido aórtico en modelos de aterosclerosis, tanto en humanos como en animales. En monos verdes africanos se ha encontrado una gran

acumulación de cristales de colesterol, detectables microscópicamente. A su vez, se ha observado una acumulación de lípidos invisibles, extendida a lo largo del tejido aórtico de forma difusa.

La tendencia a la ruptura de la placa está relacionada con la cantidad de colesterol acumulado en el núcleo necrótico, lo que puede estar regulado por la oxidación lipídica. La ruptura parece comenzar en las áreas de entrada continua de monocitos, principalmente en los codos de los vasos sanguíneos. La actividad de las metaloproteasas es especialmente elevada en estas áreas, lo que origina una digestión parcial de la matriz que termina con la ruptura de la placa.

Recientemente, se ha observado en conejos alimentados con dieta hipercolesterolémica cambios ultraestructurales en la lámina elástica de la válvula aórtica en las primeras fases del desarrollo aterosclerótico, lo que podría desempeñar un papel importante en los siguientes estadios de la enfermedad, provocando una disfunción valvular⁸⁴. Por otro lado, en un modelo de aterosclerosis con conejos hipercolesterolémicos LDL-R deficientes se han detectado pequeñas placas en forma de circunferencia mediante ultrasonidos, mientras que por estudios de angiografía no se detectaba ningún grado de estenosis. Estos cambios se asociaron con el contenido de colesterol, por lo que sería de gran interés practicar análisis mediante ultrasonidos para detectar alteraciones histológicas en las primeras etapas de la enfermedad aterosclerótica⁸⁵.

En las distintas regiones de la aorta la susceptibilidad a la aterosclerosis es diferente; en el arco aórtico es mucho mayor que en las porciones descendentes. La arteria pulmonar también es muy susceptible al desarrollo de la aterosclerosis, en un grado comparable al del arco aórtico. Estas diferencias entre las distintas regiones arteriales se debe, según Schwenke⁸⁶, a las diferencias en el transporte y metabolismo de la LDL y a los cambios provocados en éstas por una dieta rica en colesterol, ya que la permeabilidad encontrada en el arco y en la arteria pulmonar es significativamente mayor a la del resto de regiones.

Procesos de trombosis arterial

Es evidente que la trombosis arterial contribuye a la génesis y a la complicación de la ECV. Estudios patológicos y epidemiológicos muestran una asociación significativa entre los procesos trombóticos o los niveles de los factores implicados en estos procesos y la morbilidad o riesgo de la enfermedad^{87, 88}. Pero la influencia de este proceso sobre la ECV se puede clasificar en tres niveles: la función plaquetaria, la coagulación y la fibrinólisis.

Función plaquetaria. Numerosos estudios han puesto de manifiesto la relación existente entre la agregación plaquetaria y la ECV. Por un lado, un incremento de la agregación plaquetaria inducida por

ADP o trombina se ha asociado con el infarto de miocardio y con electrocardiografías indicadoras de isquemia. Otros trabajos demostraron que la activación plaquetaria, medida por la excreción urinaria de proteína β -tromboglobulina (β -TG), específica de las plaquetas, estaba asociada significativamente con el riesgo de ECV⁸⁹. De igual manera, el volumen plaquetario estaba aumentado en los casos de infarto de miocardio⁹⁰ y había evidencias de que cambios en el volumen plaquetario estaban asociados con el riesgo de infarto⁹¹.

Recientemente, la trombospondina se ha considerado como un factor importante en la adhesión y agregación plaquetaria. Se ha observado una sobreexpresión del mismo en las arterias dañadas por el desarrollo de una aterosclerosis experimental en conejos hipercolesterolémicos⁹².

La LDLox puede estimular las células endoteliales y los monocitos para producir factores tisulares que contribuyen a la formación de trombos tras la ruptura de la placa y la deposición espontánea de fibrina. Estos factores están presentes en la membrana plasmática de los macrófagos y de la placa⁹³. Estudios realizados por Aviram⁹⁴ demostraron que la agregación plaquetaria estaba elevada tras una incubación con LDLox, lo que parece deberse a un cambio en la fluidez de la membrana. A su vez, la agregación puede estar inducida por el factor de activación plaquetaria (PAF)⁹⁵ e inhibido por el producto de oxidación 8-epi-prostaglandina F2 alfa⁹⁶.

Coagulación y fibrinólisis. Los principales marcadores para evaluar la coagulabilidad de la sangre son el fibrinógeno, el factor VII (y otros factores de coagulación), la antitrombina III (AT-III), la liberación por la trombina del fibrinopéptido procedente del fibrinógeno, y los fragmentos de protrombina F_{1+2} . Mientras que el potencial fibrinolítico está marcado por el activador tisular del plasminógeno (tPA), el inhibidor-1 del activador del plasminógeno (PAI-1), y algunos productos de degradación del fibrinógeno (D-dímeros); este último indicador refleja los estados de coagulación y fibrinólisis.

Los primeros estudios indicaban una fuerte asociación entre los niveles plasmáticos de fibrinógeno y la actividad del factor VII de coagulación (FVIIc) con el riesgo de ECV. En algunas poblaciones también se ha vinculado la AT-III con el riesgo de ECV. Una baja actividad fibrinolítica se ha asociado con un mayor riesgo de ECV, por lo que el fibrinógeno se ha aceptado como un factor de riesgo de ECV independiente, mientras que los valores de PAI-1 y tPA no están totalmente reconocidos como factores de riesgo⁹⁷. Aunque recientemente se ha demostrado un incremento en la producción de PAI-1 en macrófagos procedentes de monocitos humanos y cargados de lípidos⁹⁸.

En pacientes con angina de pecho los niveles de los antígenos de fibrinógeno y tPA se ha considerado como predictores independientes del infarto de miocar-

dio o de la muerte súbita. Niveles elevados de D-dímeros en plasma parecen asociarse con una aterosclerosis temprana y con mayor riesgo de infarto de miocardio futuro⁹⁹.

En cuanto a la influencia directa de los ácidos grasos de la dieta sobre estos factores trombogénicos existen varios estudios. Shaar y cols.¹⁰⁰ encontraron una asociación negativa entre la ingesta de PUFA n-3 y los niveles de fibrinógeno en plasma. En cambio, otros estudios con PUFA n-3 muestran resultados muy diferentes¹⁰¹. Los últimos trabajos parecen demostrar un descenso de los niveles de fibrinógeno tras dietas ricas en PUFA n-3, tal y como se ha visto en un trabajo reciente en japoneses sanos que tomaron 10 g diarios de PUFA n-3 durante 17 días¹⁰².

Según los trabajos realizados hasta ahora, la grasa de la dieta puede afectar a la actividad del FVIIc o a los niveles de su antígeno, de manera que dietas bajas en grasa pueden reducir dicha actividad¹⁰³. En cambio, la calidad lipídica de la dieta en cuanto a su contenido en MUFA o PUFA n-3 o n-6, parece no influir directamente. Se han relacionado mayores niveles de FVIIc con una mayor concentración de ácido esteárico libre en plasma, así como tras el consumo de dietas ricas en los ácidos mirístico y laurico¹⁰⁴. Turpein y cols.¹⁰⁵ al comparar el efecto del ácido oleico con el del linoleico sobre los factores de coagulación (fibrinógeno, PAI, AT-III, factor de Von Willebrand o D-dímeros) en humanos no encontraron diferencias, excepto en la actividad del FVIIc que fue menor tras el consumo de la dieta rica en ácido oleico.

Los primeros estudios de la influencia de la dieta sobre la AT-III indicaban que los PUFA n-6 podían incrementar sus niveles en plasma, mientras que los PUFA n-3 no ejercían efecto. En cambio, trabajos recientes demuestran que el ácido α -linoleico puede tener un efecto beneficioso sobre los niveles plasmáticos de AT-III¹⁰⁶.

Un suplemento de PUFA n-3 durante 16 semanas en pacientes con aterosclerosis crónica provocó un incremento significativo de los niveles plasmáticos de inhibidores de factores tisulares, por lo que se originaba una menor coagulación. En un estudio anterior el suplemento durante menos tiempo no mostró estos resultados¹⁰⁷.

Muchos trabajos no han mostrado efecto alguno de la grasa de la dieta sobre la actividad del tPA en plasma, ni de los PUFA n-3¹⁰⁸, ni del aceite de oliva¹⁰⁹, ni del aceite de maíz¹¹⁰. Sin embargo, Johansen y cols.⁴⁹ observaron que los PUFA n-3 provocan un descenso significativo del antígeno de tPA y de la trombomodulina en pacientes con enfermedad coronaria. Resultados que coinciden con los de Dunstan y cols.¹¹¹ realizados en pacientes con diabetes tipo II.

El hecho de que los niveles del PAI-1 estén elevados por la LDLox sugiere un posible mecanismo de descenso de trombólisis. Los efectos de la grasa de la dieta sobre el PAI-1 descritos hasta ahora en la literatura no son consistentes^{101, 110}. Los PUFA n-3 de la die-

ta incrementan los niveles del antígeno del PAI-1 o bien no afectan su actividad. Freese y Mutaten¹⁰⁶ demostraron un incremento significativo de la actividad PAI-I con un suplemento de ALA o EPA + DHA. Sin embargo, Hansen y cols.¹¹² niegan la relación entre el consumo de PUFA n-3 y su concentración en suero con la actividad plasmática PAI-1. Sólo algunos trabajos estudian el efecto de otros ácidos grasos sobre este factor. Una dieta alta en oleico disminuye la actividad PAI-1 y de su antígeno en comparación con otra rica en carbohidratos¹⁰⁹, así como en comparación con las ricas en ácidos grasos saturados como el laurico y el mirístico¹⁰⁴. Sin embargo, en otro estudio el suplemento de la dieta con aceite de oliva no tuvo efecto¹¹³. Dietas ricas en aceite de maíz también provocan un descenso en la actividad PAI-1¹¹⁰. Pérez-Jiménez y cols.¹¹⁴ han confirmado un descenso de la actividad PAI-1 tras una dieta rica en MUFA en hombres sanos.

No se han encontrado efectos de los PUFA n-3 sobre la concentración de D-dímeros¹⁰⁸. En cambio, la sustitución de una dieta con relación PUFA:SFA de 0,36, por otra más rica en saturados (0,24) puede disminuir los niveles de D-dímeros¹¹⁵.

Referencias

1. Mattson FH y Grundy SM: Comparison of the effects of dietary saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *J Lipid Res*, 1985, 26:194-202.
2. González I, Escobar M y Olivera P: Plasma lipids of golden Syrian hamster fed dietary rose hip, sunflower, olive and coconut oils. *Rev Esp Fisiol*, 1997, 53:199-204.
3. Grundy SM: Comparison of monounsaturated fatty acids and carbohydrates for lowering cholesterol. *N Engl J Med*, 1986, 314:745-748.
4. Ravnskov U. The questionable role of saturated and polyunsaturated fatty acids in cardiovascular disease. *J Clin Epidemiol*, 1998, 51:443-460.
5. Ross R: The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, 1993, 362:801-809.
6. Sherherd J, Cobbe SM, Ford I y cols.: Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hipercholesterolemia. *N Engl J Med*, 1995, 333:1301-1307.
7. Breslow JL: Cardiovascular disease burden increase, NIM funding decreases. *Nat Med*, 1997, 3:600-601.
8. Stopeck A, Nicholson A y Hajjar D: Cytokine regulation of low density lipoprotein receptor gene transcription in Hep 62 cells. *J Biol Chem*, 1993, 268:17489-17494.
9. Scott-Burden T, Resink T, Hahn A, Baur U, Box R y Buhler F: Induction of growth-related metabolism in human vascular smooth muscle cells by low density lipoprotein. *J Biol Chem*, 1989, 264:12582-12589.
10. Chen J, Hoshi H, McClure D y McKechean W: Role of lipoproteins in growth of human adult arterial endothelial and smooth muscle cells in low lipoprotein-deficient serum. *J Cell Physiol*, 1986, 129:207-214.
11. Fox P, Chilsolm G y DiCorleto P: Lipoprotein-mediated inhibition of endothelial cell production of platelet-derived growth factor-like protein depends on free radical lipid peroxidation. *J Biol Chem*, 19987, 262:6046-6054.
12. Havel RJ: Postprandial hyperlipidemia and remnant lipoproteins. *Curr Opin Lipidol*, 1994, 5:102-109.
13. Zilversmit DB: Atherogenic nature of triglycerides, postprandial lipidemia, and triglyceride-rich remnant lipoproteins. *Clin Chem*, 1995; 41:153-158.
14. Mamo JCL y Wheeler JR: Chylomicrons or their remnants pe-

- netrate rabbit thoracic aorta as efficiently as do smaller macromolecules, including low-density lipoprotein, high density lipoprotein and albumin. *Coronary Artery Dis*, 1994, 5:695-705.
15. Mulder M, Lombardi P, Jansen H, Van Berckel T, Frants RR y Havekes LM: Low density lipoprotein receptor internalizes low density and very low density lipoproteins that are bound to heparan sulfate proteoglycans lipoprotein lipase. *J Biol Chem*, 1993, 268:9369-9375.
 16. Ramírez-Tortosa MC, Aguilera CM, Quiles JL y Gil A: Influence of dietary lipids on lipoprotein composition and LDL Cu²⁺-induced oxidation in rabbits with experimental atherosclerosis. *BioFactors*, 1998, 8:79-85.
 17. Thompson C, Rasmussen O, Lousen T, Holst JJ, Fenselau S, Schrezenmeir J y Hermansen K: Differential effects of saturated and monounsaturated fatty acids on postprandial lipemia and incretin responses in healthy subjects. *Am J Clin Nutr*, 1999, 69:1135-1143.
 18. Grundy SM: What is the diserable ratio of saturated, polyunsaturated, and monounsaturated fatty acids in the diet? *Am J Clin Nutr*, 1997, 66:988S-990S.
 19. Ruiz-Gutiérrez V, Morgado N, Prada JL, Pérez-Jiménez F y Muriana FJ: Composition of human VLDL triacylglycerols after ingestion of olive oil and high oleic sunflower oil. *J Nutr*, 1998, 128:570-576.
 20. Chang NW y Huang PC: Comparative effect of polyunsaturated- to saturated fatty acid ratio versus polyunsaturated and monounsaturated fatty acids to saturated fatty acid ratio on lipid metabolism in rats. *Atherosclerosis*, 1999, 142:185-191.
 21. Bruin TW, Brouwer CB, Van Linde-Sibenius M, Jansen H y Erkelens DW: Different postprandial metabolism of olive oil and soybean oil: a possible mechanism of the high density lipoprotein conserving effect of olive oil. *Am J Clin Nutr*, 1993, 58:477-483.
 22. Terpstra AH, van den Berg P, Jansen H, Beynen AC y van Tol A: Decreasing dietary fat saturation lowers HDL-cholesterol and increases hepatic HDL binding in hamster. *Br J Nutr*, 2000, 83:151-159.
 23. Ramírez-Tortosa MC, López-Pedrosa JM, Suárez A, Ros E, Mataix J y Gil A: Olive oil and fish oil enriched diets modify plasma lipids and susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification in free-living male patients with peripheral vascular disease: the Spanish Nutrition Study. *Br J Nutr*, 1999, 82:31-39.
 24. Ramírez-Tortosa MC, Suárez A, González MC, Mir A, Ros E, Mataix J y Gil A: Effect of extra virgin olive oil and fish-oil supplementation on plasma lipids and susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative alteration in free-living Spanish male patients with peripheral vascular disease. *Clin Nutr*, 1999, 18:167-174.
 25. Murthy S, Albright E, Mathur SN, Davidson NO y Field FJ: Apolipoprotein mRNA abundance is decreased by eicosapentaenoic acid in CaCo-2 cells. *Arterioscler Thromb*, 1992, 12:691.
 26. Allman-Farinelli MA, Hall D, Kingham K, Pang D, Petocz y Favarolo EJ: Comparison of the effects of two low fat diets with different alpha linoleic: linoleic acid ratios on coagulation and fibrinolysis. *Atherosclerosis*, 199, 142:159-158.
 27. Berliner JA y Heinecke JW: The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic Biol Med*, 1995, 20:707-727.
 28. Schwartz D, Andalibi A, Chaverri-Almada L, Berliner JA, Kirchgessner T, Fang ZT, Tekamp-Olson P, Lusis AJ, Gallegos C y Fogelman AM: Role of the GRO family of chemokines in monocyte adhesion to MM-LDL-stimulated endothelium. *J Clin Invest*, 1994, 94:1068-1073.
 29. Clinton SK, Underwood R, Hayes I, Sherman ML, Kufe DW y Libby P: Macrophage colony stimulating factor gene expression in vascular cells and in experimental and human atherosclerosis. *Am J Pathol*, 1992, 140:301-316.
 30. Schecter AD, Rollins BJ, Zhabg YJ, Charo IF, Fallon JT, Rosikhina M, Giesen PL, Nemerson Y y Taubman MB: Tissue factor is induced by monocyte chemoattract protein-1 in human aortic smooth muscle and THP-1 cells. *J Biol Chem*, 1997, 272:28568-28573.
 31. Staprans I, Pan XM, Rapp JH y Feingold KR: Oxidized cholesterol in the diet accelerates the development of aortic atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Arteriocler Thromb Vasc Biol*, 1998, 18:977-983.
 32. Johnson RRL, McGregor PR, Taylor RN y Poston RN: Increase in the adhesion molecule P-selectin in endothelium overlying atherosclerosis plaques-coexpression with intercellular adhesion molecule-1. *Am J Pathol*, 1994, 144:952-961.
 33. Gebuhrer V, Murphy JF, Bordet JC, Reck MP y McGregor JL: Oxidized low-density lipoprotein induces the expression of P-selectin (GMP140/PADGEM/CD62) on human endothelial cells. *Biochem J*, 1995, 306:293-298.
 34. Quinn MT, Parthasarathy S y Steinberg D: Lysophosphatidyl choline: A chemotactic factor for human monocytes and its potential role in atherogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85:2805-2809.
 35. Schmidt AM, Yan SD, Brett J, Mora R, Nowygorod R y Stern D: Regulation of mononuclear phagocyte migration by cell surface bonding proteins for advanced glycosylation end products. *J Clin Invest*, 1993, 92:2155-2168.
 36. Parthasarathy S, Khoo JC, Miller E, Barnett J, Witztum JL y Steinberg D: Low density lipoprotein rich in oleic acid is protected against oxidative modification: implication for dietary prevention of atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci*, 1990, 87:3894-3898.
 37. Aviram M y Elias K: Dietary olive oil reduces low density lipoprotein uptake by macrophages and decreases the susceptibility of the lipoprotein to undergo lipid peroxidation. *Ann Nutr Metab*, 1993, 37:75-84.
 38. Baroni SS, Amelio M, Sangiorfi Z, Gaddi A y Baffino M: Solid monounsaturated diet lowers LDL unsaturation trait and oxidisability in hypercholesterolemic (type II) patients. *Free Radic Res*, 1999, 30:275-285.
 39. Mortensen A, Fischer B, Fscher J, Frandsen H, Bartnikowska E y Bertelsen LS: Comparison of the effects of fish oil and olive oil on blood lipids and aortic atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidaemic rabbits. *Br J Nutr*, 1998, 80:565-573.
 40. Quiles JL, Ramírez-Tortosa MC, Huertas JR, Ibáñez S, Gómez JA, Battino M y Mataix J: Olive oil supplemented with vitamin E affects mitochondrial coenzyme Q levels in liver of rats after an oxidative stress induced by adriamycin. *Biofactores*, 1999, 9:331-336.
 41. Coni E, Di Benedetto R, Di Pasquale M, Masella R, Modesti D, Mattei R y Carlini EA: Protective effect of oleupeperine, an olive oil biophenol, on low density lipoprotein oxidizability in rabbits. *Lipids*, 2000, 35:45-54.
 42. Cybulsky MI, Lichtman AH, Hajra L y Linayana K: Leukocyte adhesion molecules in atherogenesis. *Clin Chim Acta*, 1999, 286:207-218.
 43. Khan BV, Parthasarathy S, Alexander RW y Medford RM: Modified LDL and its constituents augment cytokine-activated vascular cell adhesion molecule-1 gene expression in human vascular endothelial cells. *J Clin Invest*, 1995, 95:1262-1270.
 44. Calderón TM, Factor SM, Hatcher VB, Berliner JA y Berman JS: An endothelial cell adhesion protein for monocytes recognized by monoclonal antibody IG9. Expression in vivo in inflamed human vessels and atherosclerotic human and Watanabe rabbits. *Lab Invest*, 1994, 70:836-841.
 45. De Caterina R y Libby P: Control of endothelial-leukocyte adhesion molecules by n-3 fatty acids. *Lipids*, 1996, 31:557-563.
 46. Khalfoun B, Thibault F, Watier H, Bardos P y Lebranchu Y: Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids inhibit in vitro human endothelial cell production of interleukin-6. *Adv Exp Med Biol*, 1997, 400:589-597.
 47. Hughes DA y Pinder AC: n-3 polyunsaturated fatty acids inhibit the antigen-presenting function of human monocytes. *Am J Clin Nutr*, 2000, 71:357S-360S.
 48. Mata P, Alonso R, López-Farre A, Ordovas C, Lahoz C y Garcés C: Effect of dietary fat saturation on LDL oxidation and monocyte adhesion to human endothelial cells in vitro. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, 16:1347-1355.
 49. Johansen O, Seljeflot I, Hostmark AT y Arnesen H: The effect

- of supplementation with omega-3 fatty acids on soluble markers of endothelial function in patients with coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, 19:1681-1686.
50. Mazierec C, Conte MA, Degonville J, Ali D y Mazierec JC: Cellular enrichment with polyunsaturated fatty acids induces an oxidative stress and activates the transcription factor AP1 and Nf-kappa B. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 265:116-122.
 51. Nieto N, Fernández MI, Torres MI, Ríos A, Suárez MD y Gil A: Dietary monounsaturated n-3 and n-6 long-chain polyunsaturated fatty acids affect cellular antioxidant ulcerative colitis induced by trinitrobenzen sulfonic acid. *Digest Dis Sci*, 1998, 43:2676-2687.
 52. Yaqoob P: Lipids and immune response. *Curr Opin Clin Nutr Metab Car*, 1998, 1:153-161.
 53. White CR, Brock TA, Chang L-Y, Crapo J, Briscoe J y KU D: Superoxide and peroxynitrite in atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91:1044-1048.
 54. Cayette AJ, Placino JJ, Horten K y Cohen RA: Chronic inhibition of nitric oxide production accelerates neointima formation and impairs function in hypercholesterolemic rabbits. *Arterioscler Thromb*, 1994, 14:743-759.
 55. Cooke JP, Singer AH, Tsao P, Zera P, Rowan RA y Billingham ME: Antiatherogenic effects of L-arginine in the hypercholesterolemic rabbits. *J Clin Invest*, 1992; 90:1168-1172.
 56. Calo L, Sartore G, Bassi A, Basso C, Bertocce S, Marin R, Zambon S, Cantaro S, D'Angelo A, Davis PA, Manzato E y Crepaldi G: Reduced susceptibility to oxidation of LDL in patients with overproduction of nitric oxide (Bartter's and Gitelman's syndrome). *J Hypertens*, 1998, 16:1001-1008.
 57. Yaqoob P y Calder PC: Effects of dietary lipid manipulation upon inflammatory mediator production by murine macrophages. *Cell Immunol*, 1995, 163:20-128.
 58. Hubbard NE, Chapkin RS y Erickson KE: Effect of dietary linseed oil on tumoricidal activity and eicosanoid production in murine macrophages. *Lipids*, 1994, 29:651-655.
 59. Khair-EL-Din T, Sicher SC, Vázquez MA, Chung GW, Stalworth KA y Kitamura K: Transcription of the murine INOS gene is inhibited by docosahexaenoic acid, a major constituent of fetal and neonatal sera as well as fish oils. *J Exp Med*, 1996, 183:1241-1246.
 60. Sanderson P, Yaqoob P y Calder PC: Effects of dietary lipid manipulation upon rat spleen lymphocyte functions and the expression of the lymphocyte surface molecules. *J Nutr Env Med*, 1995, 5:119-132.
 61. Carluccio MA, Massaro M, Bonfrate C, Sicuella L, Maffia M, Nicorlardi G, Distance A, Storelli C y De-Caterina R: Oleic inhibits endothelial activation: a direct vascular antiatherogenic mechanism of a nutritional component in the mediterranean diet. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, 19:220-228.
 62. Haberland ME, Fless GM, Scanu AM y Fogelman AM: Malondialdehyde modification of lipoprotein (a) produces acid uptake of human monocyte macrophages. *J Biol Chem*, 1992, 267:4143-4151.
 63. Wang-Iverson P, Ginsberg NH, Peteanu LA, Le NA y Brown WV: Apo E-mediated uptake and degradation of normal very low density lipoproteins by human monocyte-macrophage: a saturable pathway distinct from the LDL receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 1985, 126:578-586.
 64. Mazzone TM, López C y Bergstraessa L: Modification of very low density lipoproteins leads to macrophage scavenger uptake and cholesteryl ester deposition. *Arteriosclerosis*, 1987, 7:191-196.
 65. Krieger M, Acton S, Ashkenas J, Pearson A, Penmen M y Resnick D: Molecular flypaper, host defence, and atherosclerosis. Structure, binding properties, and functions of macrophage scavenger receptor expression and function. *J Exp Med*, 1994, 180:705-709.
 66. Zhang HF, Yang YH y Steinbrecher UP: Structural requirements for the binding of modified proteins to the binding of modified proteins to the scavenger receptor of macrophages. *J Biol Chem*, 1993, 268:5535-5542.
 67. Sambrano GR, Parthasarathy S y Steinberg D: Recognition of oxidatively damaged erythrocytes by a macrophage receptor with specificity for oxidized LDL. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91:3265-3269.
 68. Pittman RC, Knecht TP, Rosenbaum MS y Taylor CA: A nonendocytic mechanism for the selective uptake of high density lipoprotein-associated cholesterol esters. *J Biol Chem*, 1987, 262:2443-2450.
 69. Jessup W, Mander EL y Dean RT: The intracellular storage and turnover of apolipoprotein B of oxidized LDL in macrophages. *Biochim Biophys Acta*, 1992, 1126:167-177.
 70. Wuttge DM, Bruzelius M y Stemme S: T-cell recognition of lipid peroxidation products breaks tolerance to self proteins. *Immunology*, 1999; 98:273-279.
 71. Thomas CE, Jackson RL, Ohlweiler DF y Ku G: Multiple lipid oxidation products on low density lipoproteins induce interleukin-1 beta release from human blood mononuclear cells. *J Lipid Res*, 1994, 35:417-427.
 72. Tipping PG, Davenport P, Gallicchio M, Filonzi EL, Apostopoulos J y Wojta J: Atheromatous plaque macrophages produce PAI-1 and stimulate its production by endothelial cells and smooth muscle cells. *Am J Pathol*, 1993, 92:471-478.
 73. Galis ZS, Muzynski M, Sukhova GK, Simon-Morrissey F, Unemori EN, Lark MW, Amenito E y Libby P: Cytokine-stimulated human vascular smooth muscle cells synthesize a complement of enzyme required for extracellular matrix digestion. *Circ Res*, 1994a; 75:181-189.
 74. Aikawa M, Rabkin E, Okada Y, Voglic SJ, Clinton SK, Brinckerhoff CE, Sukhova GK y Libby P: Lipid lowering by diet reduces matrix metalloproteinase activity and increases collagen of rabbit atheroma: a potential mechanism of lesion stabilization. *Circulation*, 1998, 97:2433-2444.
 75. Robinson DR, Urakazr M, Huang R, Taki H, Sugiyama E y Knoell CT: Dietary marine lipids suppress continuous expression of interleukin-1 β gene transcription. *Lipids*, 1996, 31:S23-S31.
 76. Fernandes G, Chandrasekar B, Luan X y Troyer DA: Modulation of antioxidant enzymes and programmed cell death by n-3 fatty acids. *Lipids*, 1996, 31:S91-S96.
 77. Borofsky MA, Zurier RB, Rosenbaum H, Weiner DB y Williams WV: Effects of polyunsaturated fatty acids on interleukin-2-dependent T cell growth. *Immunol Res*, 1992, 11:154-164.
 78. Sadeghi S, Wallace FA y Calder PC: Dietary lipids modify the cytokine response to bacterial lipopolysaccharide in mice. *Immunology*, 1999, 96:404-410.
 79. Granato D, Blum S, Rossle C, Le Boucher J, Malnoe A y Dutot G: Effects of parenteral lipid emulsions with different fatty acid composition on immune cell functions in vitro. *J Parenter Enteral Nutr*, 2000, 24:113-118.
 80. Baumann KH, Hessel F, Larass I, Muller T, Angerer P, Kiefl R y von Schacky C: Dietary omega 3, omega 6 and omega 9, unsaturated fatty acids and growth factor and cytokine gene expression in unstimulated and stimulated monocytes. A randomized volunteer study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, 19:59-66.
 81. Hughes H, Matthews B, Lenz ML y Guyton JR: Cytotoxicity of oxidized LDL to porcine aortic smooth muscle cells is associated with the oxysterols 7-ketocholesterol and 7-hydroxycholesterol. *Arterioscler Thromb*, 1994, 14:1177-1184.
 82. Negre-Salvayre A, Fitoussi G, Reaud V, Pieraggi M, Thiers J y Salvayre R: A delayed and sustained rise of cytosolic calcium is elicited by oxidized LDL in cultured bovine aortic endothelial cells. *FEBS*, 1993, 299:60-65.
 83. Demer LL, Watson KE y Bostrom K: Mechanisms of calcification in atherosclerosis. *Trends Cardiovasc Med*, 1994, 4:45-49.
 84. Kwon HM, Le BK, Kim D, Hong BK, Byun KH, Kna JS, Kim IJ, Oh SH y Kim HS: Experimental hypercholesterolemia induces ultrastructural changes in the elastic lamina of rabbit aortic valve. *Yonsei Med J*, 1998, 39:345-354.
 85. Hong MK, Vossoughi J, Mintz GS, Kauffman RD, Hoyt RF, Cornhill JF, Herderick EE, Leon MB y Hoeg JM: Altered compliance and residual strain precede angiographically detectable early atherosclerosis in low density lipoprotein recep-

- tor deficiency. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, 17:2209-2217.
86. Schwenke DC: Comparison of aorta and pulmonary artery: II. LDL transport and metabolism correlate with susceptibility to atherosclerosis. *Circ Res*, 1997, 81:346-354.
 87. Fuster V, Badimon JJ y Chesebro JH: The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *N Engl J Med*, 1992, 326:242-250.
 88. Davies MJ: The composition of coronary artery plaques. *N Engl J Med*, 1997, 336:1312-1314.
 89. Ghaddar HM, Cortés J, Saloman V, Kark JD y Davis CE: Folsom specific platelet activation markers with carotid arterial wall thickness. *Thromb Haemost*, 1995, 74:948-984.
 90. Bath PMW y Butterworth RJ: Platelet size: measurement, physiology and vascular disease. *Blood Coag Fibrin*, 1996, 7:157-161.
 91. Brown AS y Martin JF: The megakaryocyte platelet system and vascular disease. *Eur J Clin Invest*, 1994, 24:9-15.
 92. Roth JJ, Gahtan V, Brown JL, Gerhard C, Swami VK, Rothman VL, Tulenko VL y Tuszynski GP: Thrombospondin-1 is elevated with both intimal hyperplasia and hypercholesterolemia. *J Surg Res*, 1998, 74:11-16.
 93. Wilcox JN, Smith KM, Schwartz SM y Gordon D: Localization of tissue factor in the normal vessel and in the atherosclerotic plaque. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86:2839-2843.
 94. Aviram M: Modified forms of low density lipoprotein affect platelet aggregation in vitro. *Thromb Res*, 1989, 53:561-567.
 95. Yamada Y y Yokota M: Roles of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase in allergic, inflammatory, and atherosclerotic diseases. *Jpn Circ J*, 1998, 62:328-335.
 96. Morrow JD, Minton TA y Roberts LJ: The F2-isoprostane, 8-epi prostaglandin F2 alpha, a potent agonist of the vascular thromboxane/endoperoxide receptor, is a platelet thromboxane/endoperoxide receptor antagonist. *Prostaglandins*, 1992, 44:155-163.
 97. Ridker PM y Vauhghen DE: Comment on NEJM. Haemostatic factor and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med*, 1995, 333:389-395.
 98. Colli S, Lalli M, Rise P, Mussoni L, Eligini S, Galli C y Tremoli: Increased thrombogenic potential of human monocyte-derived macrophages spontaneously transformed into foam cells. *Thromb Haemost*, 1999, 81:576-581.
 99. Thompson SG, Kienast J, Pyke SDM, Haverkate F y van de Loo JC: Hemostatic factors and risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. *N Engl J Med*, 1995, 332:635-641.
 100. Sharar E, Folsom AR, Wu KK, Dennis BH, Shimakawa T, Conlan MG, Davis CE y Williams OD: Association of fish intake and dietary n-3 polyunsaturated fatty acids with a hypocoagulable profile. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler Thromb*, 1993, 13:1205-1212.
 101. Hornstra G: The effect of the n-3 fatty acids on blood coagulation. En: Fish oil and vascular disease. DeCatarina R, Krintensen SD, Schmidt EB (eds.). Springer-Verlag, Berlin, 1992: 65-72.
 102. Imano H, Kudo M, Ohira T, Sankai T, Tanigawa T, Iso H, Shimamoto T, Umemura U, Koike K, Sato S e Iida M.: The effects of fish supplementation of platelet function, count and metabolism in healthy Japanese. *Nippon Eiseigaku Zasshi*, 1999, 53:601-610.
 103. Oakley FR, Sanders TA y Miller GJ: Postprandial effects of an oleic acid-rich oil compared with butter on clotting factor VII and fibrinolysis in healthy men. *Am J Clin Nutr*, 1998, 68:1202-1207.
 104. Temme EH, Mensink RP y Hornstra G: Effects of diets enriched in lauric, palmitic or oleic acids on blood coagulation and fibrinolysis. *Thromb Haemost*, 1999, 81:259-263.
 105. Turpein AM y Mutanen M: Similar effects of diets high in oleic or linoleic acids on coagulation and fibrinolytic factors in healthy humans. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 1999, 9:65-72.
 106. Freese R y Mutanen M: Alpha-linoleic acid and marine n-3 fatty acids slightly differ in their effects on hemostatic factors in healthy subjects. *Am J Clin Nutr*, 1997, 66:591-598.
 107. Hansen JB, Huseby NE, Sandset PM, Svensson B, Lyngmo V y Nordoy A: Tissue-factor pathway inhibitor and lipoproteins. Evidence for association with and regulation by LDL in human plasma. *Arterioscler Thromb*, 1994, 14:223-229.
 108. Eritsland J, Seljeflot I, Abdelnoor M y Arnesen H: Long-term influence of omega-3 fatty acids on fibrinolysis, fibrinogen, and serum lipids. *Fibrinolysis*, 1994, 8:120-125.
 109. López-Segura F, Velasco F, López-Miranda J, Castro P, López-Pedraza R, Blanco A, Jiménez-Perepérez J, Torres A, Trujillo J, Ordoñas JM y Pérez Jiménez F: Monounsaturated fatty acid-enriched diet decreases plasma plasminogen activator inhibitor type 1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, 16:82-88.
 110. Hellsten G, Boman K, Saarem K, Hallmans G y Nilson T: Effects on fibrinolytic activity of corn oil and a fish oil preparation enriched with omega-3 polyunsaturated fatty acids in a long-term study. *Curr Med Res Opin*, 1993, 13:133-139.
 111. Dunstan DW, Mori TA, Puddey IB, Beilin LJ, Burke V, Morton AR y Stanton KG: A randomised, controlled study of the effects of aerobic exercise and dietary fish on coagulation and fibrinolytic factors in type 2 diabetics. *Thromb Haemost*, 1999, 81:367-372.
 112. Hansen J, Grimsgaard S, Nordoy A y Bonna KH: Dietary supplementation with highly purified eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid does not influence PAI-1 activity. *Thromb Res*, 2000, 98:123-132.
 113. Oosthuizen W, Vorster HH, Jerling JC, Barnard HC, Smuts CM, Silvis N, Kruger A y Venter CS: Both fish oil and olive oil lowered plasma fibrinogen in women with high baseline fibrinogen levels. *Thromb Haemost*, 1994, 72:557-562.
 114. Pérez-Jiménez F, Castro P, López-Miranda J, Paz-Rojas E, Blanco A, López-Segura F, Velasco F, Marín C, Fuentes F y Ordoñas JM. *Atherosclerosis*, 1999, 145:351-358.
 115. Mutanen M y Aro A: Coagulation and fibrinolysis factors in healthy subjects consuming high stearic or *trans* fatty acids. *Thromb Haemost*, 1997, 77:99-104.