

Bases moleculares de las propiedades antiaterogénicas de las lipoproteínas de alta densidad

Carlos Calvo

Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis. Facultad de Farmacia. Universidad de Concepción. Concepción. Chile.

Numerosos estudios prospectivos han mostrado una correlación inversa entre los valores séricos de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL) y el desarrollo de enfermedad coronaria.

Varias propiedades de las HDL tienen el potencial de proteger contra el desarrollo de aterosclerosis. La propiedad mejor documentada es su habilidad de promover el eflujo de colesterol desde macrófagos en la pared arterial. Sin embargo, las HDL presentan un sinnúmero de propiedades antiaterogénicas adicionales, que pueden no estar relacionadas con su papel de transportador de lípidos en el plasma. Por ejemplo, las HDL modulan la función endotelial, probablemente estimulando la producción de óxido nítrico. Las HDL tienen actividad antioxidante, antiinflamatoria y antitrombótica. Estas actividades las ejercen especialmente apolipoproteínas, enzimas y fosfolípidos asociados a la HDL.

Es todavía incierto el grado, al cual algunas o todas estas funciones no relacionadas con el transporte de lípidos asociado a HDL, contribuye a proteger contra la aterosclerosis, aunque hay evidencias crecientes que al menos alguna de ellas puede ser de gran importancia.

Palabras clave:

Lipoproteína de alta densidad. Aterosclerosis. Propiedades antiaterogénicas.

Correspondencia: Dr. C. Calvo.
Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis.
Facultad de Farmacia. Universidad de Concepción.
Diagonal P. Aguirre Cerva. 1068 Concepción. Chile.
Correo electrónico: ccalvo@udec.cl

Recibido el 27-12-2007 y aceptado el 6-2-2008.

MOLECULAR BASIS OF THE ANTI-ATHEROGENIC PROPERTIES OF HDL

An inverse correlation between serum levels of high-density lipoproteins (HDLs) cholesterol and the development of coronary heart disease has been observed in many prospective studies.

There are several properties of HDLs that have the potential to protect against the development of atherosclerosis. The best documented is the ability of HDL to promote the efflux of cholesterol from macrophages in the arterial wall. However, HDLs have a number of additional potentially anti-atherogenic properties that may be unrelated to their role in plasma lipid transport. For example, HDLs modulate endothelial function, probably by stimulating endothelial NO production. HDLs also possess anti-oxidative, anti-inflammatory and anti-thrombotic activities. These activities are exerted by different components of HDL, namely apolipoproteins, enzymes and even specific phospholipids.

The degree to which any or all of these non-lipid transport functions of HDL contribute to protection against atherosclerosis is still uncertain, although evidence is mounting that at least some of them may be of substantial importance.

Keys words:

High-density lipoprotein. Atherosclerosis. Anti-atherogenic properties.

Introducción

Hoy día es ampliamente reconocido que el riesgo de aterosclerosis está inversamente relacionado con los valores circulantes de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL)^{1,2}. Además, el

estudio epidemiológico de Frammingham estableció que esta asociación es independiente de los valores de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL)^{3,4}. Por otra parte, estudios clínicos, como el Veterans Administration HDL Intervention Trial (VA-HIT)⁵ y el Helsinki Heart Study⁶, han demostrado en pacientes tratados con fibratos una incidencia baja de episodios coronarios asociada con un aumento en los valores plasmáticos de HDL, aportando así la mejor evidencia del beneficio clínico de la elevación de los valores de HDL de forma farmacológica. En congruencia con los estudios realizados en humanos, hay además numerosos estudios intervencionales en animales que muestran que un aumento en las concentraciones de HDL inhibe el desarrollo de aterosclerosis.

El papel antiaterogénico de la HDL se ha atribuido a menudo a su capacidad de mediar el transporte reverso de colesterol, proceso por el cual el exceso de colesterol es removido desde los tejidos periféricos y entregado al hígado para su excreción biliar⁷. Sin embargo, las bases de la ateroprotección relacionada con HDL permanecen complejas y aún no del todo claras.

Además del transporte reverso de colesterol, han surgido otros mecanismos potenciales para explicar las propiedades antiaterogénicas de la HDL. Éstos incluyen la modulación de la función endotelial, las acciones antitrombóticas, antioxidantes y antiinflamatorias. El grado al cual estas propiedades de la HDL, no relacionadas con su papel en el transporte de lípidos, contribuyen a la protección contra la aterosclerosis es todavía incierto, aunque hay evidencias crecientes que indican que al menos alguna de ellas puede ser de gran importancia.

Transporte reverso de colesterol

La importancia fisiológica del transporte reverso de colesterol radica en que, como las células periféricas son incapaces de catabolizar el colesterol, ellas requieren eliminarlo para mantener la homeostasis lipídica, a excepción del tejido esteroideogénico, que lo convierte en hormonas esteroidales. Esto es particularmente relevante en el caso de los macrófagos, en que la acumulación de colesterol no está controlada por mecanismos de regulación asociados al receptor de la LDL.

Una vía clave es el flujo de colesterol hacia aceptores extracelulares y su movilización al hígado para excretarlo.

Como el proceso fisiológico del transporte reverso de colesterol se lleva a cabo a partir de todos los tejidos periféricos, éste ha sido a menudo medido y discutido como un proceso periférico general. Sin

embargo, en las lesiones ateroscleróticas, el macrófago es la principal célula que se carga de colesterol y, por tanto, al hacer referencia a la aterosclerosis, es más lógico conceptualizar y medir el transporte reverso de colesterol como un fenómeno específico del macrófago; por lo que se recomienda usar más específicamente el término transporte reverso de colesterol desde macrófagos⁸.

No todo el flujo de colesterol desde tejidos, como hígado o intestino, forma parte del modelo clásico de transporte reverso de colesterol o es directamente relevante a la aterosclerosis. Sólo el flujo de colesterol desde macrófagos de la pared arterial, que tienen la capacidad de transformarse en células de espumas por captación excesiva de LDL modificada, es el más directamente relevante a la aterosclerosis.

El colesterol libre captado por el macrófago es tóxico para la célula. La primera línea de defensa contra la toxicidad en macrófagos es la esterificación del colesterol libre a ésteres de colesterol por la enzima acil-coenzima A: colesterol aciltransferasa-1 (ACAT1)⁹. El colesterol éster se almacena como gotas de lípidos dentro del citoplasma y esta acumulación de ésteres de colesterol lleva a la formación de la célula de espuma. La regresión de la aterosclerosis podría estar acompañada por una pérdida de la masa de ésteres de colesterol desde la célula de espuma, la cual requeriría previamente la hidrólisis de los ésteres de colesterol a colesterol libre.

Una segunda línea de defensa contra la toxicidad del colesterol en el macrófago la constituye el flujo de colesterol. Se han llevado a cabo numerosos trabajos que tienden a conocer las características moleculares y la regulación del flujo de colesterol desde macrófagos.

En este proceso están involucrados 2 transportadores principales: *a*) ABCA1, el cual promueve el flujo de colesterol libre y fosfolípidos hacia aceptores extracelulares, como apolipoproteínas A-I (apoA-I) libre de lípidos y pre β HDL, y *b*) ABCG1, el cual promueve el flujo de colesterol a partículas de HDL maduras.

El transportador ABCA1 se ha identificado como la molécula defectuosa en la enfermedad de Tangier¹⁰⁻¹². Pacientes con enfermedad de Tangier casi no tienen HDL en plasma, debido a su rápido catabolismo; acumulan células de espumas y presentan una aterosclerosis acelerada.

El transportador ABCA1 parece que actúa como una translocasa de lípidos, con el aumento de la disponibilidad de fosfolípidos y colesterol en la superficie celular. La apoA-I pobre en lípidos interac-

tuaría directamente con ABCA1 posiblemente por unión a los 2 grandes dominios extracelulares del transportador. Esta unión parece constituir una etapa esencial en el eflujo de colesterol y fosfolípidos hacia la apoA-I.

Han surgido diferentes modelos para explicar la forma que este transportador media el eflujo de colesterol. Un primer modelo plantea que ABCA1 promueve el eflujo de fosfolípidos y colesterol libre desde un dominio de la membrana en una sola etapa. Otro modelo plantea que ABCA1, localizado en unas vesículas de transporte denominadas *rafts*, promueve el eflujo de fosfolípidos y colesterol hacia apoA-I. Y un tercer modelo plantea que ABCA1 promueve primero el eflujo de fosfolípidos hacia apoA-I para formar complejos intermediarios, los cuales remueven el colesterol libre desde los *rafts*¹³.

La interacción de apoA-I con ABCA1 promueve no sólo el eflujo de colesterol y fosfolípidos desde la célula, sino también la activación de varias proteínas involucradas en señales intracelulares, como las proteínas G, Cdc42 y Rac1; proteínas cinasas PKA, JAK-2 y p54^{NK}, y proteínas α y β 1-sintrofina. Las señales intracelulares generadas por la interacción apoA-I/ABCA1 facilitan el transporte de colesterol intracelular y/o transmembrana y, de este modo, la lipidación de la apoA-I. Además de la remoción de lípidos, la señalización desde fuera hacia dentro, inducida por apoA-I, probablemente cumple otras funciones antiaterogénicas, como la inhibición de la apoptosis o la inflamación¹².

Aunque en los macrófagos ABCA1 tiene una función antiaterogénica, no contribuye significativamente al mantenimiento de los valores de HDL en el plasma. Se ha observado en ratones que una deficiencia de ABCA1, específica de macrófagos, tiene un efecto mínimo en la reducción de los valores de colesterol unido a HDL (cHDL). Sin embargo, esto se expresa en un aumento significativo de aterosclerosis. Así, su actividad sería esencial para iniciar la formación de HDL, pero no explicaría fácilmente la relación inversa observada entre los valores de HDL y el riesgo de aterosclerosis¹⁴⁻¹⁶.

Actualmente, se sabe que otro transportador de la familia ABC, denominado ABCG1, promueve el eflujo de colesterol desde los macrófagos hacia las principales formas de HDL circulante en el plasma^{17,18}, lo que conduce a un enriquecimiento sucesivo de la HDL en colesterol antes de retornar a la circulación.

Ratones ABCG1^{-/-} mostraron acumulación de lípidos en macrófagos, exhibiendo a su vez un eflujo alterado de colesterol hacia HDL maduras¹⁹.

La perfusión de complejos de apoA-I recombinante con fosfolípidos ha demostrado aumentar los valores de HDL, probablemente actuando como aceptores en el eflujo de colesterol mediado por ABCG1²⁰.

Además del eflujo mediado por ABCA1 y ABCG1, el colesterol puede excretarse desde el macrófago por un proceso mediado por un receptor *scavenger* de clase B tipo 1 (SR-B1)^{21,22}. Sin embargo, el eflujo de colesterol facilitado por SR-B1 pareciera no desempeñar un papel más importante en el macrófago^{8,23,24}.

El colesterol que adquiere la HDL naciente y la apoA-I desde la célula se encuentra en la forma no esterificada o libre, y, una vez asociado a estas partículas, éste puede esterificarse por la acción de la enzima lecitina: colesterol aciltransferasa (LCAT) transportada por la HDL²⁵.

Debido a que el colesterol esterificado es más hidrofóbico que el colesterol libre, debe desplazarse hacia el centro de la partícula lipoproteica y conducir a la formación de las HDL maduras.

En el modelo clásico de transporte reverso de colesterol, el cHDL es finalmente transportado y captado por el hígado en un proceso mediado por el receptor SR-B1²⁶. Diversos estudios han planteado que SR-B1 media la captación selectiva del colesterol esterificado de la HDL, aunque también se sabe que SR-B1 es capaz de mediar selectivamente la captación del colesterol libre de la partícula²⁷. La sobreexpresión hepática de SR-B1 reduce los valores plasmáticos de cHDL, debido a una captación mayor de la lipoproteína por el hígado²⁸; en cambio, ratones *knockout* al SR-B1 exhiben valores aumentados de cHDL en plasma, atribuible a una captación hepática reducida²⁹.

Más recientemente se ha informado que la sobreexpresión hepática de SR-B1 en ratones es un regulador positivo del transporte reverso de colesterol en macrófagos³⁰.

El colesterol esterificado de HDL puede también transferirse a lipoproteínas que contienen apoB (LDL, lipoproteínas de densidad intermedia, lipoproteínas de muy baja densidad) por la proteína de transferencia de colesterol esterificado (CETP)³¹.

El impacto de la CETP en el metabolismo de la HDL se demostró con el descubrimiento de pacientes con deficiencia genética de CETP, los cuales exhibían valores extremadamente elevados de cHDL³², evidencia que generó la posibilidad que la inhibición de CETP pueda ser una nueva estrategia dirigida a elevar los valores de cHDL en el plasma³³⁻³⁵.

Acciones endoteliales de la lipoproteína de alta densidad

El endotelio secreta un número importante de factores que regulan la vasoconstricción y vasodilatación, modulan la activación plaquetaria, la coagulación y la fibrinólisis y afectan a la proliferación y la diferenciación de las células musculares lisas. Uno de los compuestos más importantes sintetizados por las células endoteliales en respuesta a ciertos estímulos fisiológicos lo constituye el óxido nítrico (NO). A través de la acción del NO, el endotelio induce relajación de los vasos sanguíneos, atenua la adhesión y la agregación de trombocitos y disminuye la adhesión y la migración de leucocitos a la pared del vaso.

Perturbaciones de la función endotelial pueden promover la coagulación intravascular, la disminución de la fibrinólisis, el aumento de la infiltración de macrófagos en la pared del vaso y la interferencia de la vasorrelajación.

Entre las acciones endoteliales causantes de la ateroprotección de la HDL, deben considerarse su capacidad de modificar la expresión y la actividad de la sintasa de NO endotelial (eNOS), proteger a la célula endotelial de la apoptosis y promover su proliferación y migración.

Durante las primeras etapas de la enfermedad vascular aterosclerótica inducida por hipercolesterolemia, se produce una disminución considerable en la biodisponibilidad de NO derivado del endotelio, el cual es un potente vasodilatador con múltiples efectos adicionales en el endotelio.

La eNOS produce el NO durante la conversión de L-arginina a L-citrulina, y su deficiencia está estrechamente involucrada en la patogenia de la enfermedad vascular inducida por hipercolesterolemia. En el cultivo de células endoteliales, se ha observado que la eNOS se encuentra asociada principalmente a unos microdominios especializados de la membrana plasmática, enriquecidos en colesterol, llamados caveolas³⁶. La LDL oxidada (LDLox) causa depleción del colesterol de las caveolas e induce un desplazamiento de la eNOS desde estos microdominios; proceso que puede desempeñar un papel fundamental en las primeras etapas de la enfermedad vascular inducida por hipercolesterolemia.

La HDL promueve la producción de NO con la regulación de la localización subcelular de la eNOS³⁷. La adición de HDL a células endoteliales en cultivo que contienen LDLox previene el desplazamiento de la eNOS de las caveolas, lo que ayuda a restaurar la actividad de la enzima³⁸. Además, la disminución del contenido de colesterol de las ca-

veolas inducido por LDLox se previene por cotratamiento con HDL.

La habilidad de la HDL por mantener la concentración de colesterol asociado a la caveola no está relacionada con la inhibición de la remoción del colesterol de las caveolas por la LDLox, sino más bien a la provisión de ésteres de colesterol por la HDL. En este proceso, el receptor SR-B1, altamente expresado en las caveolas de las células endoteliales, media la capacidad de la HDL de revertir el impacto de la LDLox en la localización y la función de la eNOS³⁹. Así, en presencia de LDLox, una de las acciones de la HDL es preservar el ambiente lipídico dentro de la caveola, y garantizar la localización subcelular normal y la función de la eNOS.

Además de la capacidad de preservar la localización de la eNOS cuando el ambiente lipídico dentro de las caveolas es perturbado, en cultivos de endotelio se ha demostrado que la HDL es un potente agonista de la eNOS.

La unión de la HDL al receptor SR-B1 induce una serie de señales de transducción a nivel de la membrana plasmática de la célula endotelial, las cuales estimulan la actividad de la eNOS^{40,41}, por lo que la apoA-I de la HDL es necesaria, pero no suficiente, para esta activación.

Además de la regulación de la producción de NO por episodios de señalización que modulan la actividad enzimática de la eNOS, también se ha informado sobre cambios en la cantidad de enzima. En el cultivo de células endoteliales humanas, la expresión de la proteína eNOS aumenta 3 veces por exposición a HDL, aumento que no se asocia con una elevación de los valores de ácido ribonucleico (ARN) mensajero, sino más bien a un aumento en la vida media de la eNOS⁴².

También se ha investigado el impacto de HDL en la función endotelial en humanos, y se ha observado que los valores elevados de HDL mejoran la vasoconstricción en etapas tempranas de la aterosclerosis⁴³, lo que lleva a plantear un mecanismo para los efectos beneficiosos de HDL que implica aumento de la vasorrelajación, como de la expresión de la eNOS endotelial^{44,46}.

Diversas evidencias han demostrado que la apoptosis de la célula endotelial contribuye a la patogenia de la aterosclerosis. Múltiples factores proaterogénicos promueven la apoptosis en el endotelio, entre los que se incluyen la LDLox⁴⁷, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)⁴⁸ y la homocisteína⁴⁹.

La LDLox promueve un aumento sustancial del calcio intracelular en las células endoteliales, lo cual conduce a muerte celular, efecto que la HDL revierte⁵⁰.

Entre las acciones antiapoptóticas de la HDL, se consideran: *a)* impedir el aumento del calcio intracelular inducido por agentes proapoptóticos, como la LDLox; *b)* activar la caspasa 3, y *c)* antagonizar una variedad de otros mecanismos proapoptóticos⁵¹.

La apoptosis de la célula endotelial inducida por el TNF- α se inhibe también mediante la HDL, a través de un mecanismo asociado a una atenuada inducción de la caspasa 3, lo cual se ha descrito como un componente de toda vía apoptótica⁵².

Los procesos de proliferación y migración de la célula endotelial son cruciales para la neovascularización y el logro de una respuesta exitosa al daño vascular. Las alteraciones de la integridad del endotelio exponen la pared arterial a un alto riesgo de enfermedad vascular. La HDL estimula la migración y la proliferación de la célula endotelial de una manera dependiente del calcio, mediada por múltiples cascadas de cinasas⁵³.

Aunque no se han dilucidado claramente ciertos aspectos de los episodios de señalización causados por la HDL, es probable que la HDL estimule la migración de la célula endotelial mediante la señalización desencadenada por SR-B1, y que estos mecanismos promuevan la integridad del endotelio in vivo⁵⁴.

Acciones antitrombóticas de la lipoproteína de alta densidad

La HDL presenta múltiples acciones antitrombóticas, como la promoción del flujo sanguíneo y la disminución de la generación de trombina y de la activación endotelial y plaquetaria⁵⁵⁻⁵⁷. La HDL aumenta el flujo sanguíneo e incrementa la producción de NO y prostaciclina. La disminución de la activación endotelial por HDL ocurre a través de la inhibición de la apoptosis de la célula endotelial, la inhibición de la expresión del factor tisular, las moléculas de adhesión E-selectina y P-selectina, y el aumento en la producción de NO.

La disminución de la generación de trombina asociada a HDL es mediada por un aumento en la actividad de la proteína C activada, elemento crucial que regula la coagulación sanguínea mediante la inactivación proteolítica de los factores de la coagulación Va y VIIIa. El antagonismo de la activación plaquetaria mediado por HDL supone la inhibición de la síntesis del factor activador de plaquetas (PAF) y del tromboxano A₂ y la activación de la síntesis de NO y prostaciclina.

La HDL aumenta la síntesis de prostaciclina. La prostaciclina actúa de modo sinérgico con el NO, con el objeto de inducir la relajación de la muscu-

latura lisa vascular, inhibir la activación plaquetaria y disminuir la liberación de factores de crecimiento que estimulan la proliferación local de las células musculares lisas⁵⁸. La prostaciclina se sintetiza a partir de araquidonato derivado de los fosfolípidos de la membrana celular y de los fosfolípidos y ésteres de colesterol de las lipoproteínas circulantes. La enzima limitante en la síntesis de prostaciclina es la ciclooxigenasa (Cox), de la que hay 2 isoformas (Cox-1 y Cox-2), las cuales promueven la síntesis de la prostaciclina en la célula endotelial⁵⁹. Células endoteliales incubadas con HDL muestran un aumento en la producción de prostaciclina. El impacto de la HDL en la producción de prostaciclina en el endotelio ocurre mediante la provisión de araquidonato y de la *up-regulation* de la expresión de la Cox-2^{60,61}.

La generación de trombina mediante la cascada de coagulación sanguínea induce la activación de plaquetas y la liberación de factores de crecimiento derivado de plaquetas, y causa directamente la formación del coágulo de fibrina por escisión del fibrinógeno. Se ha informado acerca de una correlación positiva entre los valores plasmáticos de apoA-I, componente proteico principal de la HDL, y la respuesta anticoagulante a la proteína C activada⁶², y una correlación inversa entre HDL y marcadores de activación de trombina plasmática, resultados que indican que la HDL modificaría la generación de trombina⁶³. Además, en estudios de perfusión de HDL en conejos sometidos a dietas ricas en colesterol, se observa que la HDL induce en la célula endotelial la expresión de la trombomodulina, la cual se describe como un factor anticoagulante adicional que suprime la generación de trombina⁶⁴.

El endotelio libera el activador tisular del plasminógeno (tPA) y el inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1), los cuales juntos controlan la actividad de la plasmina, una enzima que escinde la fibrina del trombo. En células endoteliales en cultivo, la LDL disminuye la generación de t-PA y aumenta la generación de PAI-1. La HDL revierte este efecto mediante la inhibición de la síntesis del PAI-1 y la inducción de la síntesis del t-PA⁶⁵.

Se ha informado que la agregación plaquetaria se correlaciona inversamente con los valores de HDL⁶⁶. La administración a humanos de HDL reconstituida, o la perfusión de apoA-I Milano en ratas, inhibe la activación plaquetaria in vivo⁶⁷. Aunque la HDL puede reducir directamente la activación de las plaquetas, indirectamente puede actuar en la activación plaquetaria mediante efectos en las células endoteliales. Por ejemplo, la HDL

puede regular la función plaquetaria con la inhibición de la liberación del PAF, o con la *up-regulation* de la síntesis y la liberación de NO de las células endoteliales⁶⁵. La HDL también inhibe la síntesis del tromboxano A₂ y éste se encarga de la *up-regulation* de la producción de prostaciclina⁶⁷, la cual puede disminuir la agregación plaquetaria.

Propiedades antioxidantes de la lipoproteína de alta densidad

La aterosclerosis es un proceso inflamatorio crónico iniciado por una acumulación, y subsecuente oxidación, de LDL en la íntima arterial⁶⁸.

La disfunción y la activación de las células endoteliales, como resultado de un intento de adaptación a estímulos anormales⁶⁹, conduce a un incremento en la expresión de moléculas de adhesión (E y P-selectinas), que hace que los monocitos se deslicen rodando lentamente por la superficie del endotelio. Esto facilita la interacción de los monocitos con las moléculas de adhesión intracelular 1 (ICAM-1) y las moléculas de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1) que median la adhesión firme⁷⁰.

La LDLox estimula a las células endoteliales a expresar la proteína quimiotáctica a monocitos 1 (MPC-1), que atrae monocitos al espacio subendotelial.

Los monocitos que se han seleccionado se diferencian a macrófagos bajo la influencia del factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF). La diferenciación del monocito a macrófago se caracteriza por el aumento en la expresión de receptores *scavenger* (SR-A, CD36, LOX-1), no sometidos a regulación por las concentraciones intracelulares de colesterol, y que median la captación de LDLox, y así contribuyen de forma importante a la acumulación de colesterol en macrófagos, a los que convierten en células de espuma⁷¹⁻⁷³. Los macrófagos también expresan citocinas, alguna de las cuales estimula a las células endoteliales a expresar moléculas de adhesión, lo que lleva a la unión de más monocitos circulantes al endotelio, antes de su selección en la pared arterial por la MPC-1⁶⁹.

Las HDL protegen a la LDL de la peroxidación lipídica, y actúan como un reservorio de los peróxidos lipídicos generados en la LDL.

Se ha demostrado que la apoA-I es capaz de remover hidroperóxidos lipídicos de LDL, *in vitro* e *in vivo*, después de la perfusión en humanos⁶⁸. También se ha informado que las células hepáticas remueven rápidamente los hidroperóxidos de éster de colesterol en HDL⁷⁴, con lo que las HDL se convierten en las principales transportadoras de hidroperóxidos lipídicos en el plasma^{68,75}.

Hay también considerables evidencias que la HDL puede degradar enzimáticamente los fosfolípidos y ésteres de colesterol oxidados presentes en la LDL⁷⁶.

Las HDL transportan diversas enzimas que destruyen los hidroperóxidos de LDL⁷⁷. Estas enzimas son la paraoxonasa 1 (PON-1)^{78,79}, la paraoxonasa 3 (PON-3)⁸⁰, y posiblemente la glutatión fosfolípido peroxidasa⁷⁷. Las HDL transportan también enzimas, como el PAF acetil hidrolasa (PAF-AH) y la LCAT, que son capaces de remover fosfolípidos oxidados⁸¹. A excepción de la PAF-AH, las otras enzimas están asociadas exclusivamente a la HDL.

La actividad antioxidante de la HDL se atribuye, principalmente, a la PON-1. La PON-1 actúa hidrolizando los hidroperóxidos de fosfolípidos y ésteres de colesterol derivados del ácido araquidónico y linoleico. Este efecto protector de la HDL contra la peroxidación lipídica es más mantenido en el tiempo que el efecto protector de los antioxidantes del tipo vitaminas.

El potencial de la PON-1 de proteger contra el desarrollo de la aterosclerosis se observó en estudios en animales, particularmente en ratones *knockout* a la PON-1^{82,83}. La HDL aislada de ratones *knockout* a la PON-1 fue incapaz de prevenir la oxidación de la LDL en un modelo de cultivo de células de pared arterial, y tanto HDL, como LDL aislada de los ratones *knockout* a PON-1, fueron más susceptibles a la oxidación por las células en cultivo.

La PON-1 muestra un polimorfismo de actividad. Las bases moleculares del principal polimorfismo radica en una sustitución de arginina por glutamina en la posición 192 de la enzima. La isoforma A que tiene glutamina en esta posición exhibe una actividad cerca de 8 veces menor que la isoforma B con un residuo de arginina en la posición 192.

Se ha demostrado que los polimorfismos genéticos de PON-1, capaz de proteger la LDL contra la peroxidación lipídica, están sobrerrepresentados en la enfermedad coronaria, particularmente asociada a diabetes mellitus. Sin embargo, estos polimorfismos explican sólo parte de la variación de la actividad de PON-1 en el suero⁸⁴.

La PON-3, aislada recientemente del suero de conejos, mostró también disminuir la acumulación de peróxidos lipídicos en la LDL⁸⁵.

Propiedades antiinflamatorias de la lipoproteína de alta densidad

En numerosos estudios se indica que las propiedades antiinflamatorias de la HDL contribuirían a

los efectos cardioprotectores atribuidos a esta lipoproteína.

La aterosclerosis es una enfermedad crónica en la que la inflamación participa desde la lesión inicial hasta las complicaciones trombóticas finales, y que se manifiesta generalmente por una elevación en la concentración plasmática de varios marcadores inflamatorios⁸⁶.

Las células endoteliales activadas expresan diversas moléculas de adhesión, como VCAM-1, ICAM-1 y E-selectina, en respuesta a la activación por citocinas proinflamatorias, mediante el factor de transcripción nuclear kappa beta (NF- κ B). Estas proteínas de adhesión se expresan en arterias y sitios de desarrollo de aterosclerosis, y sus formas solubles se encuentran presentes en el plasma de individuos con enfermedad coronaria⁸⁷.

Una vez que los monocitos se adhieren al endotelio, migran al espacio subendotelial en un proceso estimulado por la MCP-1, sintetizada por células endoteliales, células musculares lisas y macrófagos de la pared arterial.

El hallazgo que las HDL humanas inhiben la expresión de moléculas de adhesión y de MCP-1 ha adquirido gran importancia⁸⁸. Estudios *in vitro* han mostrado que las HDL inhiben la transmigración de monocitos en respuesta a LDLox, efecto que parece estar relacionado con la PON-1 y el PAF-AH presentes en la HDL, y disminuyen los procesos inflamatorios agudos como consecuencia de la acumulación de la proteína del amiloide sérico-A (SAA) de HDL⁸⁹. En otro estudio se observó que la HDL aislada de pacientes con enfermedad coronaria no inhibe la quimiotaxis de monocitos a la misma extensión que la HDL aislada de individuos controles sin enfermedad coronaria⁹⁰.

En el cultivo de células endoteliales, se ha demostrado que las HDL inhiben la expresión inducida por citocinas de moléculas de adhesión VCAM-1, ICAM-1 y E-selectina, inhibición que se ha asociado a una reducción de los valores de ARN mensajero de estas proteínas⁹¹. Sin embargo, en otro estudio no se logró demostrar la habilidad de la HDL de inhibir la expresión de moléculas de adhesión por células endoteliales⁹².

Las HDL disminuirían la expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales, e inhibirían la esfingosina cinasa, enzima que cataliza una etapa clave de la vía, por la cual el TNF- α induce la expresión de estas moléculas⁹³.

La habilidad de la HDL de modificar la expresión de proteínas de adhesión se ha demostrado *in vivo*. En perfusiones de HDL que contenían apoA-I y fosfatidilcolina, administradas a ratones apoE -/-

con enfermedad carotídea, se observó una reducción de un 40% en la expresión de VCAM-1⁹⁴. En otro estudio, en el que se usó un modelo *in vivo* de inflamación aguda, la perfusión única de HDL inhibe la expresión de E-selectina inducida por interleucina 6⁹⁵.

Un estudio reciente reveló que la HDL transporta una serie de proteínas que podrían conferirle nuevas actividades cardioprotectoras, como por ejemplo proteínas que participan en la activación del complemento, en la regulación de la proteólisis y en la respuesta de fase aguda⁹⁶, lo que contribuye a sus propiedades antiinflamatorias y antiaterogénicas.

La proteína C reactiva (PCR) es una molécula cuya presencia en concentraciones elevadas en sangre siempre ha sido sinónimo de la existencia de una reacción de fase aguda, es decir, de un proceso inflamatorio.

Actualmente, se considera que la concentración plasmática de PCR ultra sensible (PCR-us) es un predictor de episodios cardiovasculares.

Se ha informado que la PCR aumenta la secreción de MCP-1, reduce la expresión y la biodisponibilidad de NO endotelial, e induce la expresión de las moléculas de adhesión VCAM-1, ICAM-1 y E-selectina en células vasculares incubadas *in vitro*^{97,98}.

En un estudio reciente, se ha demostrado que las HDL inhiben la expresión de moléculas de adhesión inducida por PCR. El mecanismo por el cual las HDL inhiben los efectos proinflamatorios de la PCR parece que es diferente de la causa que inhibe los efectos inducidos por citocinas. Mientras que la oxidación de la HDL reduce la inhibición mediada por HDL de la expresión de proteínas de adhesión inducida por el TNF- α , ésta aumenta la habilidad de la HDL a inhibir la expresión de proteínas de adhesión inducida por la PCR, lo que indica que los fosfolípidos oxidados de HDL son más efectivos que los no oxidados en neutralizar los efectos de la PCR⁹⁹ (fig. 1).

Conclusiones y perspectivas

La correlación inversa entre valores séricos de cHDL y el riesgo de enfermedad coronaria, la protección de aterosclerosis en animales mediante manipulación genética del metabolismo de HDL y las evidencias de las propiedades potencialmente antiaterogénicas de la HDL han hecho del metabolismo de esta lipoproteína una diana atractiva para la intervención farmacológica de la aterosclerosis.

Además de promover el eflujo de colesterol a partir de macrófagos, las HDL ejercen numerosas otras

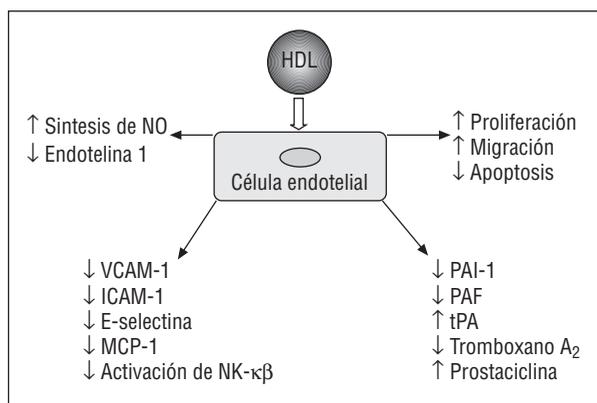


Figura 1. Acciones endoteliales de la lipoproteína de alta densidad (HDL). ICAM-1: moléculas de adhesión intracelular 1; MCP-1: proteína quimiotáctica a monocitos 1; NF-κβ: factor de transcripción nuclear kappa beta; NO: óxido nítrico; PAF: factor activador de plaquetas; PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno 1; tPA: activador tisular del plasminógeno; VCAM-1: moléculas de adhesión celular vascular 1.

acciones potencialmente antiaterogénicas, como acciones endoteliales, antioxidantes, antiinflamatorias y antitrombóticas. Actividades que especialmente ejercen las apolipoproteínas, las enzimas y los lípidos asociados a la HDL.

El principal inconveniente de los estudios, en relación con las acciones antiaterogénicas de las HDL, es que la gran mayoría de ellos se han realizado *in vitro*, por lo que hay una gran necesidad de llevar a cabo estudios *in vivo* para validar la relevancia de los diversos efectos de HDL en la prevención de la aterosclerosis, incluso ante las evidencias de algunos resultados contradictorios entre los estudios *in vitro* e *in vivo*. Estas discrepancias en los resultados podrían explicarse por la variación en el contenido de partículas de HDL con composición y propiedades completamente diferentes.

Actualmente se están utilizando diversas estrategias terapéuticas para aumentar los valores de HDL, entre las que se incluyen los fármacos como fibratos, estatinas y ácido nicotínico. Por otro lado, los inhibidores de CETP, los complejos de apoA-I/fosfolípido y péptidos miméticos de apolipoproteínas de HDL se están considerando entre los futuros agentes terapéuticos para elevar los valores de HDL, promover el transporte reverso de colesterol y disminuir la aterosclerosis.

También, es de gran importancia determinar cuál será el impacto que tienen estos nuevos tratamientos, diseñados para incrementar los valores de HDL, en las propiedades endoteliales, antiinflamatorias y antitrombóticas de esta lipoproteína.

Bibliografía

- Gordon DJ, Rifkind BM. High-density lipoprotein-the clinical implications of recent studies. *N Engl J Med.* 1989;321:1311-6.
- Fidge NH. High-density lipoprotein receptors, binding proteins, and ligands. *J Lipid Res.* 1999;40:187-201.
- Franceschini G. Epidemiologic evidence for high-density lipoprotein cholesterol as a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2001;88:9-13.
- Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *Am J Med.* 1977;62:707-14.
- Rubins HB, Robins SJ, Collins D, Fye CL, Anderson JW, Elam MB, et al. Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *N Engl J Med.* 1999;34:410-8.
- Frick MH, Elo O, Haapa K, Heinonen OP, Heinsalmi P, Helo P. Helsinki Heart Study: primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia: Safety of treatment changes in risk factors, and incidence of coronary heart disease. *N Engl J Med.* 1987;317:1237-45.
- Rader DJ. Molecular regulation of HDL metabolism and function: implications for novel therapies. *J Clin Invest.* 2006;116:3090-100.
- Cuchel M, Rader DJ. Macrophage reverse cholesterol transport: key to the regression of atherosclerosis. *Circulation.* 2006;113:2548-55.
- Chang TY, Chang CC, Lin S, Yu C, Li BL, Miyazaki A. Roles of acyl-coenzyme A:cholesterol acyltransferase-1 and -2. *Curr Opin Lipidol.* 2001;12:289-96.
- Brooks-Wilson A, Marcil M, Clee SM, Zhang LH, Roomp K, Van Dam M. Mutation in ABC1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency. *Nat Genet.* 1999;22:336-45.
- Bodzioch M, Orso E, Kluchon J, Langmann T, Botteher A, Diederich W, et al. The gene encoding ATP-binding cassette transporter 1 is mutated in Tangier disease. *Nat Genet.* 1999;22:336-45.
- Nofer JR, Remaley AT. Tangier disease: still more questions than answers. *Cell Mol Life Sci.* 2005;62:2150-60.
- Tall A, Coster P, Wang N. Regulation and mechanisms of macrophage cholesterol efflux. *J Clin Invest.* 2002;110:899-904.
- Van Eck M, Bos IS, Kaminsky WE, Orso E, Rothe G, Twisk J, et al. Leukocyte ABCA1 controls susceptibility to atherosclerosis and macrophage recruitment into tissues. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99:6298-303.
- Haghighpassant M, Bourassa PA, Francone OL, Aeillo RJ. Monocyte/macrophage expression of ABCA1, has minimal contribution to plasma HDL levels. *J Clin Invest.* 2001;108:1315-20.
- Aiello RJ, Brees D, Bourassa PA, Royer L, Lindsey S, Coskran T, et al. Increased atherosclerosis in hyperlipidemic mice with inactivation of ABCA1 in macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:630-7.
- Wang N, Lan D, Chen W, Matsuura F, Tall AR. ATP-binding cassette transporter G1 and G4 mediate cellular cholesterol efflux to high density lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101:9774-9.
- Baldan A, Tarr P, Lee R, Edwards PA. ATP-binding cassette transporter G1 and lipid homeostasis. *Curr Opin Lipidol.* 2006;17:227-32.
- Kennedy MA, Berrera GC, Nakamura K, Baldan A, Tarr P, Fishbein MC, et al. ABCG1 has a critical role in mediating cholesterol efflux to HDL and preventing cellular lipid accumulation. *Cell Metabolism.* 2005;1:121-31.
- Nissen SE, Tsunade T, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Cooper CI, Yasin M, et al. Effect of recombinant ApoA-I Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2003;290:2292-300.
- Ji Y, Jian B, Wang N. Scavenger receptor BI promotes high density lipoprotein-mediated cellular cholesterol efflux. *J Biol Chem.* 1997;272:20982-5.
- Gu X, Kozarsky K, Krieger M. Scavenger receptor class B, type I-mediated [H³] cholesterol efflux to high and low density lipoproteins is dependent on lipoprotein binding to the receptor. *J Biol Chem.* 2000;275:29993-3001.
- Van Eck M, Twisk J, Hoekstra M, Van Rij BT, Van Der Lans CA, Bos IS, et al. Differential effects of scavenger receptor BI defi-

- ciency on lipid metabolism in cells of the arterial wall and in the liver. *J Biol Chem.* 2003;278:23699-705.
24. Lewis GF, Roder DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res.* 2005;96:1221-32.
 25. Kuivenhoven JA, Pritchard H, Hill J, Frohlich J, Assmann G, Kastlein J. The molecular pathology of lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency syndromes. *J Lipid Res.* 1997;38:191-205.
 26. Varban ML, Rinninger F, Wang N, Fairchild-Huntress V, Dunmore JH, Fang O, et al. Targeted mutation reveals a central role for SR-BI in hepatic selective uptake of high density lipoprotein cholesterol. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;95:4619-24.
 27. Ji Y, Wang N, Ramakrishnan R, Schayek E, Huszar D, Breslow JL, et al. Hepatic scavenger receptor BI promotes rapid clearance of high density lipoprotein free cholesterol and its transport into bile. *J Biol Chem.* 1999;274:33398-402.
 28. Kosarsky KF, Donahee MH, Rigotti A, Iqbal S, Edelman ER, Krieger M. Overexpression of the HDL receptor SR-BI alters plasma HDL and bile cholesterol levels. *Nature.* 1997;387:414-7.
 29. Brundert M, Ewert A, Heeren J, Behrendt B, Ramakrishnan R, Greut H, et al. Scavenger receptor class B type I mediates the selective uptake of high-density lipoprotein-associated cholesteryl ester by the liver in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:143-8.
 30. Zhang Y, Da Silva JR, Reilly M, Billheimer JT, Rothblat GH, Rader DJ. Hepatic expression of scavenger receptor class B type I (SR-BI) is a positive regulator of macrophage reverse cholesterol transport in vivo. *J Clin Invest.* 2005;115:2870-4.
 31. Barter PJ, Brewer HB, Chapman MJ, Hennekens CH, Rader DJ, Tall AR. Cholesteryl ester transfer protein: a novel target for raising HDL and inhibiting atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:160-7.
 32. Inazu A, Brown ML, Hester CB, Agellon LB, Koisumi J, Takata K, et al. Increased high density lipoprotein levels caused by a common cholesteryl-ester transfer protein gene mutation. *N Engl J Med.* 1990;323:1234-8.
 33. Rader DJ. Inhibition of cholesteryl ester transfer protein activity: a new therapeutic approach to raising high-density lipoprotein. *Curr Atheroscler Rep.* 2004;6:398-405.
 34. Kuivenhoven JA, De Grooth GI, Kawamura H, Klerkx AH, Wilhelm F, Trip MD, et al. Effectiveness of inhibition of cholesteryl ester transfer protein by JTT-705 in combination with pravastatin in type II dyslipidemia. *Am J Cardiol.* 2005;95:1085-8.
 35. Clark RW, Sutfin TA, Ruggeri RB, Willauer AT, Sugarman ED, Magnus Arytey G, et al. Raising high-density lipoprotein in human through inhibition of cholesteryl ester transfer protein: an initial multidose study of torcetrapib. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:490-7.
 36. Blair A, Shaul PW, Yuhanna TS, Conrad PA, Smart EJ. Oxidized low density lipoprotein displaces endothelial nitric-oxide synthase (eNOS) from plasmalemmal caveolae and impairs eNOS activation. *J Biol Chem.* 1999;274:32512-9.
 37. Uittenbogaard A, Shaul PW, Yuhanna JS, Blair A, Smart EJ. High-density lipoprotein prevents oxidized low density lipoprotein-induced inhibition of endothelial nitric-oxide synthase localization and activation in caveolae. *J Biol Chem.* 2000;275:11278-83.
 38. Ou J, Wang J, Xu H, Ou Z, Sorci-Thomas MG, Jones DW, et al. Effects of D-4F on vasodilatation and vessel wall thickness in hypercholesterolemic LDL receptor-null and LDL receptor/apolipoprotein A-I double-knockout mice on Western diet. *Circ Res.* 2005;97:1190-7.
 39. Ou Z, Ou I, Ackerman AW, Oldham KT, Pritchard KA. L-4F, an apolipoprotein A-I mimetic, restores nitric oxide and superoxide anion balance in low-density lipoprotein-treated endothelial cells. *Circulation.* 2003;107:1520-4.
 40. Yuhanna IS, Zhu Y, Cox BE, Hahner LD, Osborne-Lawrence S, Lu P. High-density lipoprotein binding to scavenger receptor-BI activate endothelial nitric oxide synthase. *Nat Med.* 2001;7:853-7.
 41. Mineo C, Yuhanna IS, Quon MI, Shaul PW. High density lipoprotein induced endothelial nitric-oxide synthase activation is mediated by Akt and MAPkinases. *J Biol Chem.* 2003;278:9142-9.
 42. Ramet ME, Ramet M, Lu Q, Nickerson M, Savolainen MJ, Malzone A. High-density lipoprotein increases the abundance of eNOS protein in human vascular endothelial cells by increasing its half-life. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41:2288-97.
 43. Zehier AM, Schachlinger V, Hohnloser SH, Saurbier B, Just H. Coronary atherosclerotic wall thickening and vascular reactivity in humans. Elevated high-density lipoprotein levels ameliorate abnormal vasoconstriction in early atherosclerosis. *Circulation.* 1994;89:2525-32.
 44. Kuvin JT, Ramet MF, Patel AR, Pandian NG, Mendelsohn ME, Karas RH. A novel mechanism for the beneficial vascular effects of high-density lipoprotein cholesterol: enhanced vasorelaxation and increased endothelial nitric oxide synthase expression. *Am Heart J.* 2002;144:165-72.
 45. Bisoendial RJ, Hovingh GK, Levels JH, Lerch PG, Andresen I, Hayden MR. Restoration of endothelial function by increasing high-density lipoprotein in subjects with isolated low high-density lipoprotein. *Circulation.* 2003;107:2944-8.
 46. Kuvin JT, Patel AR, Sidhu M, Rand WM, Sliney KA, Pandian NG. Relation between high-density lipoprotein cholesterol and peripheral vasomotor function. *Am J Cardiol.* 2003;92:275-9.
 47. Li D, Yang B, Metha JL. Ox-LDL induces apoptosis in human coronary artery endothelial cells: role of PCK, PTK, bcl-2 and Fas. *Am J Physiol.* 1998;275:568-76.
 48. Choy JC, Ganville DJ, Hunt DW, McManus BM. Endothelial cell apoptosis: biochemical characteristics and potential implications for atherosclerosis. *J Mol Cell Cardiol.* 2001;33:1673-90.
 49. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med.* 1998;338:1042-50.
 50. Suc I, Escargueil-Blanc I, Trolly M, Salvayre R, Negre-Salvayre A. HDL and apoA-I prevent cell death of endothelial cells induced by oxidized LDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17:2158-66.
 51. Mineo CH, Deguchi H, Griffin JH, Shaul PW. Endothelial and antithrombotic actions of HDL. *Circ Res.* 2006;98:1352-64.
 52. Sugano M, Tsuchida K, Makino N. High-density lipoprotein protect endothelial cells from tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;272:872-6.
 53. Taneagaki T, Sawada S, Imamura H, Tada Y, Yamasaki S, Toratani A, et al. Effects of high-density lipoproteins on intracellular pH and proliferation of human vascular endothelial cells. *Atherosclerosis.* 1996;123:73-82.
 54. Seetharam S, Mineo C, Gormley AK, Gibson LL, Vongpatanasin W, Chambliss LK. HDL promotes endothelial cell migration and reendothelialization via scavenger receptor-B type I. *Circ Res.* 2006;98:63-72.
 55. Shah PK, Kaul S, Nilsson J, Cercek B. Exploiting the vascular protective effect of high-density lipoprotein and its apolipoproteins: an idea whose time for testing is coming. Part II. *Circulation.* 2001;104:2498-502.
 56. Assmann G, Nofer JR. Atheroprotective effects of high-density lipoproteins. *Annu Rev Med.* 2003;54:321-41.
 57. Barter PJ, Nicholls S, Rye KA, Anantharamaiah GM, Navab M, Fogelman AM. Antiinflammatory properties of HDL. *Circ Res.* 2004;95:764-72.
 58. Vane JR, Botting RM. Pharmacodynamic profile of prostacyclin. *Am J Cardiol.* 1995;75:3-10.
 59. Linton MF, Fazio S. Cyclooxygenase-2 and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2002;13:497-504.
 60. Norata GD, Callegari E, Inoue H, Catapano AL. HDL3 induces cyclooxygenase-2 expression and prostacyclin release in human endothelial cells via a p38MAPK/CRE-dependent pathway: effects on COX-2/PGI-synthase coupling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:871-7.
 61. Martínez-González J, Escudero I, Badimon L. Simvastatin potentiates PGI(2) release induced by HDL in human VSMC: effect on COX-2 up-regulation and MAPK signaling pathways activated by HDL. *Atherosclerosis.* 2004;174:305-13.
 62. Griffin JH, Kojima K, Banka CL, Curtiss LK, Fernández JA. High-density lipoprotein enhancement of anticoagulant activities of plasma protein S and activated protein C. *J Clin Invest.* 1999;103:219-27.
 63. Mac Callum PK, Cooper JA, Martin J, Howarth DJ, Meade TW, Miller GJ. Haemostatic and lipid determinants of prothrombin fragment FI-2 and D-dimer in plasma. *Thromb Haemost.* 2000;83:421-6.

64. Nicholls SJ, Cutri B, Worthleys SG, Kee P, Rye KA, Bao S. Impact of short-term administration of high-density lipoproteins and atorvastatin on atherosclerosis in rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:2416-21.
65. O'Connell BJ, Genest J. High-density lipoproteins and endothelial function. *Circulation.* 2001;104:1978-83.
66. Naqvi TZ, Shah PK, Ivey PA, Molloy MD, Thomas AM, Panicker S, et al. Evidence that high-density lipoprotein cholesterol is an independent predictor of acute platelet-dependent thrombus formation. *Am J Cardiol.* 1998;84:1011-7.
67. Norata GD, Banfi C, Pirillo A, Tremoli E, Hamsten A, Catapano AL, et al. Oxidised-HDL3 induces the expression of PAI-1 in human endothelial cells. Role of p38MAPK activation and mRNA stabilization. *Br J Haematol.* 2004;127:97-104.
68. Navab M, Anantharamaiah GM, Reddy ST, Van Lenten BJ, Ansell BJ, Fanarow GC, et al. The oxidation hypothesis of atherogenesis: the role of oxidized phospholipids and HDL. *J Lipid Res.* 2004;45:993-1007.
69. Stoll G, Bendszus M. Inflammation and atherosclerosis: novel insights into plaque formation and destabilization. *Stroke.* 2006;37:1923-32.
70. Huo Y, Ley K. Adhesion molecules and atherogenesis. *Acta Physiol Scand.* 2001;173:35-43.
71. Murphy JE, Tedbury PR, Homer-Vanniasinkam S, Walker JH, Ponnambalam S. Biochemistry and cell biology of mammalian scavenger receptors. *Atherosclerosis.* 2005;182:1-15.
72. Moore KJ, Freeman MW. Scavenger receptors in atherosclerosis: beyond lipid uptake. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:1702-11.
73. Kunjathoor VV, Febbraio M, Podrez EA, Moore KJ, Andersson L, Koehn S, et al. Scavenger receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages. *J Biol Chem.* 2002;277:49982-8.
74. Christison J, Karjalainen A, Brauman J, Bygrave F, Stocker R. Rapid reduction and remove of HDL-but not LDL-associated cholesteryl ester hydroperoxides by rat liver perfused in situ. *Biochem J.* 1996;314:739-42.
75. Bowry VW, Stanley KK, Stocker R. High density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxides in human blood plasma from fasting donors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1992;89:10316-20.
76. Mackness MI, Durrington PN, Mackness B. How HDL protects against the effects of LDL lipid peroxidation. *Curr Opin Lipidol.* 2000;11:383-8.
77. Navab M, Berliner JA, Subbanagounder G, Hama S, Lusis AJ, Castellani LW, et al. HDL and the inflammatory response induced by LDL-derived oxidized phospholipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:481-8.
78. Mackness B, Hine D, Liu Y, Mastorikou M, Mackness M. Paraoxanase-1 inhibits oxidized LDL-induced MCP-1 production by endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;318:680-3.
79. Getz GS, Reardon CA. Paraoxanase, a cardioprotective enzyme continuing issues. *Curr Opin Lipidol.* 2004;15:261-7.
80. Reddy ST, Wadleigh DJ, Grijalva V, NgC, Hama S, Gangopadhyay A, et al. Human paraoxanase-3 is an HDL-associated enzyme with biological activity similar to paraoxanase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:542-7.
81. Forte TM, Subbanagounder G, Berliner JA, Blanche PJ, Clermont AO, Jia Z, et al. Altered activities of antiatherogenic enzymes LCAT, paraoxanase, and platelet-activating factor acetyl hydrolase in atherosclerosis-susceptible mice. *J Lipid Res.* 2002;43:477-85.
82. Shih DM, Xia YR, Wang XP, Miller E, Castellani IW, Subbanagounder G, et al. Combined serum paraoxanase knockout/apolipoprotein E knockout mice exhibit increased lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *J Biol Chem.* 2000;275:17527-35.
83. Tward A, Xia YR, Wang XP, Shi YS, Park C, Castellani LW. Decreased atherosclerotic lesion formation in human serum paraoxanase transgenic mice. *Circulation.* 2002;106:484-90.
84. Durrington PN, Mackness B, Mackness NI. Paraoxanase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:473-80.
85. Dragonov V, Stetson PL, Watson CE, Billecke SS, LaDu BN. Rabbit serum paraoxanase 3 (PON3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation. *J Biol Chem.* 2000;275:33435-42.
86. Libby P, Rider PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation.* 2002;105:1135-43.
87. Blankenberg S, Barbaux S, Tiret L. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2003;170:191-203.
88. Barter PJ, Baker PW, Rye KA. Effect of high-density lipoproteins on the expression of adhesion molecules in endothelial cells. *Current Opinion in Lipidology.* 2002;13:285-8.
89. Ashby D, Gamble J, Vadas M, Fidge N, Siggins S, Rye K. Lack of effects of serum amyloid A (SAA) on the ability of high-density lipoproteins to inhibit endothelial cell adhesion molecule expression. *Atherosclerosis.* 2001;154:113-21.
90. Ansell BJ, Navab M, Hama S, Kamrampour N, Fonarow G, Hough G. Inflammatory/Anti-inflammatory Properties of High-Density Lipoproteins distinguish patients from control subjects better than high-density lipoprotein cholesterol level and are favorably affected by simvastatin treatment. *Circulation.* 2003;108:2751-6.
91. Park SH, Park JH, Kang JS, Kang YH. Involvement of transcription factors in plasma HDL protection against TNF-alpha-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression. *Int J Biochem Cell Biol.* 2003;35:168-82.
92. Zhang WI, Stocker R, McCall MR, Forte TM, Frei B. Lack of inhibitory effect of HDL on TNF-alpha-induced adhesion molecule expression in human aortic endothelial cells. *Atherosclerosis.* 2002;165:241-9.
93. Barter PJ, Nicholls S, Rye KA, Anantharamaiah GM, Navas M, Fogelman AM. Antiinflammatory properties of HDL. *Circ Res.* 2004;95:764-72.
94. Dimayago P, Zhu J, Oguchi S, Chyu KI, Xu XO, Yano J, et al. Reconstituted HDL containing human apolipoprotein A-I reduces VCAM-1 expression and neointima formation following periaortic cuff-induced carotid injury in apoE null mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;264:465-8.
95. Cockerill GW, Huehns TY, Weerasinghe A, Stocker C, Lerch PG, Miller NE, et al. Elevation of plasma high-density lipoprotein concentration reduces interleukin-1-induced expression of E-selectin in an in vivo model of acute inflammation. *Circulation.* 2001;103:108-12.
96. Vaisar T, Pennatur S, Green PS, Gharib SA, Hoofnagle AN, Cheung MC, et al. Shotgun proteomics implicates protease inhibition and complement activation in the antiinflammatory properties of HDL. *J Clin Invest.* 2007;117:746-56.
97. Pasceri V, Cheng JS, Willerson JT, Yeh ET, Chang J. Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cell by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation.* 2001;103:2531-4.
98. Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I, Shaul P, Jialal I. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation.* 2002;106:1439-41.
99. Wadham C, Albanese N, Roberts J, Wang L, Bagley CJ, Gamble JR. High-density lipoprotein neutralize C-reactive protein inflammatory activity. *Circulation.* 2004;109:2116-22.