



FEPREVA

*Fundación para el Estudio, la Prevención y el Tratamiento
de la Enfermedad Vascul ar Aterosclerótica*

Institución Afiliada a la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires

6° Curso de Capacitación de Posgrado a Distancia Síndrome Metabólico y Riesgo Vascular

Lesiones ateroscleróticas: Aterogénesis

Profesor Dr. José Milei

Profesor Titular de Medicina Interna. Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires. Argentina

Director del Instituto de Investigaciones Cardiológicas “Prof. Dr. Alberto C. Taquini” (ININCA). Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

Miembro de la Carrera del Investigador del CONICET. Argentina

Dr. Julián González

Médico

Instituto de investigaciones Cardiológicas “Prof. Dr. Alberto C. Taquín”. Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

Médico del Servicio de Clínica Médica. Hospital Nacional Profesor A. Posadas

Objetivos

- Conocer la estructura y los eventos del proceso aterosclerótico
- Comprender la correlación entre la ateromatosis carotídea y la clínica

Contenidos

Introducción.....	2
Endotelio y aterogénesis	8
Aterogénesis	9
Células musculares lisas	9
Origen monoclonal de la lesión aterosclerótica.....	12
Complicación de la placa.....	13
Placa Vulnerable	14
Aterosclerosis carotídea	14
Arteria carótida externa.....	16
Bibliografía.....	18

Introducción

La arterioesclerosis fue utilizada como nombre genérico por primera vez en 1833 por Juan Federico Löbstein. En 1856 Rudolf Virchow definió que las lesiones de las paredes de las arterias se producían por la interacción de tres factores básicos:

1. la lesión endotelial
2. la estasis o turbulencias del flujo
3. la hipercoagulabilidad sanguínea

La arteriosclerosis se divide en 3 variedades de la misma enfermedad:

1. aterosclerosis
2. esclerosis de Mönckeberg o calcificación de la capa media arterial
3. arterioloesclerosis

A estas tres variedades se les sumaron procesos como la medionecrosis, la arteriopatía diabética y la angioesclerosis o senescencia arterial que luego cayeron en desuso.

- a) La aterosclerosis, que es la más frecuente de las tres, se caracteriza por la formación de placas fibrosas en la íntima, que puede estar acompañada por un núcleo central rico en lípidos.
- b) La esclerosis calcificada de la media de Mönckeberg, se la describe en arterias musculares de mediano tamaño en personas mayores de 50 años y tiene una importancia clínica mucho menor.
- c) La arterioloesclerosis afecta a arterias pequeñas y arteriolas. Desde un punto de vista anatómico, se presenta en dos formas: hialina e hiperplásica, pero ambas se comportan engrosando las paredes vasculares y estrechando la luz, pudiendo provocar lesiones isquémicas. **Es la variedad que más a menudo se asocia a la hipertensión arterial y a la diabetes mellitus.**

La aterosclerosis y sus complicaciones, de la cual nos vamos a ocupar específicamente, son consideradas desde el punto de vista epidemiológico la primera causa de morbilidad y mortalidad en países occidentales a través de las enfermedades coronaria, cerebrovascular y arterial periférica.

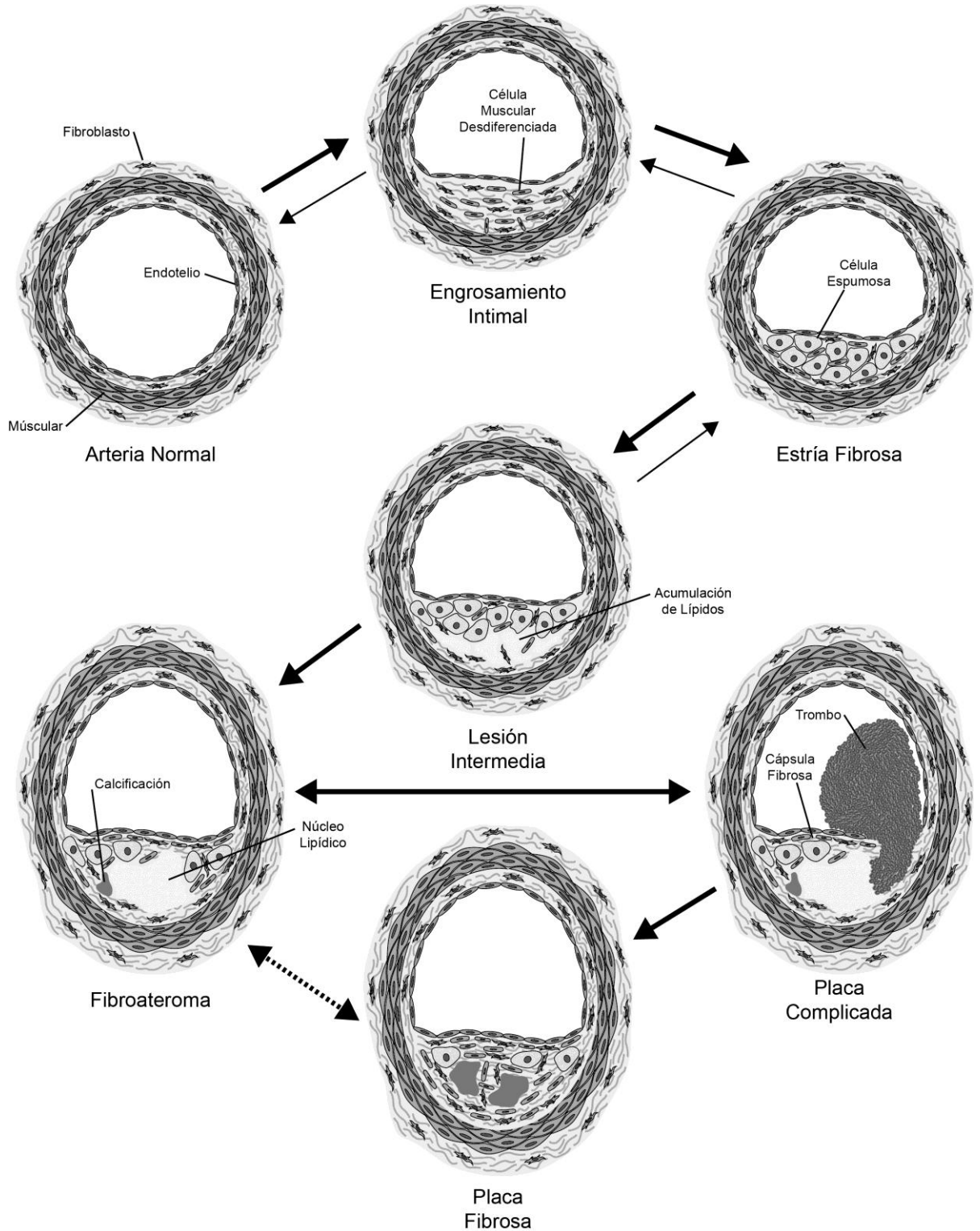
La prevención juega un papel importante en su impacto. Como ejemplo se sabe que en los EEUU, en 32 años (1963-1995), la mortalidad por complicaciones de esta enfermedad, como la cardiopatía isquémica, ha disminuido un 50%, y el de los ictus un 70% aproximadamente, con un aumento de 5 años en la esperanza de vida. Esto es debido a la prevención primaria, al cambio de los hábitos de vida, al perfeccionamiento de la terapéutica del infarto de miocardio y otras complicaciones de la cardiopatía isquémica, así como también a la profilaxis de las recidivas de episodios clínicos relacionados.

Es importante destacar que si bien las manifestaciones clínicas y patológicas de la enfermedad aparecen después de los 50 años, investigaciones recientes han demostrado que las lesiones “pre-ateroescleróticas” aparecen muy tempranamente, aún en la vida fetal y especialmente vinculadas a las células musculares lisas (CML). En efecto, se han encontrado lesiones intimaes en las arterias coronarias de fetos de madres fumadoras, muertos sin causa aparente luego de la semana 32 de gestación.

Nuestro grupo estudió la existencia de lesiones ateroscleróticas tempranas en fetos y lactantes y su relación con el tabaquismo materno, como factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad. Se estudiaron un total de 74 casos, 22 muertes fetales y 52 víctimas de síndrome de muerte súbita del lactante. En el 47,3% de los casos analizados (35/74), que incluyen fetos y lactantes, se han evidenciado alteraciones pre-ateroescleróticas iniciales en las arterias de los fetos y se ha demostrado la formación y progresión de placas ateroscleróticas en los infantes. En relación al tabaquismo materno, en el 83,3% (10/12) de los fetos y en el 100% (15/15) de los lactantes hijos de madres fumadoras, se detectaron lesiones ateroscleróticas coronarias

multifocales de variadas características, desde placas focales con proliferación y migración de CML y engrosamiento miointimal leve en la etapa prenatal (Figura 1) hasta placas blandas juveniles con obstrucción de la luz arterial en los lactantes.

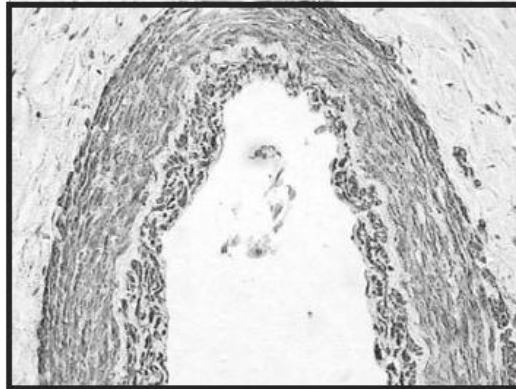
Figura 1
Esquema de la progresión de las placas ateroscleróticas



Modificado de Bentzon J y Falk E. Pathogenesis of Stable and Acute Coronary Syndromes. En Théroux P. Acute Coronary Syndromes. A Companion to Braunwald's Heart Disease. 2^{da} Edición, 2011. Saunders. Filadelfia.

Los engrosamientos miointimales en los primeros meses de vida en los niños hijos de madres fumadoras muestran una prevalencia de CML con reducida cantidad de monocitos y escasos o ausentes depósitos lipídicos (Figuras 2 y 3). En estas lesiones pre-ateroescleróticas y ateroscleróticas tempranas se detectó positividad para el gen c-fos en las CML de la media, y en algunas de ellas evidencias de apoptosis.

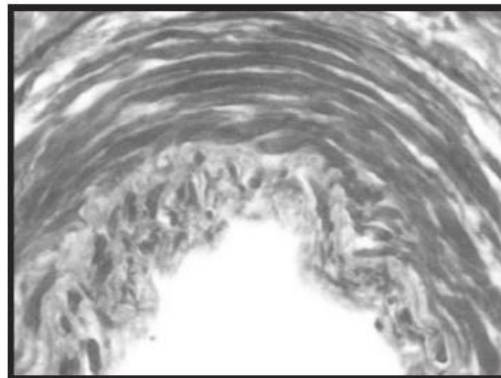
Figura 2
Engrosamiento miointimal moderado y difuso
con células musculares lisas positivas para α -actina.
Indemnidad de la membrana limitante interna.



Inmunohistoquímica anti α -actina 100x. Observación personal tomada de referencia 2

Figura 3
Lesión preateroesclerótica en una arteria coronaria epicárdica (arteria coronaria
descendente anterior) de un feto de 38 semanas de gestación.

El engrosamiento focal consiste en CML orientadas en forma desordenada con desaparición de la membrana limitante interna. Tricrómico de azán 200x.



Como es sabido, el proto-oncogen c-fos pertenece a la familia de “genes inmediatos tempranos”, definidos así por su capacidad de activarse rápidamente en respuesta a una noxa (por ejemplo, humo de tabaco) ya que no requieren síntesis proteica *de novo*.

Así, la sobre-expresión del proto-oncogen c-fos en las lesiones pre-ateroescleróticas de fetos hijos de madres fumadoras permitiría postular que los productos gaseosos de la combustión de la nicotina del tabaco atravesarían el endotelio sin causar alteraciones morfológicas identificables y luego producirían directamente una alteración sobre el gen c-fos de las CML de la media, lo cual provocaría su activación. Luego, se promovería un proceso de transformación de las CML, las mismas perderían su estado diferenciado y adquirirían la capacidad primitiva de movimientos ameboides para poder dejar la media y migrar hacia la íntima, aún sin proliferar. Luego, c-fos provocaría un efecto mitogénico sobre estas células, nuevamente debido al efecto oxidativo del humo del cigarrillo. Esto último se confirmó con la positividad del antígeno nuclear de

proliferación celular (PCNA), un marcador específico de replicación celular en CML de lesiones más avanzadas.

Con respecto a las evidencias de apoptosis en las fases ateroscleróticas iniciales, son varios los autores que la han interpretado como un intento fisiológico de prevenir la evolución del proceso aterogénico y para preservar la estructura de la pared bajo condiciones normales.

Por otro lado, además de las distintas hipótesis que se han planteado para explicar el origen de la aterosclerosis, se proponen actualmente distintos caminos posibles partiendo de la lesión pre-aterosclerótica de lactantes y fetos. Así, la lesión podría estabilizarse y no progresar hacia una lesión de mayor importancia, minimizarse por remodelamiento, regresar por apoptosis o bien, evolucionar hacia la formación de la “placa aterosclerótica establecida” (ver más adelante) en territorios susceptibles (por ejemplo, los 2/3 proximales de la arteria descendente anterior).

Tradicionalmente se consideró a la estría grasa como la lesión inicial, precursora de la placa aterosclerótica. La estría grasa se encuentra en la aorta de algunos menores de un año y en casi todos los niños mayores de 10 años. Suelen localizarse en regiones donde el flujo sanguíneo sufre modificaciones, como en las bifurcaciones, trifurcaciones y en curvaturas. Estas lesiones se caracterizan por ser lesiones que no avanzan hacia la luz o si lo hacen es de manera muy discreta, no alteran de manera importante la elasticidad, la flexibilidad ni la distensibilidad de la pared arterial, es así que no producen, *per se*, alteraciones en el flujo arterial. Sin embargo, su importancia radica en que pueden ser precursoras de las placas ateromatosas.

Estas bandas o estrías grasas se visualizan macroscópicamente presentando estrías amarillentas, puestas en evidencia con técnicas histológicas para grasa como el Sudan IV. Microscópicamente están formadas por células cargadas de vacuolas de grasa, unas son macrófagos y otras CML, conocidas como células espumosas o lipófagos. Con técnicas de hematoxilina y eosina dan el aspecto de células vacuoladas sin contenido en su interior, pues la grasa se disuelve durante la preparación de la técnica, dando un aspecto espumoso.

La placa aterosclerótica establecida, también llamada placa fibrosa, fibroadiposa, lipídica o fibrolipídica, es una lesión elevada en el seno de la íntima con un núcleo que contiene lípidos (colesterol y sus ésteres) y una cubierta fibrosa con presencia de infiltrados inflamatorios.

Las placas ateromatosas se dividen histopatológicamente según sus características morfológicas. Generalmente son de color blanco o blanco amarillento e invaden la luz, disminuyendo el calibre arterial. El tamaño varía de 0,3 a 1,5 cm de diámetro, pero a veces confluyen formando masas más grandes. Si se las observa al corte se visualiza una superficie luminal que tiende a ser más firme y más blanca, es la llamada cubierta fibrosa. En las partes más profundas son de aspecto amarillo o blanco amarillento y blandas. En el centro de las placas grandes puede contener residuos de aspecto de grumos amarillos.

Estas placas de ateroma tienen una distribución característica en el ser humano, encontrándolas en orden descendente en aorta abdominal inferior, arterias coronarias, poplíteas, porción descendente de la aorta torácica, carótidas internas y vasos del polígono de Willis. Por otro lado los vasos de los miembros superiores suelen estar respetados al igual que las arterias mesentéricas y renales que no suelen afectarse salvo en sus orígenes u orificios, que es la forma más común de afección a nivel de la aorta abdominal. Las placas de ateroma están compuestas por células, matriz extracelular y lípidos. Las células implicadas son las musculares lisas, los macrófagos, linfocitos T y otros leucocitos.

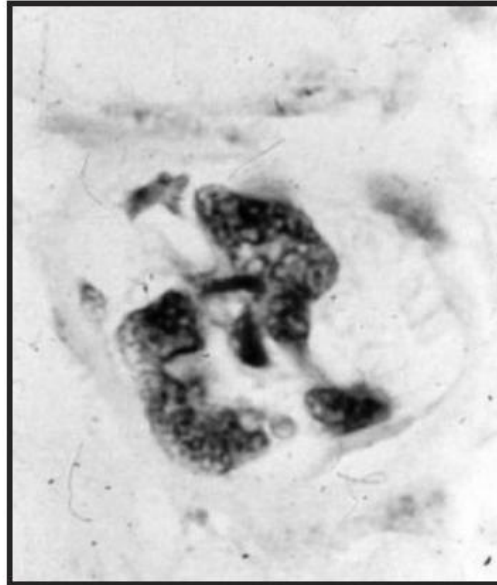
Dentro de los componentes de la matriz extracelular de tejido conjuntivo, están el colágeno, la elastina y sus fibras elásticas, proteoglicanos, glicosaminoglicanos, glicolípidos, fibronectina, laminina, vitronectina versican, etcétera. El tercer componente que entra en juego son los depósitos intracelulares y extracelulares de lípidos.

Ya establecidas, estas placas ateroscleróticas contienen un infiltrado de células inflamatorias e inmunes, siendo el resto células musculares lisas y endoteliales. El centro del ateroma o “core” contiene células espumosas (macrófagos con contenido lipídico) y gotas de lípidos extracelulares dentro de una matriz extracelular (proteoglicanos y tejido conectivo) (Figura 4).



El “core” está rodeado por una cápsula o cubierta fibrosa que se genera como consecuencia del depósito de tejido conectivo (principalmente colágeno) por parte de las CML. Estos tres componentes se encuentran en proporción variable en las distintas placas y dan lugar a todo tipo de lesión.

Figura 4
Capilar (en rojo) rodeado de células espumosas (CD68+) que se ven marrones.
Doble tinción con inmunohistoquímica (CD34 y CD68).



Observación personal tomada de Milei J. y col. *Pren Med Argent* 2003; 90:751-763

De esta manera encontramos placas estables, es decir con poca probabilidad de producir complicaciones, y otras inestables con alto riesgo para que se desarrolle una trombosis con o sin oclusión y/o embolización sintomáticas con las consiguientes lesiones isquémicas o necróticas de parénquimas nobles.

A nivel histológico, la placa inestable o vulnerable muestra una alta concentración de lípidos, una cubierta fibrosa delgada con poca proliferación de CML y escasa presencia de colágeno así como un importante infiltrado inflamatorio. También es relevante la posición del núcleo necrótico más próxima a la cubierta fibrosa y el adelgazamiento de la cápsula.

Resta describir, según la clasificación antedicha, la placa complicada. Esta lesión es la de mayor importancia clínica. Se caracteriza por diferentes cambios en la placa de ateroma. Los ateromas en la enfermedad avanzada sufren muchas veces una **calcificación** en focos dispersos o masiva, aumentando la rigidez del vaso. La **rotura** o **fisura** (Figura 5), la **erosión** o **ulceración** o bien ambas actuando de manera sinérgica, cuando aparecen en la superficie luminal de las placas dejan al descubierto sustancias de gran poder trombógeno, favoreciendo la formación de trombos o la liberación de productos que arrastrados por la corriente sanguínea llegarán a producir microembolias (**émbolos de colesterol** o **ateroémbolos**).



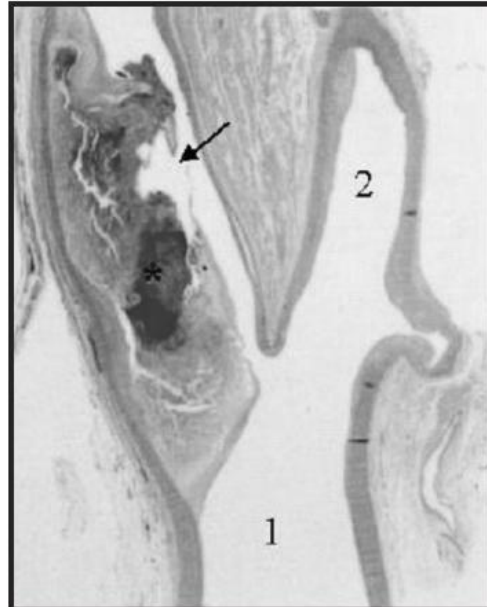
Actividades

1. ¿Cuál es el componente del “core” de la placa de ateroma?

- Gotas de lípidos, células espumosas y células musculares lisas
- Tejido conectivo y células musculares lisas
- Células espumosas y células musculares lisas
- Células espumosas y gotas de lípidos
- Proteoglicanos, macrófagos y células musculares lisas

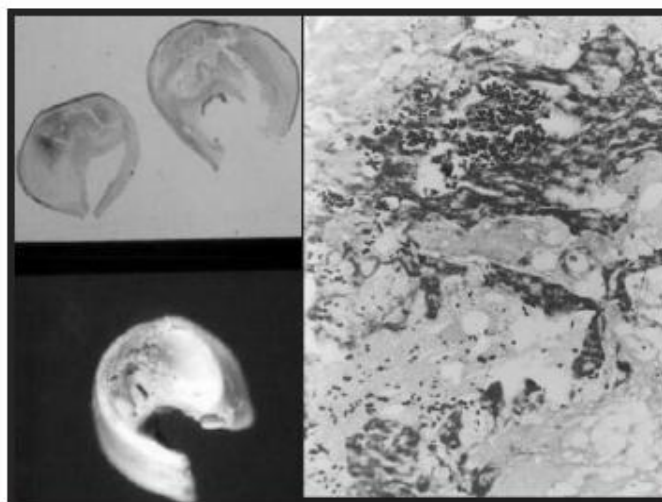
Puede haber **hemorragia** dentro de la placa, causada por rotura de la cubierta fibrosa o de los capilares de neoformación de las placas. La sangre retenida en el hematoma aumenta el volumen pudiendo provocar la rotura de la placa o la disminución de la luz arterial (Figura 6).

Figura 5
Corte sagital de la bifurcación carotídea. Se observa la arteria carótida primitiva (1), la carótida externa (2) y en la arteria carótida interna una placa aterosclerótica con una hemorragia intraplaca (asterisco) y ruptura de su cubierta fibrosa (flecha)



Observación personal tomada de referencia 41

Figura 6
Placa aterosclerótica carotídea con hemorragia intraplaca sin ruptura. Corte transversal de la arteria carótida adonde se ve macroscópicamente la hemorragia. A la derecha detalle microscópico de la hemorragia intraplaca.



Si bien la aterosclerosis en principio afecta a la capa íntima de las arterias de mediano y gran calibre, en ciertos casos y sobre todo en vasos grandes la capa media puede sufrir una atrofia con disminución del tejido elástico, llevando a una debilidad de la pared suficiente para que se forme una **dilatación aneurismática**.

Otra complicación es la **trombosis** sobreañadida, que suele desarrollarse en las lesiones en una etapa posterior a la rotura, ulceración, erosión o hemorragia. Los trombos pueden ocluir parcial o

completamente la luz arterial; por eso es la complicación más temida. Los trombos al organizarse pueden quedar incorporados a la placa ateromatosa y provocar su crecimiento.

Endotelio y aterogénesis

El endotelio es la monocapa de células que tapiza los vasos sanguíneos, no es sólo una barrera pasiva para la difusión entre la sangre circulante y las CML que están inmediatamente debajo, sino que modula la estructura y función vascular. Es un sensor y transductor de los cambios en la circulación y un generador de numerosos mediadores biológicos. Sus células son capaces de detectar cambios mecánicos ejercidos sobre su superficie, tales como cambios en la presión arterial u oclusión de una arteria y produce una gran cantidad de sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras en respuesta a estos estímulos. Estas sustancias regulan el tono vasomotor, el sistema de coagulación y trombolisis, e intervienen en el crecimiento y migración de las CML de los vasos sanguíneos.

El endotelio normal funciona a favor de la vasodilatación, la anticoagulación y la antiproliferación. Esto lo hace inhibiendo la contracción de las CML, la trombosis y la adhesión de leucocitos y monocitos. El óxido nítrico es considerado el principal regulador y su liberación basal mantiene el tono vascular en la circulación sistémica y pulmonar y por lo tanto, la presión sanguínea y permite que en condiciones normales el endotelio funcione impidiendo la adhesión plaquetaria y de monocitos.



Cuando el endotelio no ejerce adecuadamente su función, se habla de disfunción endotelial. La hipótesis del “daño endotelial” propone que el daño sobre el endotelio provoca la disfunción y el mismo sería el evento primario en la cadena de fenómenos que lleva a la formación de las placas ateroscleróticas.

La disfunción se caracteriza por el deterioro de la capacidad de los vasos de dilatarse y promover un aumento en el flujo sanguíneo. Así, el endotelio pierde su carácter inhibitorio y se reduce la disponibilidad de óxido nítrico como vasodilatador local. Pierde también la capacidad de regular el tono vascular, aumenta la adherencia de las plaquetas y monocitos y deja de inhibir la capacidad proliferativa de las CML. Aumenta la permeabilidad a LDL y también se asocia con la oxidación de LDL, transformándose así en el promotor más activo de la aterogénesis.

Estos hechos, según esta hipótesis, serían claves en la iniciación y progresión de la aterogénesis. Más aún, se ha visto que el grado de disfunción endotelial se correlaciona con la extensión de la enfermedad coronaria.

La lesión se relaciona a los factores de riesgo de disfunción endotelial: tabaquismo, diabetes, hipertensión, hipercolesterolemia, agentes infecciosos (*Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, *citomegalovirus*) es decir, los mismos factores de riesgo de enfermedad coronaria aterosclerótica.



Actividades

2- ¿Cuál de las siguientes moléculas es considerada el principal regulador del endotelio?

- a) Oxido nítrico
- b) MCP-1
- c) IL-8
- d) MIP-1 α

Aterogénesis

Durante la aterogénesis ocurren básicamente 3 eventos principales, aunque con una secuencia sujeta a controversias:

- a) Invasión de la pared arterial por parte de leucocitos, básicamente monocitos y linfocitos T (proceso de tipo inflamatorio)
- b) Migración y proliferación de las CML y síntesis de matriz extracelular
- c) Acumulación lipídica y retención de lipoproteínas por parte de macrófagos y CML

Distintos estímulos pueden desencadenar el mecanismo de tipo inflamatorio como por ejemplo altos niveles de colesterol sérico que actúan sobre leucocitos y células endoteliales estimulándolos para que los mismos liberen factores de tipo inflamatorio (factores de crecimiento y citoquinas), estos factores inducen sobre sí mismos la expresión de moléculas de adhesión. Se habla entonces de un endotelio “pegajoso” donde las células endoteliales expresan moléculas de adhesión como la molécula de adhesión de las células vasculares 1 (VCAM-1), a las cuales se adhieren los leucocitos que expresan receptores para estas moléculas y que intervienen en la trans migración. VCAM-1 es regulada en respuesta a la hipercolesterolemia.

Luego, los leucocitos son atraídos químicamente (quimiotaxis) hacia el interior de la pared vascular a través de un mecanismo de transducción de señales por la unión molécula-R, por citoquinas que liberan los leucocitos que arribaron tempranamente o por lipoproteínas de baja densidad que han atravesado en forma pasiva la pared y que se oxidaron durante el proceso. Estas lipoproteínas oxidadas son retenidas por receptores de macrófagos y CML. El exceso lipídico es tóxico para las células y mueren, constituyendo parte del “core” necrótico de la placa.

Como en otras enfermedades inflamatorias, también se producen quimioquinas, cuya función es reclutar leucocitos. Además de las células inflamatorias, las CML y las células endoteliales pueden expresar estas quimioquinas, sobre todo: interleukina 8 (IL-8), proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1), proteína inflamatoria de macrófagos-1 α (MIP-1 α) y citoquina expresada y secretada en células T normales, regulada al activarse (RANTES) bajo estimulación con citoquinas inflamatorias.

Células musculares lisas

Las CML juegan un papel central en la aterosclerosis temprana y en la establecida, por eso parte de nuestros estudios están focalizados en estas células. Representan el 50% de los componentes celulares en placas crónicas y pueden llegar a ser el 90% en lesiones tempranas.

Como se mencionó anteriormente, está ampliamente demostrado que las CML tienen la capacidad de migrar desde la media a la íntima, bajo distintos tipos de estimulación, mediante movimientos de tipo ameboide. Una vez allí, proliferan y producen distintas sustancias como componentes de matriz extracelular (proteoglicanos) y enzimas proteolíticas. Además acumulan colesterol esterificado, lo cual favorece también la progresión de la enfermedad junto con la acumulación de restos necróticos.

La migración, proliferación y diferenciación de CML y macrófagos son respuestas patológicas que contribuyen al desarrollo y progresión de lesiones arteriales. Todo este proceso constituye la “activación de las CML”.

La proliferación de las CML constituye un paso clave en el camino de la aterogénesis y puede estar dirigida por células inmunes/inflamatorias o bien desarrollarse en forma autócrina.

En el primer caso, las células inmunes/inflamatorias producen diferentes moléculas (factor de crecimiento derivado de las plaquetas, PDGF; factor de crecimiento epidérmico, EGF; interleukina 1 β , IL-1 β ; factor de necrosis tumoral α , TNF α ; etc.) que actúan como mitógenos, activan factores de transcripción, así como también proto-oncogenes como el c-fos y c-myc, que

regulan la expresión de genes involucrados en la respuesta inflamatoria/proliferativa de las lesiones.

Como se describió previamente, el antígeno nuclear de proliferación celular, PCNA y el c-fos son marcadores de la actividad proliferativa. La expresión aumentada del gen c-fos tiene un efecto mitogénico sobre las células luego de la migración.

La proteína supresora de tumores p53 también está involucrada en este proceso. Es una molécula esencial en la proliferación celular y la muerte celular programada (apoptosis), posee un efecto inhibitorio sobre la proliferación celular ya que inhibe la síntesis de ADN. Normalmente p53 tiene una vida media corta por lo cual no suele detectarse.



Actividades

3-¿Cuáles de las siguientes moléculas actúan como mitógenos y activadores de la transcripción?

- IL1B, TNF α , PDGF, EGF, PCNA, c-fos, p-53, c-myc
- PCNA, c-fos, p53, c-myc
- IL1B, PCNA, PDGF, EGF, c-myc
- IL1B, TNF α , PDGF, c-fos, p53
- IL1B, TNF α , PDGF, EGF

La mutación de este gen lleva a la expresión de una proteína antigénicamente idéntica, pero metabólicamente más estable, que tiene un tiempo de vida mayor y posee sus propiedades regulatorias alteradas sobre el crecimiento celular. El resultado es la estimulación de la proliferación celular y una apoptosis desregulada. Usando anticuerpos específicos puede localizarse esta proteína p53 mutada acumulada en el núcleo por poseer un tiempo de vida más largo. Así, p53 cumple un papel importante en la patogénesis y progresión de una serie de enfermedades incluyendo la aterosclerosis.

En un estudio de nuestro grupo, se analizaron “placas ateroscleróticas estables e inestables” o “no complicadas y complicadas”, mediante técnicas inmunohistoquímicas para analizar la evolución de las mismas. Se observó positividad de PCNA, c-fos y p53 en todas las placas inestables de pacientes sintomáticos. Los resultados fueron negativos en los pacientes asintomáticos, demostrando la importancia de PCNA, c-fos y p53 como marcadores de la biología vascular y del proceso aterogénico. Esta serie tuvo gran importancia, no sólo por sus hallazgos concretos sino por la apertura en la búsqueda de marcadores moleculares de inestabilidad de placa. En otras palabras, mirar a la enfermedad desde un nuevo ángulo que se puede complementar con la imagenología, patología, etc.

En el caso de la estimulación autócrina de la proliferación, se ha visto que las CML provenientes de ateromas humanos son capaces de regular por si mismas su proliferación secretando factores mitogénicos como el PDGF, por lo menos en los estadios tempranos de la aterogénesis.

En humanos, las CML expresan sólo una de las dos cadenas polipeptídicas del PDGF (se han evidenciado mRNAs de la cadena A en cultivos de CML provenientes de placas ateroscleróticas humanas). Cabe hacer notar que se han purificado homodímeros AA de PDGF en células derivadas de osteosarcomas humanos, lo que enfatiza el paralelismo de la aterosclerosis y las neoplasias como ya se ha propuesto. El concepto de que una célula pueda generar su propio estímulo mitogénico se deriva de los estudios de transformación neoplásica.



Actividades

4- Marque verdadero o falso según corresponda

- La proteína p53 mutada produce apoptosis desregulada
- La aterosclerosis es la variedad que más a menudo se asocia a hipertensión arterial y diabetes mellitus
- El proto-oncogen c-fos pertenece a la familia de genes tardíos
- Las células musculares lisas desempeñan un papel central en la aterosclerosis temprana y en la establecida

Una vez en la íntima, las CML muestran cambios fenotípicos con respecto a las CML de la media, las células hasta ese momento contráctiles (no proliferativas) se convierten en células sintetizadoras (proliferativas). Los mecanismos que regulan este fenómeno, en particular el que tiene que ver con el cambio fenotípico de las CML de la íntima están siendo investigados y se los denomina “modulación fenotípica”.

Se plantean entonces 2 hipótesis posibles que no son mutuamente excluyentes. Estas hipótesis se están estudiando ampliamente y aún permanecen en discusión:

- Las CML provenientes de la media son moduladas por diversos estímulos durante su traslado y desarrollan este nuevo fenotipo sintetizador. Estos estímulos podrían ser factores hemodinámicos, químicos, humorales (angiotensina, etc.), agentes infecciosos (*Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, etc) o factores producidos por linfocitos T y macrófagos. Estos producirían alteraciones genómicas clonales en las CML generando una proliferación selectiva. Esta es la hipótesis más predominante.
- Existe una subpoblación de CML “predispuesta” presente en la capa media arterial con características fenotípicas diferentes que sería responsable de la producción del engrosamiento intimal. La presencia de una subpoblación de CML distinta en la pared arterial implica que bajo condiciones normales, las CML son fenotípicamente heterogéneas.

En un trabajo reciente se demuestra la existencia de subpoblaciones distintas de CML en las arterias sanas y patológicas de varias especies, incluyendo a humanos. Se describen entonces 2 fenotipos existentes: el fenotipo contráctil es típico de una arteria diferenciada y el fenotipo sintetizador, es típico de arterias en desarrollo o patológicas.

Cuando se caracterizan morfológicamente a las CML *in vitro* y en todas las especies estudiadas, se consideran nuevamente 2 fenotipos: CML alargadas, obtenidas de capas medias normales y CML epitelioides obtenidas de arterias con engrosamiento intimal post lesión endotelial.

Se ha comprobado que se pueden obtener clones celulares de ambos fenotipos tanto en capas medias normales como en íntimas engrosadas, pero difieren las proporciones de los fenotipos exhibidos.

Las características principales de las CML de fenotipo epitelioides son:

- Aumento de la actividad proliferativa
- Aumento de la actividad migratoria
- Aumento de la actividad proteolítica
- Pobre nivel de diferenciación (definido por la expresión de proteínas contráctiles y citoesqueleto)
- Alta sensibilidad a estímulos apoptóticos

En cuanto a la diferenciación, para separar ambos fenotipos se estudiaron también las proteínas del citoesqueleto, las cuales constituyen los marcadores de diferenciación. Por ejemplo, la α -SM actina se expresa en las CML vasculares, aún en estadios tempranos del desarrollo, por eso es un marcador general de este linaje celular. Si bien se expresa permanentemente en las CML, lo hace en forma más abundante en el fenotipo contráctil o alargado.

Además, en condiciones normales las CML de la capa media arterial expresan actina especialmente en su isoforma α . En engrosamientos experimentales de la íntima aórtica de rata mediante lesión endotelial, en placas de ateroma de humanos y en cultivos de CML aórticas de rata (luego de producido el daño), se produce un “switch”, un cambio en la expresión con predominancia de la isoforma β y una cantidad notable de la forma γ . Este cambio en el patrón de expresión representaría un posible nuevo marcador químico de estas células patológicas. Con respecto a otras proteínas del citoesqueleto, en grandes animales los niveles de expresión de desmina se mantienen en el fenotipo alargado, mientras que se vuelven casi indetectables en el fenotipo epiteliode o romboide; también se expresan mayores niveles de SMMHC (cadena pesada de miosina de músculo liso) en el fenotipo alargado que en el romboide. En el caso de otras proteínas como smoothelina, SM22 α , calponina, h-caldesmina metavinculina, también son más abundantes en el fenotipo alargado que en el epiteliode.

La apoptosis participaría en la regulación de la celularidad en los procesos de re-estenosis postangioplastia y en la estabilidad de la placa.



La existencia de al menos 2 fenotipos podría reflejar un distinto origen embriológico (mesenquimático y cresta neural). Por lo tanto, debido a que las CML provienen embriológicamente de distintos órganos parenquimatosos, existe una diversidad de estas células en las diferentes arterias, haciendo que respondan de modo diferente a los distintos estímulos locales. Esto explicaría el por qué los distintos lechos vasculares se comportan de manera tan distinta con respecto a la aterosclerosis.



Actividades

5-¿Cuál de las siguientes opciones **NO** corresponde a una característica de las células musculares lisas de fenotipo epiteliode?

- Aumento de la actividad proliferativa
- Aumento de la actividad migratoria
- Pobre nivel de diferenciación
- Disminución de la actividad proteolítica

Origen monoclonal de la lesión aterosclerótica

Las placas de ateroma humanas tienen características de una lesión de tipo monoclonal. Se ha demostrado mediante la técnica de PCR que la monoclonalidad en la placa involucra exclusivamente a las CML y que el aumento de su capacidad proliferativa suele asociarse con una tendencia a la inestabilidad cromosómica.

Un estudio realizado por nuestro grupo, ha revelado diferentes alteraciones cromosómicas en las CML de placas ateroscleróticas inestables. Se utilizaron carótidas extraídas por endarterectomía a pacientes con enfermedad oclusiva. Se ha evidenciado que en un alto porcentaje de placas aparece en las CML trisomía y tetrasomía del cromosoma 7 y en un menor porcentaje, monosomía del cromosoma 11. Además se observó amplificación del gen FGF-3 (factor de crecimiento fibroblástico), el cual se ubica en el cromosoma 11, tanto en los casos de ploidía normal como cuando hay monosomía del cromosoma 11.

La presencia de un cromosoma 7 extra en las CML de las placas estaría correlacionada con la sobre-expresión del gen de la cadena A del PDGF que como se mencionó previamente provocaría un incremento en la proliferación de las CML. Asimismo, el factor de crecimiento epidérmico está localizado en este cromosoma.

Esto último vuelve a sugerir que las lesiones se tratan de una expansión de carácter monoclonal.

Con respecto al factor de crecimiento fibroblástico-3 (FGF-3), en otros trabajos se vio que sus transcritos se acumulan en células de clones tumorogénicos. Su actividad fisiológica incluiría actuar como un potente mitógeno estimulando la angiogénesis, desarrollo cerebral, formación de cartilago y reparación de tejidos blandos.

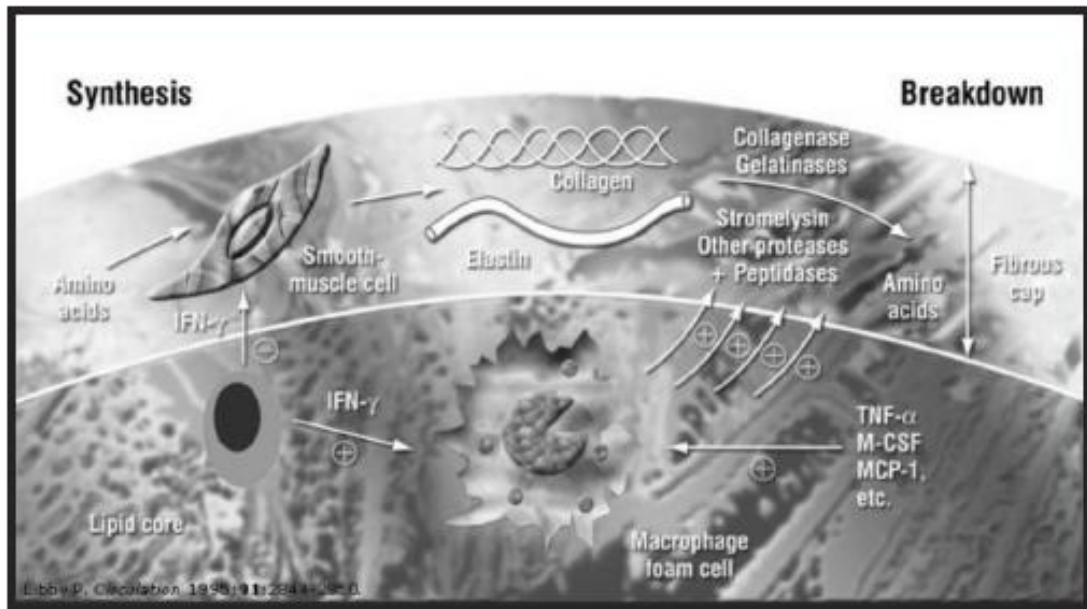
Si bien estas anomalías remarcan la idea de la expansión clonal en la formación de la placa, aún no queda claro si contribuyen a la proliferación celular o si son la consecuencia de otros factores o estímulos.

Complicación de la placa

La importancia clínica del proceso aterogénico radica en la transformación de una placa estable a una inestable. La “ruptura de la placa” se asocia a la presencia en las cubiertas de un gran infiltrado de macrófagos (CD68+), linfocitos-T y escasas células B. Estas placas y aquellas con grandes cantidades de lípidos y cubiertas delgadas y poco fibróticas son consideradas “placas en riesgo”; estas cubiertas pueden ulcerarse y entonces queda expuesto al flujo sanguíneo el centro necrótico altamente trombogénico, resultando en la formación de un trombo que puede viajar distalmente y ocluir vasos más pequeños o bien producir, de acuerdo al sitio de la placa trombosada, infarto de miocardio, accidente cerebro vascular (ACV) o gangrena en las extremidades (Figura 7).

Figura 7

Esquema sobre la formación de la placa aterosclerótica y los mecanismos que inducen ruptura de la cubierta fibrosa



Modificado de Libby, Circulation 1995; 91:2844-50

La “hemorragia intraplaca sin ruptura de placa”, en cambio, se caracteriza por una extensa vascularización y es causada por la ruptura de los vasos de neoformación (CD31+ y CD34+) en el núcleo, base y periferia de la placa.



Actividades

6- La ruptura de la placa se asocia a la presencia de

- a. Linfocitos-T
- b. Proteínas como smoothelina, SM22 α , calponina
- c. Un gran infiltrado de macrófagos (CD68+), linfocitos-T y escasas células B
- d. Ninguna es correcta

Placa Vulnerable

Si bien el concepto de vulnerabilidad de placa se ha planteado hace aproximadamente 20 años, ha sido últimamente cuando se le ha prestado mayor atención. El concepto se refiere a las características de la placa aterosclerótica que la hacen propensa a sufrir accidentes de placa.

Cápsula Fibrosa Delgada: se ha estudiado el grosor de las cápsulas fibrosas de las placas ateroscleróticas de pacientes fallecidos por SCAs, y en más del 95% de los casos estos presentaron cápsulas fibrosas con un grosor inferior a los 65 μm . En estudios realizados sobre placas carotídeas, el grosor crítico parece ser 80 μm y en placas aórticas 130 μm . El adelgazamiento de la cápsula está causado por la disminución del colágeno, producido por 2 fenómenos:

1. Disminución de CMLs en la cápsula, que se debe a la apoptosis de las mismas. Siendo las CMLs las principales productoras de la matriz extracelular de la cápsula, se produce una disminución del espesor de la misma.
2. Infiltración de la cápsula por macrófagos, que producen metaloproteinasas que degradan la matriz.

Núcleo rico en lípidos: el tamaño del núcleo lipídico parece tener una relación directa con el riesgo de ruptura. Si bien no se conocen con precisión los mecanismos, se supone que la falta de soporte mecánico por la matriz extracelular ternaría a la placa más frágil. Por otra parte el núcleo lipídico es altamente trombogénico al ser expuesto. También se especula que podría desempeñar algún papel en la degradación de la matriz extracelular. La hemorragia dentro del núcleo es otro factor que produce vulnerabilidad.

Tamaño de la Placa: si bien se observó que las placas más grandes son más proclives a los accidentes, esto en realidad tiene más relación con el tamaño del núcleo lipídico que con el tamaño de la placa en sí.

Tipo de Remodelación: se refiere a si el remodelamiento de la pared arterial consecuente a la presencia de la placa hace que ésta crezca hacia la luz, produciendo mayor estenosis (remodelamiento constrictivo), o hacia afuera, produciendo aumento del diámetro de la arteria (remodelamiento expansivo). El remodelamiento expansivo se relaciona más con los accidentes de placa, pero esto se explicaría porque las placas expansivas tienen núcleos lipídicos de mayor tamaño, mientras que las constrictivas suelen tener más fibrosis.

Infiltrado Inflamatorio: el infiltrado mononuclear en la placa se correlaciona con los accidentes de la misma. Esto estaría relacionado con la degradación de la matriz extracelular que los macrófagos producen.

Presencia de Neovasos: es otro factor que se ha asociado a la ruptura de placa.

Aterosclerosis carotídea

La aterosclerosis carotídea es un buen ejemplo para comprender la importancia de las lesiones en la génesis de las complicaciones clínicas. Recientemente estudiamos 281 piezas quirúrgicas de endarterectomías de 272 pacientes, 213 de género masculino y 68 del femenino; 133 eran sintomáticos y 148 asintomáticos. Las placas se dividieron en 7 grupos:

1. Ruptura de placa más trombosis: n=20 (7%)

La cubierta tenía un espesor variable. La zona de rotura estaba cubierta por un trombo y en varios casos, el trombo se extendía hacia el núcleo lipídico, en relación directa con el depósito de lípidos extracelulares. Los bordes de la lesión estaban infiltrados por un gran número de macrófagos.

2. Rotura de placa más hemorragia intraplaca y trombosis: n = 51 (18%)

Aquí se agregaba una extensa disrupción por la hemorragia intraplaca.

3. Rotura de placa más hemorragia intraplaca: n = 52 (19%)

Estas lesiones presentaron una extensa hemorragia en el interior de la placa con separación de sus distintos componentes y desgarro intimal.

4. Placa dura ulcerada: n = 7 (2%)

Estas placas prácticamente carecían de núcleos lipídicos y estaban formadas por tejido conectivo laminado, con la capa fibrosa erosionada y extensas áreas calcificadas.

5. Hemorragia intraplaca sin ruptura (HIP): n = 75 (27%)

Las superficies intimales no mostraban evidencia de depósitos plaquetarios o de fibrina. Las hemorragias variaron en extensión desde microscópicas, microfocales o “en hendidura” hasta hemorragias masivas (con elevación y desplazamiento de la cubierta ocasionando estenosis oclusiva o suboclusiva).

6. Placa dura estable no complicada: n = 58 (21%)

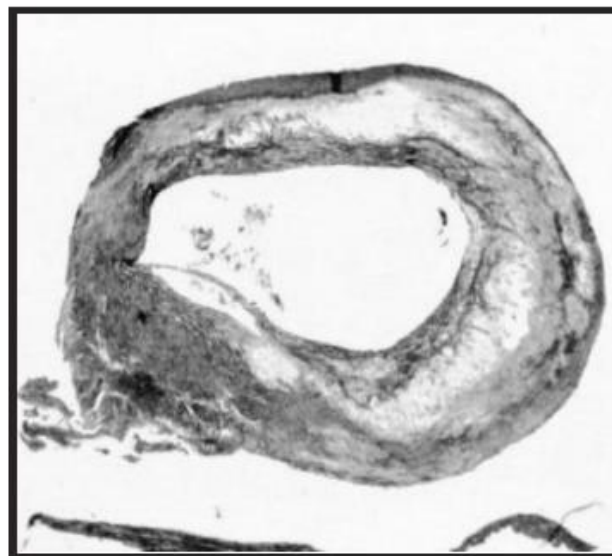
Estaban constituidas por láminas de tejido conectivo fibroso, pequeños núcleos lipídicos, detritus celulares y masas irregulares de material calcificado.

7. Placa inestable blanda, no complicada: n = 18 (6%) (Figura 8)

Se caracterizaron por tener cápsulas fibrosas y un rico núcleo lipídico con extensa vascularización, lo que las hacía propensas a padecer hemorragia y trombosis en el futuro. Las placas se clasificaron en dos subgrupos:

1. Complicadas (los primeros cinco tipos morfológicos) y no complicadas.
2. Con ruptura (los primeros cuatro tipos morfológicos) y placas sin ruptura.

Figura 8
Placa blanda con una fina cubierta fibrosa y abundante núcleo lipídico



Observación personal tomada de Milei y Beigelman, Rev FAC 1994; 23:267-270.

Placas complicadas vs. no complicadas

Las placas complicadas (205/281) presentaron un infiltrado mononuclear en la periferia, hombros y base en 137/205 (67%) de los casos, a diferencia de las placas no complicadas donde sólo 22/76 (29%) presentaron infiltrados ($p < 0.0001$).

Las placas complicadas presentaban vasos de neoformación en la periferia, hombros y base en 146/205 (71%) de los casos, mientras que estos vasos se encontraron en sólo 38/76 (50%) de las placas no complicadas ($p < 0.001$).

Placas con ruptura vs. sin ruptura

Las placas con ruptura y sin ruptura, presentaban infiltrados en la cubierta y hombros 108/130 (83%) y 22/151 (15%) respectivamente ($p < 0.0001$).



Actividades

7- Enumere los cambios que puede sufrir la placa complicada

Arteria carótida externa

Estas arterias presentaban la típica histopatología de la ateromatosis avanzada en 51/281 (18%) de los casos. Sólo 2 de 51 casos afectados presentaban la placa complicada. Esto resulta en una diferencia significativa cuando se la compara con las placas complicadas de la arteria carótida interna (2/51 vs. 205/281, $p < 0.001$). El bajo compromiso en la lesión ateromatosa y sus escasas consecuencias se explicarían por perfiles de flujo de baja velocidad y menor “shear stress” de la pared en la carótida externa comparada con la interna.

Hallazgos inmunohistoquímicos

En el sitio de la ruptura, la capa fibrosa mostró una superficie erosionada caracterizada por la pérdida del revestimiento endotelial. Por el contrario, las superficies conservadas mantuvieron el revestimiento sin lesión de las cubiertas ni de las células endoteliales.

La continuidad de la capa de células endoteliales marcadas con Factor anti VIII, anti-CD31 y anti-CD34 estaba interrumpida en el sitio de la ruptura. Las células inflamatorias consistentes en macrófagos (CD68+) constituían los 2/3 del total de los infiltrados, mientras que el 1/3 restante eran linfocitos-T y unos pocos linfocitos-B. Las células CD8+, predominaban entre los linfocitos-T, mientras que las CD4+ eran muy escasas. Esta imagen fue observada en 83% de las placas con ruptura.

Se reconocieron dos tipos diferentes de depósitos de lípidos. Los núcleos lipídicos vascularizados presentaban una reacción positiva con CD34 y CD31 y tenían desde vasos neoformados con paredes finas hasta otros con paredes gruesas, en asociación con hemorragia intraplaca. Los vasos de neoformación expresaron más intensamente CD34, antígeno presente en células endoteliales y progenitoras que CD31, el cual es una molécula de adhesión de expresión variable. Se demostró una estrecha relación entre los linfocitos T y los neovasos y se evidenciaron imágenes de migración transendotelial. Las células espumosas del núcleo lipídico expresaron también el antígeno CD68. Por el contrario 27/58 placas estables no-complicadas, contenían tejido fibroso denso con pequeñas cantidades de lípidos y estaban intensamente infiltradas por células del músculo liso (HHF35+).

En 184 de 281 (65%) de los casos la base y los hombros de las placas mostraban vasos de paredes finas o formaciones nuevas de paredes gruesas y vasos positivos para la reacción con CD34 y

HHF35, que estaban rodeados de infiltrados moderados a extensos (macrófagos y linfocitos-T, principalmente CD8+). Las placas estables no complicadas tenían escaso infiltrado inflamatorio.

La túnica media estaba compuesta por sólo 5 a 12 hileras de células musculares lisas con su eje longitudinal orientado circunferencialmente. Como lo demostró la inmunomarcación para actina, el borde de la endarterectomía pasaba a ese nivel. Se demostró claramente una abundante cantidad de capilares normales de pared fina, orientados longitudinalmente siguiendo al eje mayor de las células musculares. Aunque esta túnica no pertenece a la placa en si misma, es de particular importancia por su vascularización. Se pudo realizar una clara distinción entre los neovasos de las bases y periferia de la placa ateromatosa y los capilares adyacentes de la media originados en los *vasa vasorum*.

Las placas carotídeas con ruptura, estaban caracterizadas por una extensa infiltración de macrófagos en el sitio de la erosión, indicando la presencia de un proceso inflamatorio que a través de la degradación enzimática de la cubierta fibrosa por los macrófagos la desestabiliza y, de esta manera debilita el sitio que presentará la posterior ruptura.

La ruptura de la capa fibrosa (46% de los casos) causó trombosis en el 7%, hemorragia intraplaca (HIP) con trombosis en el 18% y hemorragia intraplaca aislada en el 19%. Es interesante destacar, que a pesar que este terreno es extremadamente apto para la instalación de un proceso trombótico, la ruptura de las placas carotídeas en nuestros especímenes causó trombosis en solo el 25% de los casos.

Clásicamente las hemorragias se atribuyeron al desgarro por el estrés mecánico de los frágiles vasos neoformados, al flujo turbulento y a la vibración de la pared engrosada de la arteria carótida por la presencia de la placa. En otros trabajos, la HIP estuvo asociada con un aumento de la metaloproteinasa-1 de la matriz y los macrófagos en la capa fibrosa, sugiriendo el papel de los mediadores inflamatorios en la lesión de los vasos. Finalmente se debe destacar que las HIP pueden ocurrir en cualquier momento de la historia de la placa carotídea.

En el 46% de los especímenes de las endarterectomías estaba presente la ruptura de la placa. Sin embargo sólo 67/130 (52%) de los casos pertenecían a pacientes sintomáticos. Por otro lado una alta proporción de pacientes asintomáticos (48%) presentaban placas complicadas, señalando la falta de correlación entre placa complicada y la sintomatología cerebral.

Coincidiendo con este hecho se han identificado rupturas de placas coronarias en pacientes fallecidos por causas no cardíacas, por lo que el hallazgo de rupturas de placa con/sin hemorragia en las arterias carótidas, que cursen sin manifestaciones sintomáticas parece ser un hecho probable en esta patología.



Estudios recientes, hechos a ciegas, señalan que la asociación "placa complicada-pacientes sintomáticos" no existiría.

El estudio NASCET demostró que la mayoría de los ACV por enfermedad carotídea ocurren sin síntomas previos, y sólo el 5-15% de los pacientes experimentan un ataque isquémico transitorio como síntoma prodromático del ACV. Por lo tanto la ausencia de síntomas no debiera considerarse como un factor esencial para decidir la intervención quirúrgica.

Aproximadamente 70% de los especímenes obtenidos de endarterectomías carotídeas tenían en las placas trombos, hemorragias o ambos. La trombosis se observó en un cuarto de los casos mientras que la hemorragia intraplaca estaba presente en por lo menos los dos tercios de los mismos. Sesenta y cuatro por ciento de los especímenes presentó neovascularización de la placa.

No fue posible demostrar que las placas complicadas (ruptura de la placa, trombosis y hemorragia intraplaca) estuviesen asociadas significativamente con los síntomas cerebrales y, de acuerdo a nuestros resultados, parece razonable afirmar que estos tipos de placas pueden ocurrir en cualquier momento de la evolución del paciente sin manifestaciones clínicas.



Por lo tanto, considerando que el beneficio de la cirugía en el estudio NASCET fue mayor en los casos de más alto grado de estenosis, nuestros hallazgos nos permiten aseverar que la placa carotídea complicada podría pasar desapercibida en pacientes asintomáticos y desarrollar un ACV en cualquier momento de la evolución. En consecuencia, la indicación quirúrgica debería basarse en el grado de estenosis independientemente de la existencia o no de síntomas previos.



Actividades. Clave de respuestas

1-d

2-a

3-e

4-

- a) Verdadero
- b) Falso
- c) Falso
- d) Verdadero

5- d

6- c

7- Calcificación/ Ruptura/ Ulceración/ Embolia/ Hemorragia

Bibliografía

Alsheikh-Ali AA, Kitsios GD, Blak EM, et al. The Vulnerable Atherosclerotic Plaque: Scope of the Literature. *Ann Intern Med* 2010;153:387-395

Benditt EP, Benditt JM. Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques. *Prot Natl Acad Sci USA* 1973;70:1753-6.

Bentzon JF, Falk E. Pathogenesis of Stable and Acute Coronary Syndromes. En Théroux P. *Acute Coronary Syndromes. A Companion to Braunwald's Heart Disease*. 2da Edición, 2011. Saunders. Filadelfia

Campbell GR, Campbell JH. The phenotypes of smooth muscle cells expressed in human atheroma. *Ann NY Acad Sci* 1990;598:143-58

Cicha I, Wörner A, Urschel K, et al. Carotid Plaque Vulnerability. *Stroke* 2011;42:3502-3510

Hanke H, Lenz C, Finking G. The discovery of the pathophysiological aspects of atherosclerosis—a review. *Acta Chir Belg* 2001;101(4):162-9

Ibikiyama C. Angiogenesis. Angiogenic therapy using fibroblast growth factors and vascular endothelial growth factors for ischemic vascular lesions. *Jpn Heart J* 1996;37:285-300

Kistler JP, Furie KL. Carotid endarterectomy revisited. *N Engl J Med* 2000;342:1743-5

Lavezzi AM, Milei J, Grana DR, Flenda F, Basellini A, Matturri L. Expression of c-fos, p53 and PCNA in the unstable atherosclerotic carotid plaque. *Int J Cardiol* 2003;92(1):59-63

Libby P, Warner SJC, MBBCh, Salomón RN, Birinyi L. Production of platelet-derived growth factor-like mitogen by smooth muscle cells from human atheroma. *N Engl J Med* 1988;318:1493-8

Michel JB, Virmani R, Arbustini E, Pasterkamp G. Intraplaque hemorrhages as the trigger of plaque vulnerability. *European Heart Journal* 2011;32:1977-1985

Milei J, Parodi JC, Fernández Alonso G, Barone A, Grana D, Matturri L. Carotid rupture and intraplaque hemorrhage: Immunophenotype and role of cells involved. *Am Heart J* 1998;136:1096-105

Milei J, Parodi JC, Ferreira M, Barrone A, Grana DR, Matturri L. Atherosclerotic plaque rupture and intraplaque hemorrhage do not correlate with symptoms in carotid artery stenosis. *J Vasc Surg* 2003;38:1241-7

Milei J, Ottaviani G, Lavezzi AM, Grana DR, Stella I, Matturri L. Perinatal and infant early atherosclerotic coronary lesions. *Can J Cardiol* 2008;24(2):137-41

Panza J, Cannon III R. Endothelium, nitric oxide, and atherosclerosis: from basic mechanisms to clinical implications. 1st ed. Armonk (NY): Futura Publishing Company Inc., 1999

Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362:801-9

Ross R. Atherosclerosis: a defense mechanism gone. *Am J Pathol* 1993;143:987-1002

Virmani R, Narula J, Farb A. When neoangiogenesis ricochets. *Am Heart J* 1998;136: 937-9