

El NO se sintetiza a partir de la L-arginina por la acción de NOS y se cree que se difunde libremente a través de las membranas. Actualmente se conocen cuatro isoformas de esta enzima, que contiene un grupo hemo y requiere la acción de la tetrahidrobiopterina (BH4) para ser activa. Las isoformas se distinguen según si son constitutivas (dependientes de calcio y calmodulina) como la NOS endotelial, NOS neural, NOS mitocondrial, o si son inducidas (no están reguladas por los iones calcio) como la NOS inducible.

En cuanto a los mecanismos de acción del NO estos pueden clasificarse según si son:

- a) *independientes de 3',5'-guanosina monofosfato cíclica (cGMP)*: son los efectos derivados de la interacción entre el NO con oxígeno o superóxido y la consiguiente formación de las especies reactivas de nitrógeno
- b) *dependientes de cGMP*: son el principal mecanismo de acción del NO y aparecen tras la activación, por parte del NO, de la enzima GC y la consiguiente síntesis del mensajero secundario cGMP.

Este último mecanismo de acción del NO está principalmente involucrado en la regulación del tono vascular y en el mantenimiento de las propiedades antitrombóticas del endotelio. El NO sintetizado por el endotelio (eNOS) difunde al citosol de las SMC adyacentes o al citosol de plaquetas circulantes; una vez allí se une al grupo hemo de la forma soluble de la enzima GC. Dicha unión conlleva la activación de la GC y un aumento en los niveles de cGMP en ambos tipos celulares (Walter U., 1989). La activación de la proteína quinasa dependiente de cGMP deriva en la fosforilación de los transportadores de calcio y consiguientemente la disminución de la concentración de calcio intracelular (Krumenacker JS R y cols., 2004). La disminución de calcio produce relajación de las SMC vasculares y/o disminución en la expresión de glicoproteínas expresadas en la superficie plaquetar, tales como la P-selectina y GPIIb/IIIa (Bodzenta-Lukaszyk y cols., 1994).

En el caso de las plaquetas, el NO puede ejercer sus propiedades antitrombóticas por una vía independiente de cGMP, a saber, en presencia de anión superóxido el NO forma peroxinitrito que inhibe la COX y disminuye así la producción de TXA2 (**Figura 5**).

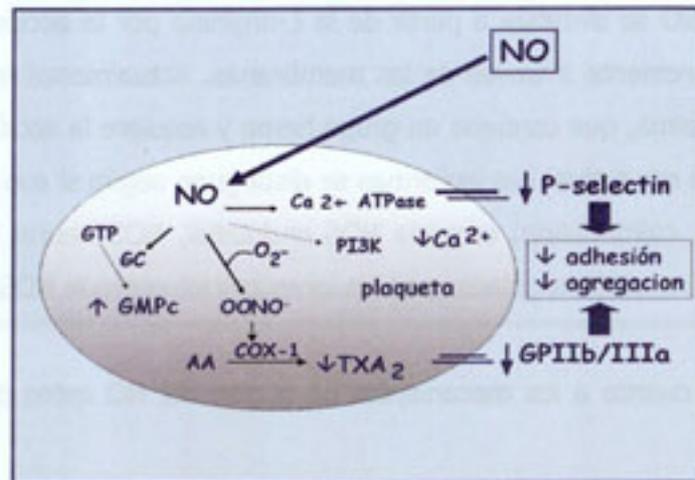


Figura 5.- Efectos del NO a nivel plaquetar.

A pesar de la importancia del NO, las propiedades antitrombóticas y vasodilatadoras de la superficie endotelial también son consecuencia de las acciones de la PGI₂. La PGI₂, al igual que el NO, es un potente vasodilatador local y un potente inhibidor de la agregación plaquetar sintetizada por el endotelio (Vane JR & Moncada S., 1980). Sin embargo, a diferencia del NO, los efectos fisiológicos antiplaquetares de la PGI₂, están mediados por el aumento de adenosina monofosfato cíclica (cAMP) y además, PGI₂ no inhibe la adhesión plaquetar.

3.2.2 EL ENDOTELIO DISFUNCIONAL

La exposición crónica y repetida a los factores de riesgo cardiovascular (infecciones víricas, complejos inmunes, stress hemodinámico, productos del tabaco, altos niveles de colesterol, enzimas eicosanoides liberadas por plaquetas y leucocitos en los estados de inflamación, hiperhomocisteinemia y diabetes) produce una activación/disfunción endotelial caracterizada por una disminución en la biodisponibilidad de NO y todos los mecanismos fisiológicos de protección cardiovascular que de él derivan.

Por ello, valores anormalmente elevados de lípidos plasmáticos están relacionados con una alteración de la respuesta vasomotora de origen endotelial (Furchgott RF y cols., 1980; Liao JK., 1995). De hecho, la disminución de la L-arginina asociada a hipercolesterolemia parece disminuir la síntesis de NO. Uemura S. (2000) demostró que la administración crónica de L-arginina para restablecer la actividad de eNOS en conejos hipercolesterolémicos estaba asociada con un retraso en la progresión de la aterosclerosis y una reducción en el área de la lesión y su grosor. Del mismo modo, la presencia de un mayor estrés oxidativo vascular, a causa de un aumento en la producción de especies

reactivas de oxígeno (ROS) endógenas, puede producir disfunción endotelial y la consiguiente disminución en la biodisponibilidad de NO. Este incremento en la generación de ROS (sobre todo superóxido) en la pared vascular puede darse por:

- a) la activación de sistemas enzimáticos como el NADPH oxidasa, que se ha identificado en células vasculares y ha mostrado producir grandes cantidades de ROS en respuesta a la angiotensina II, trombina, factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), o fuerzas mecánicas elevadas (De Keulenaer y cols., 1998).
- b) la activación de la enzima xantina oxidasa (Nakazono y cols., 1991)
- c) mediante NOS misma, ya que en ausencia de sustrato (L-arginina) o BH₄, NOS sintetiza superóxido en vez de NO. Por ello factores de riesgo coronarios que disminuyen la cantidad de L-arginina o BH₄ pueden mediar la formación de ROS por NOS (Cai H & Harrison DG., 2000), formando peroxinitrito mediante una reacción que consume NO tres veces más rápidamente que el catabolismo propio del superóxido por la enzima superóxido dismutasa (Beckman & Koppenol., 1996).

Los niveles aumentados de ROS influyen en la expresión de NO mediante la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), pues son las lipoproteínas más susceptibles de sufrir modificaciones oxidativas. Las LDL son partículas muy ricas en colesterol que provienen en su mayor parte del metabolismo de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), cuya función básica consiste en la distribución del colesterol a los diferentes tejidos. Las partículas de LDL oxidadas reducen los niveles de NO, ya sea mediante la disminución en la expresión de eNOS a nivel post-transcripcional (disminución de su síntesis) (Liao JK y cols., 1995) o, directamente, mediante la formación de peroxinitritos lipídicos (aumento de su inactivación).

Igualmente, los niveles elevados de LDL nativas también producen una regulación a la baja de la enzima eNOS (Vidal F y cols., 1998). Recientemente, hemos demostrado que estas LDL nativas (no oxidada) producen una regulación transcripcional del gen y de los niveles proteicos de eNOS en las células endoteliales humanas en cultivo (Martínez-González J., 2001; Rossig L y cols., 2002). Estudios *in vivo* en nuestro grupo han evidenciado que la hipercolesterolemia es un factor clave en la disfunción endotelial. También hemos evidenciado que la hipercolesterolemia sistémica altera la expresión de las proteínas de unión a elementos regulados por los esteroides (SREBPs), proteínas implicadas en la regulación de genes del metabolismo lipídico (Rodríguez C y cols., 2001; Rodríguez C

y cols., 2003). Por tanto, la regulación génica a nivel transcripcional vía SREBPs podría jugar un papel relevante en la disfunción endotelial producida por niveles plasmáticos aterogénicos de LDL nativa.

Una vez establecida la disfunción endotelial, la importante reducción del NO biodisponible no sólo altera la regulación del tono vascular e irrumpe la superficie de la íntima no trombogénica, promoviendo la adhesión y agregación plaquetar, sino que también favorece la adhesión de leucocitos debido a la sobreexpresión de moléculas quimiotácticas y de adhesión junto a una respuesta elevada de citoquinas y liberación de los mediadores inflamatorios. También incrementa la permeabilidad del endotelio con la consiguiente pérdida de la función de barrera selectiva para diversas partículas y macromoléculas (especialmente LDL) (*Figura 6*).

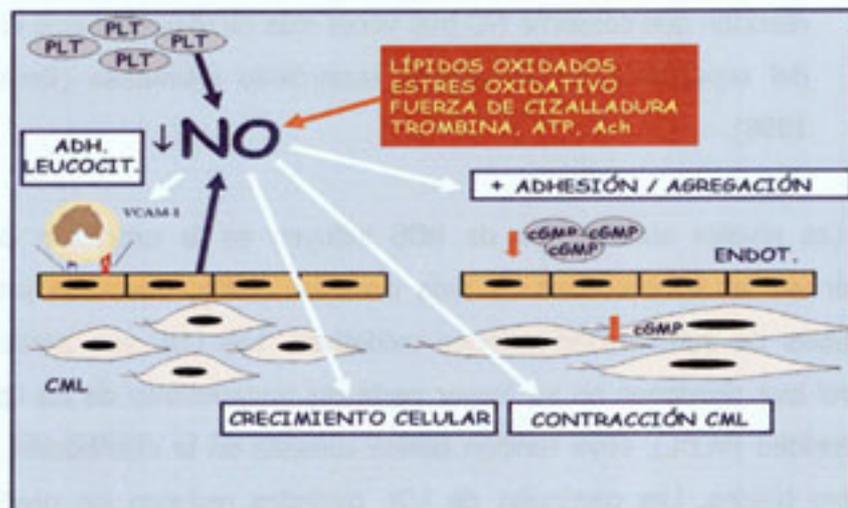


Figura 6- Repercusiones vasculares de la disminución del NO biodisponible

3.3. FORMACIÓN DE LA ESTRÍA GRASA

La presencia de la disfunción endotelial, al aumentar la permeabilidad del endotelio a las LDL, determina la formación de la estría grasa, ya que permite que las LDL se internalicen y se unan a los proteoglicanos que conforman la ECM (Olsson U y cols., 2001). Los proteoglicanos, tienen una alta capacidad de producir alteración y retención de las LDL en la íntima, contribuyendo a la acumulación lipídica y al inicio de la formación de la estría grasa (Camejo G y cols., 1993). La presencia de mayor estrés oxidativo, asociado a la disfunción endotelial, favorece la oxidación de las LDL retenidas en el espacio subendotelial (Steinberg D., 1997a). Las LDL oxidadas, altamente inflamatorias y citotóxicas, expresan antígenos de superficie que motivan la activación de una respuesta

inflamatoria que provoca la atracción de células blancas (monocitos y linfocitos-T) hacia la lesión. La acumulación de LDL oxidadas en el espacio subendotelial junto con el endotelio activado inducen la expresión de receptores y moléculas que facilitan la unión de monocitos al endotelio (Lefer & Ma, 1993) y median su internalización al espacio extravascular a través de la monocapa endotelial (Eberhardt y cols., 2000). Estas citocinas quimiotácticas y/o receptores incluyen la molécula de adhesión intercelular (ICAM), moléculas de adhesión celular vascular (VCAM), la E-selectina y MCP-1. Una vez en la íntima vascular los monocitos se diferencian en macrófagos (Ross R., 1999) quienes captarán ávidamente las LDL oxidadas transformándose en células espumosas. La perpetuación de este proceso derivará en colecciones focales de células espumosas, observadas microscópicamente como estrías grasas en la superficie de la íntima.

3.4. PROGRESIÓN DE LA PLACA ATEROSCLERÓTICA

La estría grasa puede progresar hasta la formación de la placa, aunque no todas las estrías grasas progresan. Hay dos factores clave en la progresión de la lesión: por un lado, la perpetuación de la respuesta inflamatoria con la acumulación de macrófagos y lípidos, y por otro, la proliferación y migración de las SMC.

La evolución de la inflamación, con reclutamiento de macrófagos derivados de los monocitos infiltrados, linfocitos T (Tousoulis D y cols., 2003; Hansson GK y cols., 2001) y unas pocas células cebadas (Kartinen M y cols., 1998) pueden lesionar el endotelio adyacente y por ello con frecuencia se encuentran áreas focalmente denudadas, a menudo con plaquetas adheridas al tejido subendotelial expuesto (Bürrig KF., 1991). A continuación, las plaquetas y los microtrombos contribuyen al crecimiento de la placa mediante la estimulación de células adyacentes del interior de la placa y/o su incorporación a la lesión (Falk E y cols., 1995a). Los productos de degranulación de las plaquetas (factor de crecimiento derivado de las plaquetas: PDGF), la trombina y la fibrina (fibrinógeno), poseen propiedades quimiotácticas y mitogénicas (Koenig W., 2003); por ello son probablemente decisivas para la evolución de las placas maduras. Existen además otros factores mitogénicos derivados de la sangre y ateroma, como la interleukina-1, los factores α y β de los fibroblastos, la serotonina, la tromboespondina y también neurotransmisores (catecolaminas) y hormonas (angiotensina) (Watanabee T y cols., 2001) que contribuyen al crecimiento de la lesión.

Se ha postulado que las metaloproteasas (MMP) derivadas de los macrófagos internalizados en la pared vascular (Newby AC., 1997) son las responsables de la

eliminación de la barrera de la lámina basal, facilitando así la consiguiente interacción de las SMC con los componentes de la ECM (colágeno tipo I y fibronectina) (Barnes MJ & Farndale RW., 1999). Dicha interacción induce un cambio fenotípico de las SMC, de modo que las SMC de la media, con fenotipo *contráctil*, (responsables de la vasoactividad arterial) se desdiferencian a fenotipo *sintético*. Dicho cambio fenotípico confiere a las SMC mayor actividad funcional: capacidad de migrar, dividirse y sintetizar matriz extracelular (ECM) (colágenos, proteoglicanos, elastina, etc) (Andreeva ER y cols., 1997), lo que conlleva la invasión de la lesión y la elaboración de la capa fibrosa de la placa aterosclerótica. Existen evidencias inequívocas que demuestran que las SMC procedentes de lesiones ateroscleróticas humanas y de lesiones miointimales de animales de experimentación (tras lesión vascular) tienen un fenotipo diferenciado cuando se comparan con las SMC de un vaso normal (Hao H y cols., 2003; Rao RN y cols., 2001). Este proceso de desdiferenciación se caracteriza por cambios significativos en la apariencia morfológica de las células, tales como una reducción de miofilamentos y un incremento del retículo endoplasmático rugoso y complejo de Golgi (organelas sintéticas). Muestran, además, niveles reducidos de una variedad de proteínas características de las SMC diferenciadas, tales como la actina, la cadena pesada de la miosina, la H-caldesmon, la vinculina y la desmina. Las SMC, al igual que los macrófagos, también captan y acumulan LDL modificadas transformándose en células espumosas (Llorente-Cortés V y cols., 1998; Llorente-Cortés y cols., 2002).

La ECM está constituida por fibras de colágeno y fibras elásticas en un gel viscoelástico formado por proteoglicanos, hialurano, glicoproteínas y agua. Todos estos componentes interactúan entre ellos y se entrecruzan formando un polímero reticular activo, que confiere a la pared sus propiedades biomecánicas. También presenta la capacidad de unir lipoproteínas plasmáticas, factores de crecimiento, citocinas y otras enzimas presentes en el espacio intimal. La ECM (sobre todo el colágeno que es a su vez el componente primario) juega un papel fundamental en las lesiones avanzadas ya que forma la cubierta fibrosa entorno al núcleo lipídico que contribuye a la estabilidad de las placas ateroscleróticas (Kolodgie FD y cols., 2002). Por otro lado, la interacción de la ECM con las células vasculares la hace partícipe en el desarrollo de la placa aterosclerótica, ya que contribuye a la regulación de la adhesión, migración y proliferación de las células vasculares.

Los glucosaminoglucanos (Bobryshev YV y cols., 1995) y las fibras de elastina son importantes para la captación de lípidos y contribuyen significativamente a la calcificación de la placa aterosclerótica (Steitz SA, y cols 2001). A pesar de que se desconocen los

mecanismos moleculares que regulan la calcificación vascular, diversos estudios postulan que, al igual que ocurre en la osteogénesis, hay un balance entre inductores e inhibidores de la calcificación (proteína Gla, osteocalcina, osteonectina, osteopontina, los glucosaminoglucanos y la proteína monogénica del hueso tipo 2) (Clowes MM, y cols 1998) que además se ve favorecido por el retorno al fenotipo contráctil de las SMC (Clowes MM y cols., 1998). Se ha descrito, que los cambios en las SMC miointimales parecen ser reversibles respecto a la expresión de proteínas contráctiles, ya que éstas aumentan en las SMC de las lesiones crónicas en modelos animales. Por tanto, los cambios pueden ser un requisito en el proceso de reparación con una disminución inicial, reflejando un cambio a un estado menos diferenciado, caracterizado por una capacidad de crecimiento y más tarde una rediferenciación de las células y una vuelta a su estado contráctil (Stary HC y cols., 1995).

4.- COMPLICACIÓN DE LA LESIÓN ATEROSCLERÓTICA

4.1 FACTORES DESENCADENANTES DE LA ROTURA DE LA PLACA

El factor predominante que afecta a la estabilidad de las placas ateroscleróticas es la proporción entre ECM y contenido lipídico (Davies MJ y cols., 1993). De este modo, el riesgo de rotura de la placa depende más de la composición y vulnerabilidad de la placa (tipo de placa) que del grado de estenosis (tamaño de la placa). También se ven implicadas fuerzas extrínsecas que actúan sobre las placas (desencadenantes de rotura) que pueden precipitar la rotura si hay placas vulnerables presentes.

4.1.1 PROPIEDADES INTRÍNSECAS: VULNERABILIDAD DE LAS PLACAS ATEROSCLERÓTICAS

El examen anatomopatológico de placas intactas y rotas y las pruebas mecánicas de cápsulas fibrosas aisladas indican que la vulnerabilidad de una placa a la rotura depende de lo siguiente: a) tamaño y consistencia del núcleo ateromatoso, b) grosor y contenido de colágeno de la cápsula fibrosa, c) inflamación dentro de la cápsula, d) neovascularización y e) fatiga.

a) Tamaño y consistencia del núcleo ateromatoso.

Aunque la placa coronaria estenótica media contiene en general un componente esclerótico rico en colágeno ($\geq 70\%$) (Kragel AH y cols., 1989), es el tamaño y la consistencia del núcleo ateromatoso lo que determina la estabilidad de la lesión. Se ha descrito que cuanto mayor es el núcleo ateromatoso respecto al tamaño de placa, menor es el grosor de la cápsula fibrosa y mayor la vulnerabilidad de la placa (Dickson BC y cols., 2003). De hecho, cuando el núcleo ateromatoso ocupa entre el 30-40% del total de la placa, se considera que dicha placa tiene alto riesgo para la rotura (Crook D y cols., 1993).

b) Estructura y dureza de la cápsula fibrosa.

Durante el desarrollo de la cápsula, las SMC se presentan en gran número y se produce un aumento en la síntesis de colágeno en estas regiones que estabiliza las placas, aunque se reduzca la luz vascular. Sin embargo, determinadas placas ateroscleróticas pueden ver disminuída la presencia de SMC (Lesauskaite V y cols., 2003) aunque estén presentes niveles elevados de factores de crecimiento. Esto sugiere que esta disminución es el resultado de la senilidad o la apoptosis de las SMC (Braganza DM & Bennett MR., 2001; Boyle JJ y cols., 2001). Debido a la alteración en la densidad de SMC el contenido en colágeno también disminuye (Horton DB y cols 2001). Este defecto en la síntesis de colágeno, en las placas avanzadas, puede evolucionar hacia un debilitamiento y/o rotura de la placa hecho que puede complicarse, ya que expone colágeno y componente intraplaca (TF) que son potentes inductores trombogénicos. De hecho, se ha demostrado que las cápsulas celulares y calcificadas son de una a dos veces y de cuatro a cinco veces más duras, respectivamente, que las cápsulas hipocelulares.

c) Proceso de inflamación en la cápsula fibrosa.

Los macrófagos y las células espumosas de los núcleos ateromatosos y de la cápsula fibrosa son responsables de la vulnerabilidad de la lesión, ya sea mediante la degradación de la ECM por fagocitosis directa o bien por la liberación de factores quimiotácticos y citoquinas que atraen al núcleo ateromatoso macrófagos adicionales, células T y células cebadas. Las células inflamatorias secretan numerosas enzimas proteolíticas, tales como activadores de plasminógeno y una variedad de MMP (colagenasas, gelatinasas y estromelisinias) (Horton DB y cols., 2001) que, junto a la

generación de productos tóxicos (radicales libres y productos de la oxidación de los lípidos) facilitan el daño de la pared vascular, contribuyendo a debilitar la cápsula fibrosa y predisponiéndola a la rotura. Se ha observado que las lesiones causantes de los síndromes coronarios agudos contienen muchos más macrófagos que las lesiones que producen angina estable (14% vs. 3% de placa ocupada por macrófagos) (Moreno PR y cols 1994). Diversos estudios recientes han revelado que los macrófagos relacionados con la rotura están activados, lo que indica inflamación en curso en el lugar de la rotura de la placa (Shah PK., 1999; Tousoulis D y cols., 2003).

La presencia de estímulos proinflamatorios (proteína C reactiva, citoquinas, etc.) también favorece la apoptosis de los macrófagos, que liberan su contenido en TF. Al entrar el TF en contacto con la sangre circulante, promueve la formación de trombina y la trombosis de la luz (Moons AH y cols., 2002). Por ello, la apoptosis de los macrófagos podría ser considerada como el vínculo de unión entre la inflamación y las complicaciones trombóticas que tienen lugar durante la enfermedad arteriosclerótica.

La contribución de otras células inflamatorias (células cebadas, linfocitos T y neutrófilos) en la arteriosclerosis y en lesiones vulnerables está menos definida:

- Las células cebadas se localizan, mayoritariamente, en las regiones del extremo de las placas coronarias maduras, (Kaartinen M y cols., 1994) pero en proporción muy baja respecto a los macrófagos (la relación entre células cebadas y macrófagos es de aproximadamente 1:20). Dichas células pueden secretar potentes enzimas proteolíticas (Hansson GK., 2001) y citoquinas proinflamatorias (TNF- α) (Kaartinen M y cols., 1996) y a su vez, pueden promover la producción de células espumosas. También se ha descrito que los mediadores derivados de su degranulación pueden inducir eventos oclusivos al desencadenar vasoespasmo coronario (Metzler B & Xu Q., 1997).

- Los linfocitos T están presentes en todas las fases aterogénicas, sugiriendo que se da una respuesta inmunitaria dirigida a antígenos específicos derivados de las LDL oxidadas (Koike T., 2000). Además, facilitan la propagación de la respuesta inmunitaria (atrayendo más leucocitos en al núcleo de la lesión), estimulan a los macrófagos y reducen la población de SMC (Ravn HB & Falk E., 1999).

- Los neutrófilos raras veces se encuentran en placas intactas (Weiss SJ., 1989), pero en ocasiones pueden ser encontrados en placas rotas situadas por debajo de los trombos coronarios; se cree que penetran en esas placas poco después de la rotura.

d) Neovascularización.

Las lesiones vulnerables habitualmente contienen abundante tejido neovascularizado (con numerosos *vasa vasorum*) (de Boer OJ y cols., 1999), al igual que presentan una adventicia que tiene su vascularización aumentada (Moulton KS., 2001). La formación de nuevos vasos, facilita la localización de células inflamatorias y de mediadores en el lugar de la lesión, amplificando así la respuesta inflamatoria y la destrucción de tejido. Recientemente se ha postulado que el origen de estos vasos podría venir de las células progenitoras, presentes en la placa o circulando por la sangre provenientes de la médula ósea. Igualmente, se cree que debido al ambiente inflamatorio en el que se desarrolla el crecimiento de los vasos, los macrófagos también colaborarían en el proceso de neovascularización.

e) Fatiga

Existe, también, una importante contribución de eventos mecánicos en la inestabilización de las placas ateroscleróticas: estiramiento, compresión, plegamiento y flexión, si son cíclicos, pueden fatigar y debilitar la cápsula fibrosa facilitando su rotura espontánea. De este modo, si se disminuye la frecuencia (ritmo cardíaco) y la magnitud de la carga (relacionada con el flujo y la presión), se reduce el riesgo de rotura de la placa (Hjalmarson A y cols., 1990).

En base a todas estas propiedades, podemos concluir que las placas con poco contenido en lípidos y fibrosas (llamadas placas estables) son duras, estables y a menudo, resistentes a la rotura. Este tipo de lesiones representan la mayor parte de los procesos ateroscleróticos, pero suponen una pequeña proporción de los episodios clínicos cuando el flujo está comprometido (episodios de isquemia). Sin embargo, generalmente ocluyen el vaso de un modo tan lento y progresivo que permiten el desarrollo de vasos colaterales y por tanto, las manifestaciones clínicas son escasas a largo plazo

Por el contrario, las placas fibrolipídicas contienen un importante núcleo lipídico que es avascular, hipocelular (excepto en la periferia donde se encuentran preferentemente las células espumosas), rico en ésteres de colesterol y muy blando, sin soporte del colágeno y por ello, son mucho más vulnerables a la rotura. Estas placas son responsables de la mayoría de los incidentes clínicos. La rotura, normalmente tiene lugar donde la cápsula fibrosa es más fina, está infiltrada con más número de células espumosas y donde la suma de las fuerzas físicas que actúan sobre la placa es más fuerte (Kolodgie FD y cols., 2001). En el caso de las placas excéntricas, este punto es a menudo el área del extremo de la placa, donde el extremo de la placa se une con el vaso adyacente menos lesionado (Fuster V y cols., 1992).

4.1.2 PROPIEDADES EXTRÍNSECAS. DESENCADENANTES DE ROTURA.

Al hablar de propiedades extrínsecas, nos referimos principalmente a los factores que dependen de las fuerzas mecánicas y hemodinámicas generadas como consecuencia del flujo sanguíneo y de la reactividad arterial. Así pues, las condiciones hemorreológicas generadas en las zonas de curvatura, combinadas con los procesos de vasomoción y de transición del impacto del ritmo cardíaco y flujo sanguíneo, afectan en gran manera a la cubierta de las lesiones coronarias pudiendo por ello desencadenar la rotura de la placa.

4.2.- PROCESO ATERTROMBÓTICO

La fisura o rotura de una placa aterosclerótica en las arterias coronarias, ya sea de manera espontánea o inducida (intervenciones de revascularización), con la consiguiente formación del trombo, es fundamental para el desarrollo de los síndromes isquémicos agudos, como ha sido plenamente demostrado en estudios de tejidos de pacientes que murieron repentinamente o poco después de un episodio de angina inestable o de infarto de miocardio (Davies MJ & Thomas AC., 1985; Falk E., 1983) (*Figura 7*). En pacientes asintomáticos y en aquellos con angina estable, la organización de dicho trombo es importante en la progresión de la arteriosclerosis.

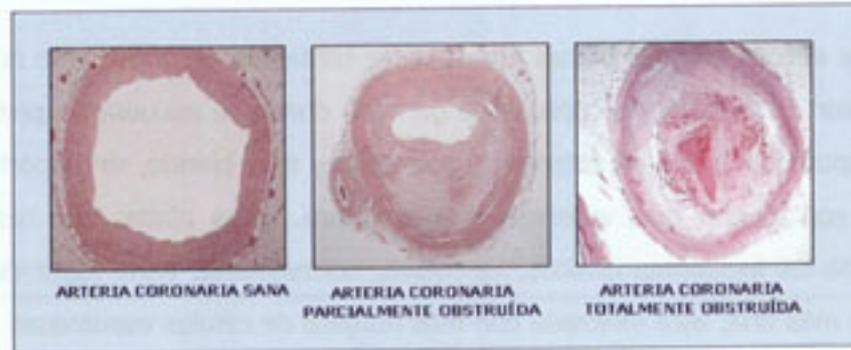


Figura 7. Grados de oclusión trombótica de arterias coronarias

4.2.1 FORMACIÓN DEL TROMBO: ADHESIÓN, ACTIVACIÓN Y AGREGACIÓN PLAQUETAR.

La exposición al torrente circulatorio de matriz vascular induce una rápida adhesión, activación y extensión de la plaqueta sobre la superficie lesionada y posterior agregación con otras plaquetas para formar un tapón plaquetario o trombo blanco. Finalmente, las plaquetas agregadas reclutan otras células de la sangre (eritrocitos, neutrófilos y ocasionalmente monocitos), formando un trombo mixto.

a) La adhesión y activación plaquetar

El proceso de adhesión comprende el transporte por difusión de las plaquetas hacia la superficie reactiva y la interacción de los receptores de la membrana plaquetaria con sus respectivos ligandos en las estructuras de la pared lesionada. Entre las proteínas adhesivas de la ECM se incluyen el colágeno, la fibronectina, el factor de von Willebrand (Vwf), la laminina, la vitronectina y la tromboespondina. La **Tabla 2** presenta los receptores descritos en la membrana de la plaqueta de tipo glicoproteína (GP) y sus respectivos ligandos en la matriz vascular.

LIGANDOS (matriz vascular)	RECEPTORES PLAQUETARIOS
Colágeno	- GPIa-IIa - GPIIb-IIIa - GPIV
Fibrinógeno	- GPIIb-IIIa
Fibronectina	- GPIc-IIa - GPIIb-IIIa
Trombospondina	- Receptor de vitronectina - GPIV
Vitronectina	- Receptor de vitronectina - GPIIb-IIIa
Factor von Willebrand	- GPIb-IX - GPIIb-IIIa
Laminina	- Región GPIc-IIa

Tabla 2. - Receptores plaquetarios de proteínas adhesivas

Nos centramos en el Vwf por ser éste objeto de esta tesis. El Vwf es una glicoproteína multimérica que contiene una cantidad variable de subunidades que a su vez, contienen distintos dominios de interacción tales como: el dominio A3 (interacciona con el colágeno tipo I/III) (Pareti FI y cols., 1986; Kalafatis M y cols., 1987; Sixma JJ y cols., 1995), el dominio A1 (interacciona con la glicoproteína Ib) (Morí H y cols., 1988; Berndt MC y cols., 1992) y la secuencia arg1744 gly1745 asp1746 (RGD) (interacciona con la glicoproteína IIb/IIIa) (Peritelli P & Mori PG., 1992) (**Figura 8**).

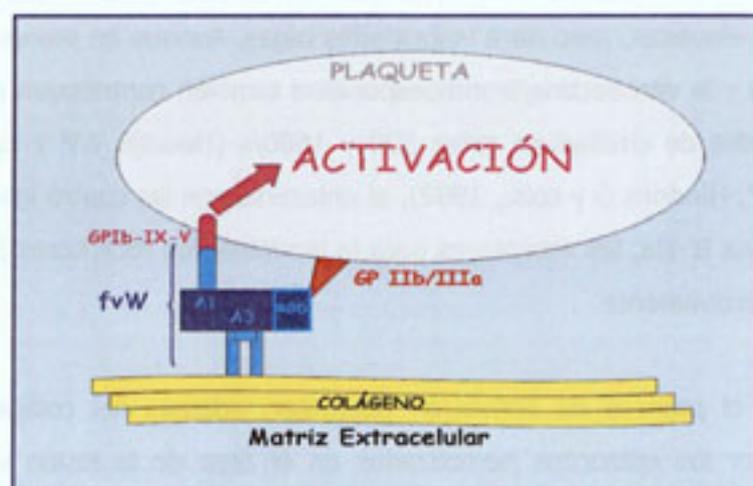


Figura 8. - Adhesión plaquetar vía Vwf.

El vWf es sintetizado por las células endoteliales, plaquetas y megacariocitos. Las células endoteliales secretan vWf (la mayoría del cual es secretado constitutivamente) abluminalmente hacia la ECM (subendotelio), y luminalmente hacia el torrente circulatorio (vWf plasmático). Las plaquetas lo secretan de sus gránulos α tras la activación plaquetar y liberación del contenido granular.

Se ha descrito que a velocidades de cizalladura elevadas ($>650/s$) (Savage B y cols., 1996), típicas de vasos pequeños o vasos de mayor tamaño parcialmente ocluidos, el vWf plasmático juega un papel fundamental en la formación del trombo. Esto se debe principalmente a que las condiciones de alto estrés de cizalladura inducen un cambio conformacional del vWf (de circular a lineal), que permite exponer su dominio A3 al colágeno vascular. Esta unión induce otro cambio conformacional en el dominio A1 del vWf que le permite unirse a la GPIb plaquetar. Tras la adhesión plaquetar a la superficie dañada, se inicia la extensión de la plaqueta debido a la unión del vWf (región RGD) con la GPIIb/IIIa plaquetar. Esta última interacción activa mecanismos irreversibles de traducción de señales intraplaquetares, que derivan en la activación plaquetar y finalmente en la formación de agregados plaquetares. A altas velocidades de cizalladura el vWf no sólo participa en la adhesión plaquetar al subendotelio (Sakariassen KS, y cols 1979), si no que también promueve la interacción plaqueta-plaqueta (Turitto VT, y cols 1984).

A baja velocidad de cizalladura, la función de adhesión plaquetar la realiza principalmente el receptor del colágeno que se enlaza al receptor plaquetar GP Ia-IIa (Saelman y cols., 1994). Por ello, las personas que sufren la enfermedad del vWf (existe una deficiencia del vWf) presentan un tiempo de sangría elevado a velocidades de cizalladura elevadas, pero no a velocidades bajas. Aunque en menor grado, la fibronectina, la laminina y la vitronectina/tromboespondina también contribuyen a la adhesión plaquetar a velocidades de cizalladura entre 300 y 1600/s (Houdijk WP y cols., 1985; Bastida E y cols., 1987; Hindriks G y cols., 1992), al enlazarse con las cuatro integrinas plaquetares; la glicoproteína Ic-IIa, los receptores para la laminina, los receptores para la vitronectina y la GPIV respectivamente.

En el proceso de activación plaquetar, además del colágeno, participan el ADP liberado por los eritrocitos hemolizados en el área de la lesión vascular, la trombina y epinefrina circulante. Todos ellos desencadenarán al menos cuatro efectos principales que perpetúan el proceso:

- 1) Se inicia la reacción de liberación del contenido de los gránulos plaquetarios (serotonina, ADP, ATP, pirofosfato, calcio, fibrinógeno, vWf, factor V y PDGF).
- 2) Las fosfolipasas inician la vía de activación del ácido araquidónico y la consiguiente formación de TXA₂ a través de la activación de la COX y la tromboxano sintasa.
- 3) Se transloca a la superficie plaquetar, la P-selectina, la que provoca la unión de las plaquetas a los monocitos, neutrófilos y algunos linfocitos.
- 4) Se produce un cambio drástico de la morfología de las plaquetas, de un disco liso a una esfera espinosa. Estos cambios de forma de membrana favorecen el realineamiento de los componentes fosfolipoproteicos de membrana, que inducen la aceleración de la coagulación sanguínea (Badimon L, 1990b), la formación de trombina -que amplifica el efecto activador inicial del colágeno- y la activación, liberación y reclutamiento de las plaquetas. Todo ello produce la formación de eicosanoides y la aparición de filamentos de fibrina, inicialmente en la porción exterior del trombo plaquetario, pero también en los intersticios entre las plaquetas adheridas. El enlace de la trombina a la fibrina o a la pared arterial enmascara receptores sobre la trombina para la antitrombina III, la heparina y el cofactor II, de modo que este trombo mural actúa como un potente estímulo trombogénico que favorecerá el crecimiento del trombo, que es dependiente de trombina y relativamente resistente a la heparina (Badimon L y cols., 1992).

La mayoría de los agonistas que inducen la activación plaquetar actúan a través de la hidrólisis de fosfatidilinosoles de la membrana plaquetaria y resultan en la movilización del calcio libre del sistema tubular denso de la plaqueta. Esta liberación de calcio es responsable de la gran parte de los procesos observados en las plaquetas activadas, tales como la contracción y secreción del contenido granular de las plaquetas (Colman RW y cols., 1987), la fosforilación de la miosina, la liberación de ácido araquidónico de los fosfolípidos de membrana catalizado por la fosfolipasa A₂ (Pickett WC y cols., 1976) y el cambio conformacional del receptor GPIIb-IIIa.

b) Agregación plaquetar

Independientemente del estímulo que produce la activación plaquetar, está regulada en su vía final a través del receptor GPIIb/IIIa. La activación de la GPIIb/IIIa, derivada de un cambio conformacional, conlleva a que éste exponga los lugares de enlace para el fibrinógeno y el vWf, favoreciendo así la interacción plaqueta-plaqueta. El

fibrinógeno es la proteína que se une mayoritariamente al receptor GPIIb/IIIa y su estructura dimérica permite su interacción con 2 plaquetas simultáneamente, llevando a la agregación plaquetar. De este modo, se produce una acumulación local de plaquetas que forman una masa expandible de tamaño creciente que continua reclutando más plaquetas a medida que éstas alcanzan el microambiente protrombótico. También se produce el reclutamiento de otras células hemáticas; con frecuencia se encuentran eritrocitos, neutrófilos y algunas veces monocitos, que llegan intactos a la zona de la lesión, pero responden a la presencia de los componentes de secreción de la plaqueta, incrementando la producción de sustancias protrombóticas. Finalmente, la masa trombótica se consolida bajo la acción de la trombina, pudiendo llegar a producir la oclusión parcial o total del vaso sanguíneo.

c) La coagulación

La rotura de la placa, también activa el mecanismo de coagulación por medio de la exposición en la superficie vascular desendotelizada del factor tisular (TF). El TF es una GP de bajo peso molecular, presente en la adventicia normal y en las placas ateroscleróticas (Grybauskas P., 2003). Es capaz de iniciar la cascada extrínseca de la coagulación, al formar un complejo de alta afinidad con los factores de coagulación VII/VIIa que, a su vez, activan los factores IX y X y finalmente la generación de trombina, que transformará fibrinógeno en fibrina. Solamente pequeñas cantidades de trombina son capaces de producir la activación plaquetar. El papel primario de la trombina en el crecimiento del trombo se demuestra por el hecho de que la aspirina y las altas dosis de heparina no bloquean el crecimiento del trombo sobre un trombo mural previamente formado; sin embargo, la hirudina, un inhibidor específico de la trombina, bloquea totalmente el nuevo crecimiento del trombo (Badimon L y cols., 1992).

En base a todo lo expuesto, el proceso de fisura y disrupción de una placa arteriosclerótica permite la entrada de sangre desde el lumen al núcleo de la placa con activación de las plaquetas y la cascada de coagulación. La masa intraplaquetaria resultante está compuesta, principalmente, de plaquetas y puede ser denominada trombosis intraplaqueta (Davies MJ., 1996). Posteriormente se forma un trombo con una gran cantidad de fibrina densamente empacada con plaquetas, que forma una mayor masa trombótica luminal expuesta a la sangre circulante, pero que no ocluye completamente la luz del vaso (Badimon L y cols., 1988). La cantidad de trombo presente dependerá del flujo

y de la fuerza de cizalladura ejercida en la zona lesionada y puede resultar en émbolos distales (Badimon L y cols., 1988; Mailhac y cols., 1994). La fase final del proceso es la oclusión total de la arteria por el trombo que crece por propagación.

4.3 REPERCUSIONES CLÍNICAS DE LA ATERTROMBOSIS CORONARIA

La aterotrombosis, definida como la superposición de trombosis en lesiones ateroscleróticas, es la primera causa de los síndromes coronarios agudos (angina inestable, infarto de miocardio y muerte súbita) (Davies MJ., 2001; Davies MJ y cols., 1989). La dinámica en la deposición plaquetar y la formación del trombo tras daño vascular están regulados por: a) el grado de estenosis; b) el tipo de lesión; c) la composición de la placa aterosclerótica (Badimon L y cols., 1988).

a) grado de estenosis: la lesión coronaria responsable del infarto es, por lo general, ligeramente estenótica, lo que sugiere que la superficie expuesta es el determinante primario de la oclusión aguda, más que la intensidad de la lesión. Sin embargo, la sangre es súbitamente acelerada cuando pasa a través de una estenosis y posteriormente desacelerada. Esta combinación de áreas con alta y baja velocidad de cizalladura, puede inducir la activación de diferentes mecanismos simultáneamente y por tanto, contribuir a los síndromes trombóticos agudos sobre lesiones ateroscleróticas.

b) tipo de lesión: el tipo de superficie puede determinar la estabilidad del trombo; la exposición de pared vascular desendotelizada (similar a una lesión vascular ligera) a flujo sanguíneo elevado (similar al de una arteria coronaria estenosada) induce un ligero estímulo trombogénico que suele limitarse a una significativa deposición plaquetar sobre el vaso expuesto. Dicha acumulación plaquetar alcanza un máximo tras 5-10 minutos de exposición; sin embargo, el trombo puede ser embolizado o desplazado por las fuerzas reológicas y por ello la oclusión es mínima y transitoria (Badimon L y cols., 1988, Fernández-Ortiz A y cols., 1994; Badimon L y cols., 1999). Sin embargo, la exposición de fibras de colágeno y componentes internos de la placa (similar a una lesión severa) al torrente circulatorio induce una deposición plaquetar de doble magnitud que la alcanzada por el subendotelio. Aún en presencia de un alto flujo sanguíneo, el trombo no es del todo embolizado y permanece parcialmente anclado a la superficie dañada. La presencia de este trombo mural actuará como potente estímulo trombogénico. Es importante remarcar que la exposición de TF tras lesión severa determina, en gran medida, la trombogenicidad del

sustrato (Toschi V y cols., 1997) y normalmente, la simultánea exposición del colágeno, TF y otros elementos de la matriz vascular es responsable de una oclusión trombótica relativamente persistente.

Existen varios estudios basados en la incidencia relativa de la rotura o erosión (desendotelización) de la placa. La rotura de la placa es muy importante clínicamente y subyace a un 65% de los trombos responsables de los síndromes coronarios agudos (Van der Wall AC y cols., 1994), mientras que los procesos de erosión suponen un 35% de los casos que resultan en eventos clínicos (PK Shah y cols., 2002; Virmani R y cols., 2000). Sin embargo, estas incidencias pueden ser variables; los procesos de rotura de placa ocurren con mayor frecuencia en hombres de menos de 50 años, mientras que los de erosión ocurren con igual frecuencia en hombres y mujeres en este rango de edad. El proceso erosivo se encuentra incrementado en pacientes fumadores y afecta especialmente a mujeres premenopáusicas (Virmani R y cols., 2000; Davies MJ y cols., 2001).

c) composición de la lesión: la naturaleza de la superficie expuesta, tras rotura espontánea de la placa o tras una intervención de revascularización, es un factor determinante para la rápida progresión de una placa inestable a trombo oclusivo o para que ésta persista como trombo mural no oclusivo (Badimon L y cols., 1992). Previos estudios en nuestro grupo han analizado, mediante la cámara de perfusión, la contribución relativa de los distintos componentes de las placas ateroscleróticas humanas (estriás grasas, placas escleróticas, placas fibrolipídicas, núcleo ateromatoso y placas hiperplásicas) en la formación del trombo agudo. Los resultados reflejan que el núcleo ateromatoso es el sustrato más trombogénico y por ello es el componente de la placa aterosclerótica que presenta mayor riesgo de desencadenar trombosis, tras rotura espontánea o inducida, debido a la gran trombogenicidad de sus componentes. (Fernández-Ortiz A y cols., 1994)

4.4 VASOCONSTRICCIÓN

Aunque un número sustancial de episodios de angina inestable y de infarto de miocardio son causados por la rotura de la placa con trombosis superimpuesta, también deben considerarse otros mecanismos que alteran el equilibrio entre el oxígeno suministrado al miocardio y su demanda. Estudios hemodinámicos, electrocardiográficos y angiográficos sugieren que el vasoespasmo coronario es importante en la patogenia de la enfermedad isquémica del corazón. La presencia de trombo en una zona estenosada, se ve agravada por la interacción de las plaquetas con la pared vascular y la liberación

subsiguiente de sustancias vasoactivas, importantes en el desarrollo de los vasoespasmos (TXA₂ y serotonina) y por la presencia de angiotensina II e histamina circulante que reducen aún más el lumen vascular. La constricción del vaso puede inducir o favorecer la rotura de la placa. A este proceso de vasoconstricción, inducida por las plaquetas activadas, hay que añadir la presencia de una respuesta vasoconstrictora exagerada, basada en la pérdida de NO. Así pues, las plaquetas contribuyen a la reducción del flujo sanguíneo, ya sea mediante la agregación transitoria y la oclusión del vaso y/o por la liberación de sustancias vasoconstrictoras. Lam JYT y col. (1987) observaron en el modelo porcino de angioplastia carotídea, que la vasoconstricción proximal y distal al lugar de angioplastia era proporcional al grado de deposición plaquetaria, que persistía de 5-15 minutos y además, se inhibía parcialmente con la administración de aspirina.

5. PROGRESIÓN DE LA ARTERIOSCLEROSIS

Cabría esperar que la progresión de la lesión fuera un proceso lineal; sin embargo, estudios angiográficos demuestran que la progresión de la enfermedad coronaria en los humanos, no es ni lineal ni predecible (Ambrose JA y cols., 1988). Un análisis de diversos estudios reveló que más del 75% de las lesiones responsables de producir un evento (angina inestable o infarto de miocardio) eran, según exámenes angiográficos previos, solamente moderadamente estenóticas (<50%) (Falk E y cols., 1995b).

Teniendo en cuenta los hallazgos patológicos, la progresión de la placa puede estar dicotomizada en procesos lentos y rápidos. Sin embargo, la velocidad de progresión y la gravedad de la enfermedad en las diferentes arterias afectadas (coronarias, aorta, carótidas, cerebrales e incluso las arterias periféricas) está modulada por la presencia de factores de riesgo (Fuster V y cols., 1992).

La causa principal del lento, pero progresivo desarrollo de la enfermedad arteriosclerótica es la presencia de la disfunción endotelial (disminución en la biodisponibilidad de NO) que, como ya se ha mencionado anteriormente, favorece la infiltración lipídica y todo lo que de ella deriva.

La rápida progresión de la enfermedad viene determinada por las plaquetas y la formación del trombo. Estudios en animales trombocitopénicos (Moore S y cols., 1976) o deficitarios en el Vwf (Fuster V y cols 1978) mostraron un menor desarrollo de lesiones ateroscleróticas, comparados con animales control, sugiriendo que los factores liberados por las plaquetas activadas son críticos en el aterogénesis. De igual modo, evidencias patológicas y angiográficas han demostrado que un episodio de rotura de una placa,

seguido de una cantidad variable de hemorragia dentro de ella y una trombosis intraluminal es, probablemente, el principal mecanismo implicado en la progresión impredecible, brusca y no lineal de las lesiones coronarias que se observan tanto de un modo asintomático como en pacientes con episodios isquémicos. Es más, un estudio en pacientes con angina inestable, que evolucionaron a infarto o muerte súbita, reveló la presencia de trombos distribuidos en capas en la mayoría de los casos (Falk E., 1985), sugiriendo que más que un sólo episodio trombótico súbito, lo que sucede es la suma de varios episodios trombóticos y trombos murales recurrentes que, eventualmente, pueden cursar con oclusión vascular. Durante la última década, numerosos estudios sobre placas arterioscleróticas han revelado trombos coronarios viejos y organizados, difíciles de diferenciar de los cambios arterioscleróticos vistos en la pared arterial. En base a todos estos estudios, la organización de los trombos contribuye en la progresión a placas arterioscleróticas avanzadas (Davies MJ y cols., 1989).

6. TERAPIA FARMACOLÓGICA EN EVENTOS CARDIOVASCULARES.

Múltiples estudios clínicos y angiográficos han demostrado que la modificación de los lípidos plasmáticos mediante fármacos hipolipemiantes (i.e. estatinas, fibratos), el uso de agentes antiplaquetares y antitrombóticos y el uso de agentes antiisquémicos reducen la recurrencia de eventos coronarios agudos en pacientes con síndrome coronario agudo.

6.1 AGENTES HIPOLIPEMIANTES

La reducción en el nivel de lípidos plasmáticos, mediada por el tratamiento con estatinas puede favorecer la estabilización de la placa vulnerable, ya que las estatinas reducen los niveles de lipoproteínas oxidadas presentes en el núcleo lipídico. Diversos estudios (MIRACL, 4S y CARE) han demostrado que las estatinas disminuyen los niveles de colesterol, al mismo tiempo que proporcionan un beneficio terapéutico, tanto en prevención secundaria como primaria (WOSCOPS). El beneficio terapéutico se manifiesta, sin embargo, antes de que haya producido una regresión de la placa aterosclerótica. Por el contrario, el estudio MASS halló que se producía un efecto significativo en la mejora de la morfología arterial tras 4 años de tratamiento con estatinas. Modelos experimentales han revelado que las estatinas pueden ejercer muchos otros efectos cardiovasculares

beneficiosos en un periodo de tiempo reducido; así pues, disminuyen la acumulación de células inflamatorias en las placas ateroscleróticas (propiedades antiinflamatorias), inhiben la proliferación de las SMC, la función plaquetar y la formación de trombo limitando la aterosclerosis, mejoran la función endotelial- mediante el aumento en la generación de NO -(Depuis y cols., 1999), reducen la presión arterial (Palinski W., 2001) y disminuyen la capacidad de respuesta vascular a la angiotensina II (Wierzbicki AS y cols., 2003).

6.2 AGENTES ANTITROMBÓTICOS

En la génesis del síndrome coronario agudo, las plaquetas desempeñan un papel fundamental y su membrana congrega a todos los factores procoagulantes. De ahí la necesidad de establecer precozmente una terapéutica antiagregante eficaz. A pesar de que los antitrombóticos convencionales (primera generación), tales como la aspirina, tienopiridinas (ticlopidina y clopidogrel), la heparina y warfarina han demostrado importantes progresos en el tratamiento de la enfermedad cardiovascular, la incidencia de eventos isquémicos cardiovasculares sigue siendo elevada (Antithrombotic Trialists' Collaboration, 2002). Su uso va asociado a considerable aumento de sangría y tanto la warfarina como la heparina requieren monitorización clínica. Además, ninguno de estos agentes antiplaquetares ha demostrado prevenir la reestenosis tras los procesos de revascularización. Estas limitaciones en los agentes antitrombóticos de primera generación ha promovido el desarrollo de los de segunda generación. Sin embargo, a pesar del progreso obtenido, siguen desarrollándose nuevas aproximaciones que permitan avanzar en el conocimiento de la patofisiología de la activación plaquetar y de la coagulación, reducir la mortalidad cardiovascular, la presencia de efectos secundarios y evitar la necesidad de monitorización clínica de los pacientes (**Tabla 3**).