

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR



Trabajo Fin de Grado

ARTERIOESCLEROSIS

José Miguel Matador Romero.

Grado en Biología.

Curso Académico 2022-2023.

ÍNDICE:

1. Resumen	4
2. Introducción	4
3. Histología de las arterias	4
4. Impacto en la sociedad	6
5. Aterosclerosis	6
5.1. Hipótesis de la hipertrigliceridemia	6
5.2. Hipótesis de la hipercolesterolemia	8
5.3. Progresión hacia placa avanzada	9
5.4. Estabilidad de la placa de ateroma	14
5.4.1. Placa estable	14
5.4.2. Placa vulnerable	14
5.5. Otros inhibidores de la aterosclerosis	15
5.5.1. Óxido nítrico	15
5.5.2. Los mediadores especializados prorroresolución (SPM)	16
5.5.3. Lipoproteínas de alta densidad (HDL)	16
5.6. Factores de riesgo cardiovascular	16
5.6.1. Hiperlipidemia	17
5.6.2. Hipertensión	17
5.6.3. Diabetes mellitus	17
5.6.4. Enfermedad renal crónica (ERC)	18
5.7. Implicaciones de la hemodinámica	19
5.8. Estrategias de prevención	20
5.8.1. Ejercicio	21
5.8.2. Dieta	21
5.8.3. Tabaquismo	22
5.9. Terapias clásicas, actuales y en desarrollo	22
5.9.1. Tratamientos hipolipemiantes	22
5.9.2. Tratamientos no hipolipemiantes	23
5.9.3. Tratamientos quirúrgicos	24
6. Calcificación de la placa	25
6.1. Vías moleculares	25
6.2. Calcificación de la íntima	27

6.3. Calcificación de la media	27
6.4. Inhibidores de la calcificación	28
6.5. Factores de riesgo para la calcificación vascular	29
6.6. Estrategias de prevención	30
6.7. Estrategias de tratamiento	31
7. Conclusiones	32

1) RESUMEN: Este trabajo se centra en el tema de la arterioesclerosis, abordando distintos aspectos relevantes de esta enfermedad. Comenzando con un análisis general del impacto de la arterioesclerosis sobre la sociedad, y posicionándola como una de las principales causas de morbilidad y mortalidad. Posteriormente se expondrá la fisionomía general de una arteria, explorando así los diferentes tipos de patologías englobadas dentro del término arterioesclerosis, haciendo un especial hincapié en el proceso de internalización y deposición de lípidos oxidados dentro de la túnica íntima, favoreciendo la formación de placa ateromatosa y su posterior relación con la calcificación. Para cada patología existen una serie de factores de riesgo, muchas veces asociados al estilo de vida, y diferentes tipos de tratamiento, muchos de los cuales son comunes entre ambas condiciones.

2) INTRODUCCIÓN

El término arterioesclerosis, del griego ἀρτηρία ('tubo') y σκλήρωσις ('endurecimiento patológico') hace referencia a la reducción o pérdida de funcionalidad de determinados vasos sanguíneos, ocasionada por un endurecimiento patológico con o sin engrosamiento de los tejidos que los constituyen. Dentro del término arterioesclerosis podemos englobar a varias patologías que afectan principalmente a las arterias, de las que destacaremos, por un lado la aterosclerosis y por otro lado la calcificación. La arteriosclerosis es una enfermedad crónica y progresiva caracterizada por la acumulación de una placa ateromatosa dentro del espacio de la íntima de las arterias, esta placa se compone de lípidos, células inflamatorias, células musculares lisas vasculares (VSMC) y matriz extracelular, en algunos casos, se puede producir calcificación caracterizada por la presencia de cristales de hidroxapatita y fosfato cálcico. De manera independiente, la calcificación también puede darse en la túnica media arterial y en capilares. La arteriosclerosis se asocia típicamente con una disfunción del metabolismo lipídico, hipercolesterolemia, diabetes mellitus, enfermedad renal crónica y otra serie de factores de riesgo.

3) HISTOLOGÍA DE LAS ARTERIAS

Conocer las peculiaridades anatómicas de las arterias, hará más sencillo entender cómo se desarrolla la arterioesclerosis. Realizando un corte anatómico transversal encontramos según su proximidad al caudal sanguíneo la túnica íntima, la túnica media y la túnica adventicia.

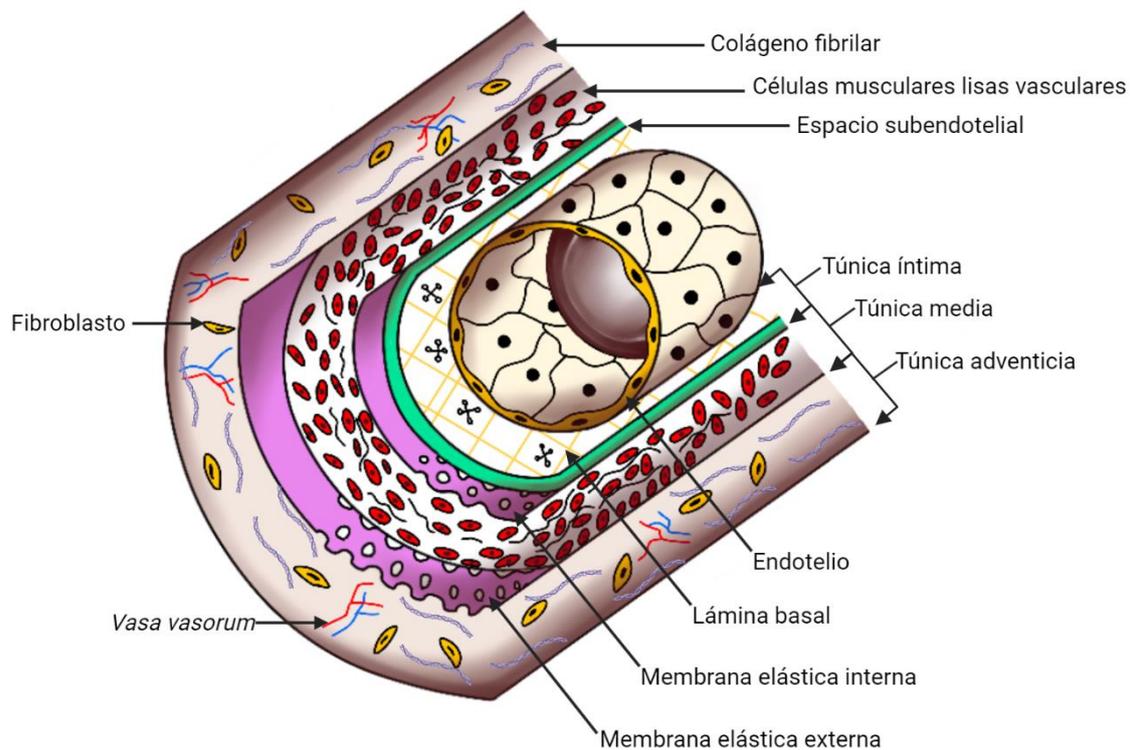


Figura 1. Histología de una arteria. Corte transversal de una arteria muscular, donde se destacan las capas de la pared arterial (íntima, media y adventicia), junto a otros aspectos histológicos. Fuente: Imagen digital de autoría propia.

La túnica íntima, se compone por células endoteliales y una lámina basal, formada por fibras de colágeno, y fibronectinas, seguida de un espacio subendotelial compuesto por tejido conjuntivo. Separando a esta túnica íntima de la túnica media, encontramos la lámina elástica interna, con fibras elásticas en disposición longitudinal que presentan fenestraciones. A continuación observamos la túnica media, en cuya composición predomina el tejido elástico y tejido muscular liso. La proporción entre estos últimos depende del calibre de la arteria. Las arterias elásticas, de mayor diámetro, poseen una alternancia de láminas elásticas y una capa muscular engrosada, a diferencia de las arterias musculares cuya musculatura lisa es más delgada y solo posee lámina elásticas interna y externa que la delimitan con las otras túnicas. Por último, encontramos la túnica adventicia, compuesta por tejido conectivo fibroso sintetizado por fibroblastos, y por la que discurren vasos linfáticos, fibras nerviosas y *vasa vasorum*. Este último provee de sangre, oxígeno y nutrientes a la túnicas adventicia y la parte más externa de la túnica media, donde la difusión de estos recursos desde el endotelio es limitada.

4) IMPACTO EN LA SOCIEDAD:

La arterioesclerosis es una de las causas subyacentes dentro de las patologías que presentan las mayores tasas de mortalidad en el mundo desarrollado. Así pues, la suma de la cardiopatía isquémica y el accidente cardiovascular conforman alrededor del 27% de defunciones totales en el mundo (desde el último recuento en el año 2019). De hecho, podemos notar un aumento significativo en las tasas de incidencia de la cardiopatía isquémica del 345% en los últimos 20 años. En concreto, en España los recuentos hechos en el año 2021 muestran que, del total de defunciones, un 26'4% se debieron a enfermedades del sistema circulatorio (Instituto Nacional de Estadística, 2022). Además, algunos tipos de patologías como la calcificación surgen como complicaciones de enfermedades como la diabetes mellitus o la enfermedad renal crónica, empeorando su pronóstico y la calidad de vida del paciente.

Es por ello, que la arterioesclerosis representa una carga significativa en los sistemas de salud a nivel global, necesitándose gran cantidad de recursos económicos para su tratamiento e investigación, además del impacto sobre la calidad de vida de los pacientes afectados, que muchas veces sufren una disminución de la movilidad, alteración de las rutinas, o incluso deterioro a nivel cerebral como consecuencia de isquemias.

Afortunadamente, gran parte de los factores de riesgo para la enfermedad aterosclerótica van asociados al estilo de vida y otra gran parte son tratables. Por lo que una mayor investigación e inversión son fundamentales para disminuir la tasa de incidencia de la patología así como su tratamiento posterior.

5) ATEROSCLEROSIS:

El proceso de desarrollo de la placa aterosclerótica requiere una previa internalización de moléculas lipídicas dentro de la túnica íntima, este proceso está justificado por dos hipótesis no excluyentes.

5.1) Hipótesis de la hipertrigliceridemia:

La base de esta hipótesis son las lipoproteínas ricas en triglicéridos postprandiales (LRTp), partículas generadas tras el proceso de digestión cuyo núcleo se compone de triglicéridos (TG) y ésteres de colesterol (CE). Rodeando a este núcleo, se disponen fosfolípidos, formando una monocapa con los ácidos grasos orientados hacia

el interior. Esta membrana, posee pequeñas cantidades de colesterol incrustado y diferentes apolipoproteínas (ApoE, ApoB, etc), que permitirán que la molécula sea reconocida por receptores específicos como el ApoB48R, el VLDLR y LRP1.

La formación de este tipo de partículas tiene lugar durante el proceso de digestión, donde los enterocitos generan quilomicrones que pueden sufrir hidrólisis por acción de la enzima lipoproteína lipasa (LPL) dando lugar a partículas remanentes de quilomicrones. Estos remanentes pueden ser captados por el hígado donde ocurrirá otra hidrólisis catalizada por la LPL para formar lipoproteínas VLDL, que a su vez podrá sufrir hidrólisis sucesivas generando VLDL remanente, IDL y LDL. Por cada hidrólisis, la LPL libera ácidos grasos libres con la finalidad de ser captados por los diferentes tejidos. Sin embargo, estos ácidos grasos libres al oxidarse constituyen un agente de riesgo para la aterosclerosis debido a que favorecen la producción de citoquinas proinflamatorias, factores de coagulación y deterioran la fibrinólisis, favoreciendo por tanto la formación y crecimiento de coágulos (Reiner, 2017).

Las VLDL remanentes por otro lado, se someterán a un proceso de transferencia de moléculas gracias a la proteína de transferencia de ésteres de colesterol, que movilizará sus triglicéridos desde la LRTp hasta HDL, y sus ésteres de colesterol desde HDL hasta la VLDL remanentes. Las partículas remanentes, recibirán también ApoE desde las HDL, lo que favorece la unión de estos complejos lipídicos a sus receptores endoteliales. Esta serie de sucesos, al menor tamaño de las partículas remanentes, podría explicar la internalización de las partículas remanentes al espacio subendotelial (Linton *et al.*, 2019).

Cuando se internalizan en la íntima, las LRTp quedan confinadas e interaccionan mediante sus apolipoproteínas ApoB y ApoE con los receptores específicos de las células del entorno. Las interacciones desencadenan la activación de rutas relacionadas con la migración celular y la inflamación e inducen en las células endoteliales una reducción en la síntesis del vasodilatador óxido nítrico, junto con la activación de la vía de señalización del factor nuclear kappaB (NF-κB), lo que conlleva un aumento de las moléculas de adhesión de leucocitos ICAM-1 y VCAM-1 y de las especies reactivas de oxígeno (ROS), siendo esta última capaz de oxidar lipoproteínas como la LDL, y activar vías proaterogénicas. Por otro lado, al producirse una disminución en las concentraciones de óxido nítrico, aumenta la adhesión de leucocitos y plaquetas, se

favorece la vasoconstricción y la apoptosis, promoviendo la aterogénesis (Liberale *et al.*, 2020).

5.2) Hipótesis de la hipercolesterolemia:

La hipótesis de la hipercolesterolemia plantea que, en presencia de altas concentraciones de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en sangre, se produce una internalización hacia el espacio subendotelial de estos complejos lipídicos. Su acumulación, favorece la oxidación en presencia de especies reactivas de oxígeno (ROS) liberadas por el endotelio. Los LDL oxidados (LDLox) se unen a los proteoglicanos presentes en la íntima, lo que facilita su contacto con las células endoteliales. Este proceso activa las células endoteliales expresando con mayor frecuencia una serie de moléculas entre las que podemos destacar;

- Quimiocinas: como la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1), también conocida como CCL2, y la interleucina-8 (IL-8), que atraen células inflamatorias hacia la lesión.
- Moléculas de adhesión celular: como las selectinas que permiten la adhesión y desplazamiento de células inmunitarias por el endotelio o como VCAM-1, que favorece la adhesión y la emigración a la íntima de monocitos y linfocitos.

La quimiocina MCP-1 se libera al medio, donde interactúa con su receptor CCR2, ubicado en la superficie de monocitos, esta interacción induce la quimiotaxis de los monocitos hacia las células endoteliales que producen MCP-1. Una vez los monocitos llegan hacia la lesión, interactúan con las selectinas expresadas por el tejido endotelial, desplazándose y finalmente se internalizándose por diapédesis gracias a la unión de VCAM-1 con su ligando, la integrina VLA-4 expresado tanto en monocitos como en linfocitos.

5.3) Progresión hacia placa avanzada:

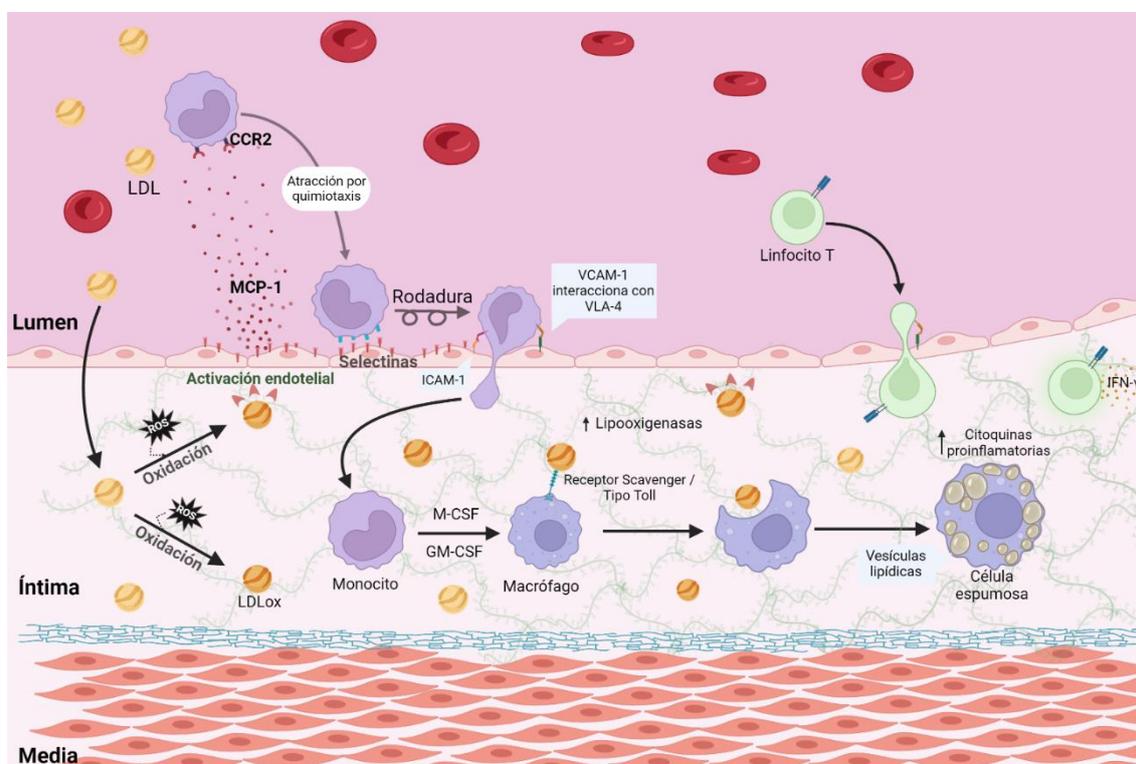


Figura 2. Interiorización de LDL a la túnica íntima. Internalización de LDL dentro del espacio de la íntima, oxidación del LDL por las especies reactivas de oxígeno (ROS) y posterior activación endotelial, estimulando una serie de vías de señalización implicadas en la creación de un ambiente inflamatorio. Fuente: Imagen de autoría propia creada con Biorender.

Cuando los monocitos se internalizan en el endotelio pasan a diferenciarse a macrófagos gracias a la acción de los factores estimulantes de colonias M-CSF y GM-CSF, promoviendo la oxidación del LDL al liberar lipooxigenasas (Reustle *et al.*, 2018). Los macrófagos, en condiciones normales usan los receptores de tipo LDLr para internalizar las LDL. Sin embargo, debido a esta oxidación y glicación del LDL, los macrófagos no los reconocerán por sus receptores específicos (LDLr), sino que serán internalizados y acumulados mediante fagocitosis no específica por receptores de la ApolipoproteínaE (ApoE), que no están regulados a la baja por las concentraciones de colesterol (Linton *et al.*, 2019). En este grupo tenemos los receptores scavenger SR-A, SR-BI, CD36 o receptores de tipo Toll, que participan en la captación de más LDL, y remanentes de VLDL y de quilomicrones.

Después de ser captadas por los macrófagos, las lipoproteínas modificadas son transportadas hacia los lisosomas intracelulares, donde se hidrolizan para formar ácidos grasos y colesterol libre (FC). Debido a que este último es un compuesto muy tóxico, se

reesterifica en éster de colesterol (CE) gracias a la acción de la ACAT-1 y posteriormente se almacena en gotas lipídicas.

Para su expulsión del macrófago primero ha de ser hidrolizado nuevamente en colesterol libre (FC). Entonces, en condiciones normales, el sistema de transporte inverso de colesterol (RCT) media la salida de colesterol del macrófago hacia HDL gracias a proteínas como el transportador 1 del casete de unión a ATP (ABCA-1) y SR-B1, ambos regulados por la interacción de adiponectina con los receptores PPAR γ y LXR. En concreto, ABCA-1 también se regula positivamente por fosfatidilserina (PS), un fosfolípido que actúa como uno de los reguladores más importantes en la eferocitosis (Hafiane *et al.*, 2019).

Cuando los macrófagos internalizan más colesterol del que son capaces de excretar, se forma un exceso de gotas lipídicas que caracteriza la morfología de las células espumosas. En esta etapa de la aterosclerosis, la lesión del vaso sanguíneo se conoce como estría grasa, un suceso reversible y relativamente común en personas de todas las edades (Tabas & Bornfeldt, 2016).

La presencia de células espumosas induce la activación de vías proinflamatorias en las que participan varios tipos de células inflamatorias como linfocitos T (Th-1/-2, T-reg, etc), macrófagos y neutrófilos. Los linfocitos de tipo Th expresan IFN- γ , una citoquina cuya función es activar los macrófagos hasta un fenotipo proinflamatorio, conocido como M1. Estos macrófagos M1 presentan una salida de colesterol reducida, un mayor nivel de estrés oxidativo y una secreción de citoquinas y quimiocinas aumentada. Entre las citoquinas que se liberan dentro de la pared del vaso encontramos IL-8, MCP-1, factor estimulante de granulocitos-monocitos (GM-CSF), factor de crecimiento de fibroblastos (TGF- β) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) entre otras. Cuando TNF- α se une a su receptor en las células endoteliales puede activar la vía de señalización NF- κ B, que culmina en la producción de más moléculas de adhesión celular, citoquinas y otras moléculas proinflamatorias que promueven la activación de más células del sistema inmune, formando así un bucle de señalización paracrino y autocrino que facilita el avance de la aterosclerosis y la perpetuación de un estadio inflamatorio crónico (Tabas & Bornfeldt, 2016).

La contraparte del fenotipo M1 inflamatorio es el fenotipo M2 antiinflamatorio, favorecido por la presencia de factores como IL-4/-14, TGF- β y PPAR γ , una variante del receptor PPAR anteriormente nombrado.

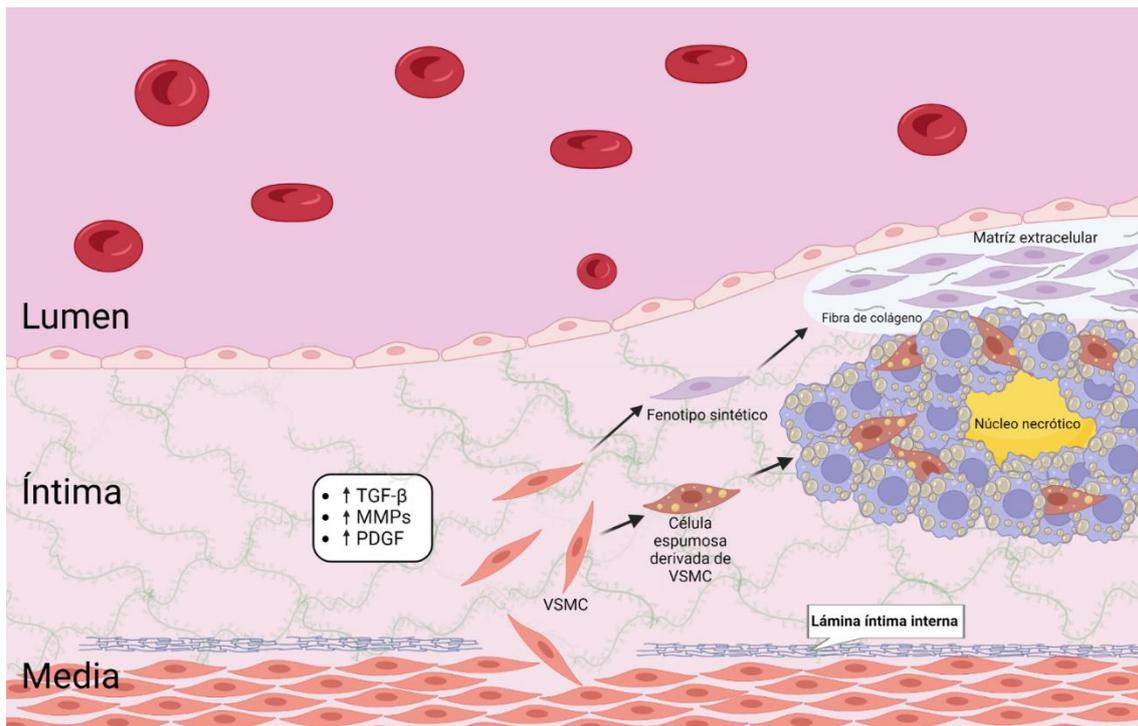


Figura 3. Migración y diferenciación de las VSMC. Migración de células musculares lisas (VSMC) desde la túnica media hasta la túnica íntima, estimulado por el aumento de la concentración de factor de crecimiento transformante beta ($TGF-\beta$), de metaloproteinasas de matriz (MMPs) y de factor de crecimiento de plaquetas (PDGF) entre otros. Fuente: Imagen de autoría propia creada con Biorender.

Las células espumosas y otras células inflamatorias producen factor de crecimiento de plaquetas (PDGF), su interacción junto con el receptor PDGFR activa una cascada de señalización donde intervienen ROS y $NF-\kappa B$ entre otras moléculas, y culmina con la expresión y activación de metaloproteinasas (MMP-2/-9) tanto por VSMC como por macrófagos. Las metaloproteinasas degradan el tejido conectivo que rodea a las VSMC, facilitando su migración. Asimismo, las ROS también están implicadas en la fosforilación/defosforilación de la cofilina, una proteína de unión a la actina importante en la reorganización de microfilamentos del citoesqueleto y la protrusión de lamelipodios (Badran *et al.*, 2020). El $TGF-\beta$ segregado por macrófagos también estimula la migración de VSMC. En conjunto, todos estos sucesos resultan en la presencia de células musculares dentro del espacio de la íntima.

Cuando las VSMC se exponen a factores de crecimiento como PDGF y a quimiocinas como MCP-1, se favorece su paso desde el fenotipo contráctil hasta un fenotipo sintético (Qi & Xin, 2019), donde al igual que los macrófagos, internalizan CE mediante receptores *scavenger* especializados (p. ej., CD-36 y SR-A) autofagia y

fagocitosis (Maguire *et al.*, 2019), lo que contribuye a la proliferación de la placa. Además, estas VSMC con fenotipo sintético también se consideran la fuente principal de matriz extracelular (ECM) en la íntima, ya que sintetizan y excretan colágenos, elastinas y proteoglicanos, formando así una placa fibrosa sobre el núcleo de células espumosas (Basatemur *et al.*, 2019).

Este núcleo con un ambiente inflamatorio y gran presencia de células espumosas genera una gran cantidad de células apoptóticas que han de ser eliminadas mediante eferocitosis, principalmente por macrófagos con fenotipo M2 antiinflamatorio. Cuando las células apoptóticas entran en proceso de muerte programada, exponen en su membrana la fosfatidilserina (PS), un marcador que utilizarán los macrófagos para ayudarse a reconocer a estas células para su eliminación. Hay 3 vías eferocíticas con especial relevancia para la aterosclerosis, por un lado la vía del receptor tirosina quinasa (MerTK), en esta, los macrófagos, VSMC y células endoteliales liberan una proteína denominada Gas6 que se une a la fosfatidilserina de las células apoptóticas actuando de puente entre estas y el receptor MerTK de los macrófagos. Por otro lado la vía de MFGE8, una molécula también expresada por macrófagos, cuya función es actuar como puente entre la PS externalizada por el cuerpo apoptótico y la integrina $\alpha\beta3$ del macrófago. Y por último la vía Calr/LRP1, donde la molécula calreticulina expresada por las células apoptóticas es reconocida por los receptores fagocíticos LRP1 mediante el ligando ApoE. Calr también se expresa en algunas células no apoptóticas, por lo que éstas han de expresar además en su membrana la molécula “no me comas” CD47, cuya unión al receptor SIRP α en las células fagocíticas desencadena una vía antieferocítica (Kojima *et al.*, 2017).

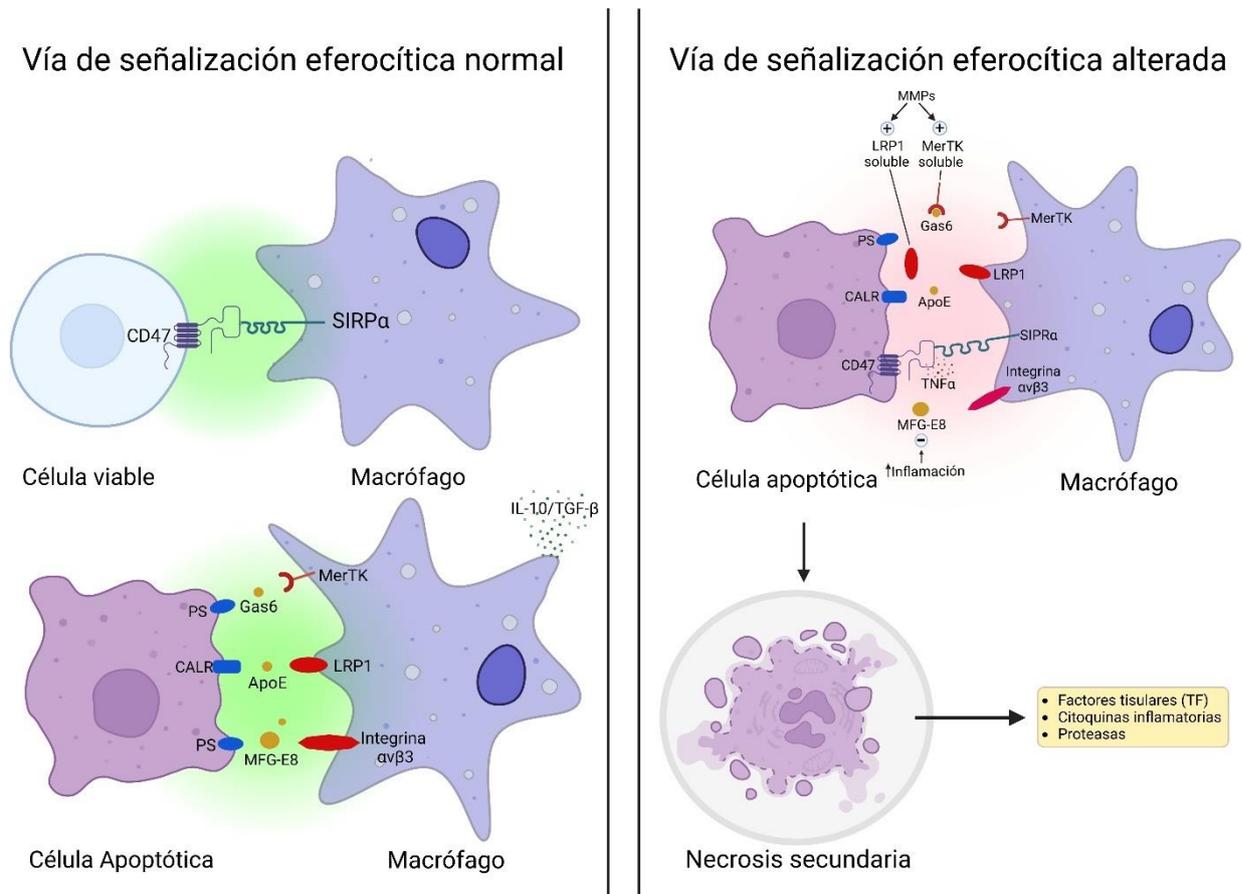


Figura 4. Vía eferocítica normal vs alterada. Proceso de reconocimiento de células viables frente a células apoptóticas en condiciones normales, contrastado con el reconocimiento defectuoso característico de la vía eferocítica alterada, que en última instancia produce necrosis secundaria. Fuente: Imagen de autoría propia creada con Biorender.

En las primeras etapas de la lesión, la eferocitosis es efectiva y se acompaña de la liberación de moléculas antiinflamatorias como IL-10 o TGF-β por parte de los macrófagos, éstas a su vez favorecen la conversión de más macrófagos en el fenotipo M2. Sin embargo, en las etapas avanzadas de la aterosclerosis, la eferocitosis se vuelve defectuosa como resultado de un conjunto de factores relacionados con el ambiente inflamatorio. Un ejemplo puede ser la escisión de MerTK a una forma soluble en presencia de MMPs, esta forma soluble actúa como señuelo para Gas6, ejerciendo por tanto inhibición competitiva. Otro ejemplo, es la regulación al alza de la citoquina aterogénica TNF-α, esta desencadena la expresión de la molécula anti-eferocítica CD47 en la superficie de VSMC apoptóticas, lo que permite que actúe con el receptor SIRPα. De forma parecida, las condiciones inflamatorias inducen modificaciones postraduccionales inactivadoras sobre las moléculas MerTK y LRP1, mientras que las vías que desencadenan los receptores de tipo Toll puede inhibir ligandos eferocíticos

como MFGE8. Asimismo, las LDLox en la placa aterosclerótica ejercen inhibición competitiva sobre los receptores *scavenger* de los macrófagos, dificultando el reconocimiento de cuerpos apoptóticos, además de inducir la generación de autoanticuerpos que enmascaran las señales “cómeme” que presentan las células apoptóticas (Kojima *et al.*, 2017).

A consecuencia de la eferocitosis defectuosa, las células apoptóticas experimentan necrosis secundaria, liberando su material al medio y fomentando un mayor crecimiento del núcleo necrótico.

5.4) Estabilidad de la placa de ateroma:

La placa fibrosa generada por las VSMC puede ayudar a estabilizar y actuar de barrera para que el contenido necrótico del interior de la placa no entre en contacto con la sangre, ya que actuaría como un factor protrombótico.

5.4.1) Placa estable:

Uno de los factores que ayuda al mantenimiento de esta cubierta fibrosa gruesa es la regulación del estado proinflamatorio de las células apoptóticas de la lesión gracias a la presencia de linfocitos T-reguladores (T-reg). Entre las funciones de estas células, podemos destacar, por un lado, la capacidad de inhibición sobre la síntesis de IFN- γ por parte de los linfocitos Th-1. Por otro lado, los linfocitos T-reg son otra fuente conocida de TGF- β e interleuquina-10 (IL-10), ambas moléculas con función reguladora promueven la síntesis de colágeno.

Una mayor presencia de linfocitos Th-2 también favorece la estabilidad de la placa, debido a que estimulan la aparición del fenotipo M2 de macrófagos a través de la secreción de moléculas como IL-4 o factores de transcripción del receptor PPAR γ . Además, podemos encontrar otras moléculas producidas por células inmunitarias como los mediadores especializados proresolución (SPM) donde se incluyen moléculas como anexinas-A1, resolvinas o lipoxinas (Fredman & Tabas, 2017), estos son derivados de ácidos grasos poliinsaturados que favorecen el mantenimiento de la placa. En concreto, las lipoxinas incrementan la capacidad fagocítica de los macrófagos.

5.4.2) Placa vulnerable

Un desequilibrio a favor de los factores proinflamatorios con respecto a los SPM puede tener consecuencias negativas para el pronóstico de la placa. El ambiente

inflamatorio estimula la muerte celular, incluida la de las VSMC, y también estimula un aumento de las metaloproteinasas que pueden incrementar la degradación y adelgazamiento de la placa aterosclerótica. Al mismo tiempo, el incremento del reclutamiento y la apoptosis de macrófagos genera un núcleo necrótico cada vez más grande. Los mediadores proinflamatorios producidos por células T, como IFN- γ también pueden repercutir negativamente en la capacidad de las VSMC de secretar y mantener la capa fibrosa. Estas condiciones en su conjunto generan una placa debilitada y vulnerable a la ruptura que exponga los materiales trombogénicos de su interior al medio sanguíneo, como el factor tisular, una molécula altamente trombótica segregada por macrófagos y VSMC. Su liberación al torrente sanguíneo puede generar agregación de plaquetas y coágulos que dificulten la circulación a zonas vitales como el corazón o el cerebro, generando isquemia que puede derivar en infarto. En el caso de que el coágulo se desprenda, formará un émbolo, una de las complicaciones más temidas de la aterosclerosis, pues posee la capacidad de viajar por el torrente sanguíneo y producir isquemia en vasos vitales. (Libby *et al.*, 2019)

5.5) Otros inhibidores de la aterosclerosis:

5.5.1) Óxido nítrico:

El óxido nítrico es una molécula de señalización generada a partir del aminoácido L-arginina por la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), con una importante función antiaterogénica, pues mantiene el reflejo vasomotor del sistema vascular evitando a la vez la formación de trombos, y media la vasodilatación inducida por la acetilcolina. Con una vida media de solo unos pocos segundos en el medio biológico, el óxido nítrico es capaz de difundir por el tejido endotelial y activar dos vías fundamentales para su efecto a nivel fisiológico; la **vía de la S-nitrosilación** y la **vía de la guanilato ciclasa soluble**:

La vía de la S-nitrosilación es análoga de la nitrosilación y modula reversiblemente la actividad de proteínas dianas encargadas de regular procesos celulares como el tono vascular, la relajación de vasos sanguíneos, la apoptosis, exocitosis, proliferación celular, etc (Stomberski *et al.*, 2019).

La vía de la Guanilato Ciclasa se activa en leucocitos, células del músculo liso y plaquetas, generando GMP cíclico. Como consecuencia, cada tipo celular desencadena una respuesta diferente, así:

- En **leucocitos** se da un decremento en la capacidad de adhesión
- En **plaquetas** se reprime su activación, adhesión y agregación
- En **células del músculo liso** se inhibe la activación la vía de señalización RhoA/ROCK que inhibe la fosforilación la cadena ligera de miosina, impidiendo la contracción muscular y por tanto la vasoconstricción (Gimbrone *et al.*, 2016).

5.5.2) Los mediadores especializados proresolución (SPM):

Son un grupo de moléculas derivadas de ácidos grasos como los omega-3 u omega-6, que actúan como contraparte de los factores inflamatorios, con los que en condiciones saludables, mantienen un equilibrio. Dentro de los SPM podemos numerar al menos 4 familias de proteínas; anexinas, resolvinas, lipoxinas y protectinas. Algunas moléculas como la lipoxina son quimioatrayentes de monocitos, que posteriormente al diferenciarse a macrófagos y exponerse a los SPM pueden, mejorar su capacidad eferocítica y sintetizar más SPM como la lipoxina-A4, la resolvina-E1 y la protectina-D1, lo que genera un ciclo de retroalimentación positiva (Kasikara *et al.*, 2018). Sobre los neutrófilos también tienen una serie de efectos como la reducción de su migración hacia la lesión aterosclerótica (quimiotaxis) y la inhibición de la excreción de ROS.

5.5.3) Lipoproteínas de alta densidad (HDL):

Son moléculas séricas que componen uno de los principales sistemas de eliminación del exceso de colesterol de los tejidos. En su estructura, podemos diferenciar, un núcleo lipídico formado triglicéridos y ésteres de colesterol. Rodeando a este núcleo, se localiza una capa de fosfolípidos anfipáticos entre los que encontramos apolipoproteínas, como la ApoE, o las más abundantes ApoA-I y ApoA-II, muy importantes en el mantenimiento estructural de las HDL y para la captación de colesterol libre, ya que ApoA-I es cofactor de la lecitina-colesterol aciltransferasa (LCAT), la enzima responsable de la esterificación de colesterol libre. Los ésteres de colesterol resultantes son hidrofóbicos y pueden formar parte del núcleo lipídico de HDL. La función de ApoA-II parece estar relacionada con otra proteína involucrada en el metabolismo del colesterol, denominada la proteína de transferencia de fosfolípidos (PLTP), sin embargo su efecto en la aterosclerosis no está todavía claro (Deng *et al.*, 2022).

5.6) Factores de riesgo cardiovascular:

Hiperlipidemia:

Debido a que el desarrollo de la placa de ateroma comienza con la internalización de lípidos en la túnica íntima, la hiperlipidemia, es uno de los principales factores de riesgo, ya que, la mayor presencia de lípidos aumenta las probabilidades de ser captados por las células endoteliales, lo que también exacerba aún más los niveles de estrés oxidativo y de citoquinas proinflamatorias. Esta condición puede ser provocada por multitud de factores, entre los que diferenciamos, los modificables, como estilo de vida sedentario, dieta con alto contenido en triglicéridos, tabaquismo. Y los factores no modificables, como, la genética, el sexo masculino, la edad avanzada, etc. Normalmente la hiperlipidemia que aparece en edades tempranas se debe a causas monogénicas, a diferencia de las hiperlipidemias en la población adulta, que suelen tener una base poligénica junto con factores extrínsecos (Carrasquilla *et al.*, 2021).

Hipertensión:

Se conoce como hipertensión al aumento de la presión arterial en reposo por encima de los niveles estándar (<40/190 mmHg) (Whelton *et al.*, 2018). Está asociada con la hiperlipidemia, y sus causas subyacentes. Puede producir diferentes efectos como alteraciones en el flujo sanguíneo y fuerzas hemodinámicas que provoquen daños en el endotelio, como la descamación endotelial focal. Esto incita la adhesión de plaquetas y la liberación de PDGF, que facilitan posteriormente la llegada de VSMC para formar la placa fibrosa (Gimbrone *et al.*, 2016).

Diabetes mellitus:

Tanto la diabetes de tipo 1 como de tipo 2 son enfermedades metabólicas crónicas, caracterizadas por defectos en la acción y/o producción de insulina cuya característica en común es una elevación de glucosa en sangre respecto a los niveles estándar. Ambas suelen llevar consigo un mayor riesgo de desarrollar tanto aterosclerosis como calcificación en la túnica íntima, la túnica media, o en periféricas de extremidades. Sin embargo, cada diabetes presenta un factor de riesgo cardiovascular diferente, mientras que en la diabetes de tipo 1 encontramos un alto nivel de glucosa en sangre (hiperglucemia), en la diabetes de tipo 2 suele ir acompañada también por una hipertensión e hiperlipidemia, lo que en última instancia marca un cambio de rumbo para el desarrollo de la arterioesclerosis. Ambos tipos de diabetes son el segundo factor

de riesgo más importante para el accidente cerebrovascular provocado por isquemia (Yahagi *et al.*, 2017).

La hiperglucemia favorece la vía AGE/RAGE, ya que el exceso de glucosa facilita reacciones de glicación, produciendo bases de Schiff, que posteriormente se convierten en productos finales de la glucosilación (AGE).

El exceso de glucosa favorece la vía de los polioles, una vía metabólica que usa glucosa para producir sorbitol y fructosa, consumiendo en el proceso poder reductor en forma de NADPH. Este alto consumo, por un lado, disminuye el poder reductor disponible para que la glutatión reductasa pueda mantener el glutatión en su forma reducida (GSH). Lo que conlleva que uno de los antioxidantes más importante a nivel intracelular disminuya y por tanto aumenten las concentraciones de ROS. Por otro lado, la ruta de los polioles, en presencia de una desregulación de NADP/NAD⁺ puede generar diacilglicerol por la oxidación del sorbitol, siendo este último un potente activador de la proteína quinasa C (PKC), que desencadena una cascada de señalización donde se involucran moléculas como, los tipos Nox, NF-κB y TGF-β. Entre estas moléculas, los tipos Nox son muy importantes, pues, junto con la NOS, es una de las principales fuentes de ROS en la vasculatura. Estas ROS interactúan con el ADN, estimulando vías de señalización relacionadas con el daño celular, inflamación y la deposición de matriz extracelular, y estimulando genes vasoconstrictores como endotelina-1, al mismo tiempo que inhibe genes relacionados con la dilatación de los vasos, como el óxido nítrico (Yahagi *et al.*, 2017).

Enfermedad renal crónica (ERC):

Es una afección caracterizada por la pérdida progresiva de la capacidad de filtrar, eliminar desechos y exceso de líquido por parte de los riñones. Una de las características más notables de esta afección son los niveles elevados de fosfato sérico (Pi), que se relacionan con calcificación vascular, y son un predictor relevante de mortalidad y morbilidad por causas cardiovasculares dentro de la población con ERC.

Los afectados por ERC suelen presentar cambios proinflamatorios en el organismo. Estos incluyen, por una parte, un cambio cualitativo en el perfil lipídico sérico, con una reducción en el tamaño de partículas LDL, una acumulación de VLDL, y una pérdida de las funciones protectoras de HDL, junto con un aumento en las citoquinas inflamatorias y también en la proteína C reactiva (PCR), una proteína

producida en el hígado cuyos niveles se asocian con la presencia de placa y eventos cardiovasculares en la población general (Valdivielso *et al.*, 2019). Por otra parte, el aumento de los niveles de fosfato, induce disfunción mitocondrial en las VSMC, caracterizada entre otras cosas por una cadena de transporte de electrones deficiente que genera un aumento de las especies reactivas de oxígeno (ROS) y también la apoptosis mitocondrial mediada por el poro de transición de permeabilidad mitocondrial, una proteína que permite la libre circulación de moléculas inferiores a 1500 daltons entre la membrana interna y la matriz mitocondrial, provocando así la destrucción de su homeostasis celular (Lee *et al.*, 2020). Asimismo, este aumento de los niveles de fosfato séricos, se relaciona directamente con la presencia de cristales de fosfato de calcio y toxinas urémicas que, inducen en macrófagos y células vasculares una respuesta proinflamatoria. Las toxinas urémicas, además, promueven la comunicación cruzada entre células endoteliales y macrófagos, que como resultado favorece el traspaso de moléculas a través de la pared vascular.

Sin embargo, no todas las etapas de la ERC presentan la misma progresión de placa aterosclerótica. Así la etapa 3, los niveles altos de fosfato se relacionan con la progresión de la placa ateromatosa tanto en la media como en la íntima, con la disminución de la enzima Klotho y el aumento de FGF23. Sin embargo, la etapa 4, caracterizada por un menor filtrado glomerular, presenta mucha menos progresión de la placa en comparación etapas anteriores. Por lo que no hay consenso si la ERC avanzada se asocia o no a la progresión acelerada o más lenta de la aterosclerosis (Valdivielso *et al.*, 2019).

5.7) Implicaciones de la hemodinámica:

Estudios recientes han descubierto que las lesiones ateroscleróticas se desarrollan principalmente en zonas de ramificación arterial, de formas que, zonas con un flujo laminar no perturbado expresan una geometría típica de endotelio resistente a lesiones mientras que zonas expuestas a un flujo perturbado como el que se genera en puntos de ramificación, favorecen un aumento del estrés oxidativo, cambios en la morfología y organización del citoesqueleto, además de modificaciones en las proteínas encargadas de la unión entre células, lo que facilita la internalización de lipoproteínas al espacio de la íntima.

Dicha respuesta al tipo de flujo está mediada por elementos de respuesta al estrés de cizalla (SSRE) localizados en los promotores de genes que son regulados al alza o a la baja. En el caso de un flujo no perturbado, enzimas con efectos antioxidantes, antitrombóticos, antiinflamatorios y antiadhesivos se regulan positivamente dentro del músculo liso vascular, plaquetas y leucocitos. Dentro de estas enzimas encontramos eNOS, superóxido dismutasa dependiente de manganeso y la isoforma soluble de la ciclooxigenasa (COX). Otras moléculas como VCAM-1 e IL-8 también muestran un aumento de su expresión gracias a la influencia del factor pleiotrópico NF- κ B bajo condiciones ateropronas.

Sin embargo, sobre el 70% de la protección, generada gracias al flujo ateroprotector (inalterado), es promovida por la expresión de los factores de transcripción KLF2, KLF4 y Nrf2 que median la conversión hacia el fenotipo antitrombótico y antiinflamatorio en las células endoteliales. Nrf2 se activa gracias a la vía de supervivencia celular fosfoinositol-3-quinasa/AKT, ejerciendo control sobre las vías relacionadas a la resistencia al estrés oxidativo y al mantenimiento del equilibrio RedOx. Aunque su expresión es independiente al KLF2/4, en presencia de estos genes su actividad se ve potenciada. Además, tanto KLF2 como KLF4 son capaces de favorecer la producción de óxido nítrico.

También se ha demostrado que las fuerzas hemodinámicas actúan mediante modificaciones epigenéticas, como por ejemplo la activación del promotor del KLF4 en presencia de un flujo ateroprónico (perturbado) (Gimbrone *et al.*, 2016).

5.8) Estrategias de prevención:

Factores comunes en la población del primer mundo, como un estilo de vida sedentario, una mayor esperanza de vida, el tabaquismo, o una ingesta calórica rica en grasas, azúcares y sal, son causantes del aumento de casos de aterosclerosis. La parte positiva es que gran parte de estos factores pueden eliminarse. La Organización para evaluar estrategias en síndromes isquémicos agudos (OASIS) realizó un estudio en pacientes afectados por síndromes coronarios agudos, donde se encontró que el seguimiento de una dieta sana, abandono del tabaco y ejercicio físico mostró una mejoría sustancial en relación a los eventos cardiovasculares solo 30 días después del síndrome coronario agudo. Llegando hasta un 50% menos de riesgo coronario a los 6 meses (Collet *et al.*, 2021).

5.8.1) Ejercicio:

El ejercicio físico, en concreto el aeróbico, ha demostrado tener efectos beneficiosos al modificar los patrones de flujo cerca de los puntos de ramificación arterial. Así, el aumento de la demanda de oxígeno por parte de los músculos estimula una mayor cantidad de sangre y por tanto de la presión sanguínea. De hecho, experimentos de cultivo celular han mostrado como presiones de entre 20 a 100mmHg se relacionan con un mayor crecimiento en comparación con la ausencia de presión.

Otro efecto de la tensión circunferencial generada por el aumento de la presión sanguínea es la respuesta morfológica de las células endoteliales, cuyo mecanismo para reconocer estímulos implica moléculas de adhesión como las integrinas o receptores de proteínas G. Estos actúan como receptores y activan cascadas de señalización intracelular involucradas en la secreción de MMPs que modifican los componentes de la matriz extracelular, produciendo finalmente una remodelación y adaptación de la arteria a un mayor flujo sanguíneo.

Además, otros estudios respaldan que la exposición a tensión circunferencial de manera cíclica altera la expresión genética de las células vasculares, siendo remarcable una mayor liberación de eNOS con el consecuente aumento de niveles de óxido nítrico, pero también de moléculas proaterogénicas como ROS y VCAM-1. Los datos respaldan la idea de que el patrón de cambio de tensión circunferencial es muy relevante, pues la secreción crónica de ROS no se compensa con la de eNOS, provocando adaptaciones perjudiciales. Sin embargo, el aumento transitorio de la presión sanguínea asociado con las series de ejercicios sí puede aumentar la expresión de eNOS a niveles beneficiosos., en comparación con el aumento de la tensión crónico (Green *et al.*, 2017).

5.8.2) Dieta:

El consumo de ácidos grasos insaturados como el ácido oleico y el linoléico estimulan la síntesis de quilomicrones (QM) en contraste con ácidos grasos saturados como el ácido palmítico. Por otro lado, el alto contenido en colesterol de la dieta puede favorecer la expresión de moléculas como adhesivas como VCAM-1 y quimioatrayentes, promoviendo por tanto la adhesión e internalización de leucocitos a desde la superficie del endotelio hacia el espacio de la íntima (Libby *et al.*, 2019).

El consumo excesivo de sal también puede resultar perjudicial, pues aumenta la cantidad de sodio en sangre, reteniendo más líquidos por efecto de la osmosis y por tanto causando un aumento de la presión sanguínea (hipertensión).

Por esta serie de motivos es importante consumir una dieta de calidad, La OMS, recomienda que por una parte se limite el consumo de grasas, hidratos de carbono y sales de sodio, mientras que por otra parte se aumente el consumo de alimentos de origen vegetal como frutas y verduras ya que poseen propiedades antiinflamatorias y antioxidantes (Jankovic *et al.*, 2015).

5.8.3) Tabaquismo:

Se considera uno de los principales factores de riesgo evitables para el desarrollo de la aterosclerosis. Pues las sustancias tóxicas inhaladas, como el monóxido de carbono (CO), y las especies ROS, causan un estrés oxidativo e inflamatorio en las vías respiratorias y los alveolos, que posteriormente causan daño al endotelio vascular y favorecen la oxidación de lipoproteínas (Chow *et al.*, 2010).

5.9) Terapias clásicas, actuales y en desarrollo:

Parte del tratamiento de la enfermedad aterosclerótica una vez que se ha presentado, consiste en promover o mantener las estrategias de prevención anteriormente explicadas, pero añadiendo el uso de fármacos para controlar o reducir los síntomas y la progresión de la enfermedad. Dentro de los tipos de tratamientos, diferenciaremos, los tratamientos farmacológicos hipolipemiantes, donde se incluyen estatinas y PCSK9, y los tratamientos no hipolipemiantes, en los que se incluyen los antiagregantes plaquetarios (Libby *et al.*, 2019).

5.9.1) Tratamientos hipolipemiantes:

Son los que tienen como función principal la reducción de los niveles de colesterol y triglicéridos. Siguen siendo el pilar fundamental del tratamiento de la aterosclerosis, ya que los cambios en la carga de colesterol transportado por LDL (LDL-c) son inequívocamente agentes causantes de eventos cardiovasculares. Esto está respaldado por estudios epidemiológicos con más de 2 millones de participantes con más de 20 millones de años-persona (Ference *et al.*, 2017).

Estatinas:

Son una clase de fármacos usados tanto para prevenir como para tratar la aterosclerosis gracias a sus diferentes funciones cardioprotectoras, pues ayudan a reducir los niveles de colesterol en sangre e inhiben procesos inflamatorios, lo que ayuda a estabilizar la placa.

La reducción de colesterol en el organismo se basa en la inhibición competitiva de la HMG-CoA reductasa. Una enzima hepática fundamental para la conversión de HMG-CoA hasta mevalonato, que es un precursor clave en la biosíntesis de colesterol. La consecuencia del tratamiento con estatinas es una reducción drástica de entre el 20 y el 60% en los niveles de LDL, esto se debe a que el colesterol es uno de sus componentes esenciales. De hecho, en un estudio realizado a 170000 individuos se encontró una reducción de hasta una quinta parte en los eventos cardiovasculares por cada reducción de mmol/L en la concentración de LDL-C. Asimismo, se ha evidenciado un incremento leve en los niveles de HDL gracias a las estatinas (Linton *et al.*, 2019).

Inhibidores de PCSK9:

Los fármacos Alirocumab y Evolocumab son dos nuevos métodos para tratar hiperlipidemias. Son anticuerpos monoclonales capaces de unirse a la proteína PCSK9 inhibiéndola. PCSK9 es una enzima con actividad endoproteasa, que actúa uniéndose a los receptores de LDL y promoviendo la degradación celular. Diferentes estudios han demostrado una disminución de hasta el 60% de la carga de LDL-C al inhibir PCSK9 mediante el uso de estos medicamentos (Libby *et al.*, 2019). Se plantea el uso de PCSK9 junto con estatinas para producir una disminución aún mayor en los niveles de LDL-C, por encima de lo que se ha podido conseguir hasta ahora (Sabatine *et al.*, 2017) e incluso conseguir una remisión de la placa aterosclerótica (Nicholls *et al.*, 2016).

5.9.2) Tratamientos no hipolipemiantes:

Fármacos antiinflamatorios:

Este tipo de medicamentos tiene la función de atenuar la cascada proinflamatoria característica de la aterosclerosis. Un ejemplo sería Canakinumab, un anticuerpo monoclonal capaz de inhibir a la IL-1 β por unión física. Su efectividad clínica se ha probado en un estudio donde se evaluaba la incidencia de eventos cardiovasculares mayores (MACE) en pacientes tras un infarto de miocardio, los resultados fueron de

una reducción de un 25% para los pacientes con menor evidencia de inflamación, y una reducción del 15% para pacientes con mayor evidencia de inflamación. La inflamación se medía con el uso de proteína C reactiva (PCR) (Eikelboom *et al.*, 2017).

Fármacos antiagregantes plaquetarios:

Uno de los riesgos más temidos de la aterosclerosis es el desprendimiento de un trombo que cause isquemia. Las plaquetas forman parte fundamental en la formación y composición de los coágulos sanguíneos mediante mecanismos de agregación y activación enzimática, por lo que una reducción en su capacidad de agregación aparentemente podría ser beneficiosa. Sin embargo, este suele ser un tratamiento y no un modelo de prevención, ya que se aumenta el riesgo de hemorragias (Libby *et al.*, 2019). Ejemplos de antiagregantes son la aspirina o el rivaroxabán, ambos fármacos en conjunción mostraron una mejora en los resultados cardiovasculares de pacientes con placa estable, no obstante, también aumentaron los eventos hemorrágicos en comparación con el uso único de la aspirina (Eikelboom *et al.*, 2017).

5.9.3) Tratamientos quirúrgicos:

Para el abordar la obstrucción arterial ocasionada por la placa de ateroma, también se pueden realizar intervenciones quirúrgicas, tratando así de restaurar el flujo sanguíneo. Las operaciones más comunes son:

Angioplastia con colocación de stent:

Es un procedimiento poco invasivo donde se inserta un catéter con un balón en el sitio de la obstrucción arterial. Entonces el balón se infla, comprimiendo las paredes de la arteria para restaurar el flujo. Para evitar el posterior estrechamiento se utiliza una malla metálica denominada stent. Es una de las operaciones más comunes pues muestra resultados favorables a largo plazo y normalmente su periodo de hospitalización no requiere de más de un día (Thomas *et al.*, 2015). Sin embargo presenta riesgos significativos, ya que el stent puede provocar una respuesta inmunitaria con la consiguiente generación de tejido cicatricial alrededor de él. Además, en el caso de que se dañe la pared, podría producirse una cascada inflamatoria que conlleve la formación de coágulos. Con el fin de evitar la coagulación se recetan fármacos antiplaquetarios a largo plazo tras la colocación del stent (Zipes *et al.*, 2018).

Endarterectomía:

Se conoce como endarterectomía a la intervención quirúrgica donde se retira el material de la placa ateromatosa mediante una incisión en la arteria. Debido a que es una cirugía muy invasiva, se recomienda por encima de la angioplastia en casos de estenosis grave de la arteria carótida en pacientes asintomáticos (Moresoli *et al.*, 2017). Además, al igual que para la angioplastia, se suelen utilizar medicamentos antiplaquetarios.

Bypass arterial:

En este procedimiento se utiliza un injerto para reestablecer el flujo de sangre a una zona isquémica, creando un nuevo camino. Esta una técnica muy utilizada para restaurar el flujo sanguíneo coronario, sobre todo en pacientes para los que la angioplastia no está recomendada o no ha sido eficaz (Bojar, 2020).

6) CALCIFICACIÓN DE LA PLACA:

La calcificación de la placa es un proceso de deposición de hidroxapatita y/o fosfato de calcio en la pared arterial que puede ocurrir tanto en la túnica íntima como en la media. El resultado es la generación de una placa dura que reduce la distensibilidad arterial, aumentando la presión del pulso, restringiendo el paso de sangre y deteriorando la función cardiovascular. Aunque también puede estabilizar la placa aterosclerótica, evitando su posible ruptura y posterior liberación de contenido al torrente sanguíneo. A pesar de haber sido estudiada desde hace mucho tiempo, sigue siendo un tema candente en el mundo de la investigación, pues además de asociarse a un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares, puede servir como marcador de condiciones, como la aterosclerosis, la diabetes mellitus, o la enfermedad renal crónica (ERC). Esto puede tener un impacto positivo en la sociedad, ya que se facilitan los tratamientos médicos, su costo y las consecuencias a largo plazo que estos tienen sobre los pacientes (Durham *et al.*, 2018).

6.1) Vías moleculares:

Una de las vías más importantes dentro de la calcificación arterial corresponde a la cascada de señalización AGE/RAGE. Para que se produzca esta vía, son necesarios dos tipos de componentes. Por un lado, tenemos los AGE o Productos Finales de Glicación Avanzada, que son moléculas generadas por la interacción de grupos amino de algunas moléculas como proteínas y lípidos, con azúcares reductores como la

glucosa, o la fructosa. Por otro lado, sus respectivos receptores de membrana, conocidos como RAGE, se expresan en un gran abanico de células, entre las que se encuentran VSMC y macrófagos. La unión de AGE junto a RAGE da como resultado la activación de PKC- ζ , y las consecuentes vías de señalización NOX-1, NF- κ B y TGF- β , junto a un aumento de los niveles de especies reactivas de oxígeno.

Dentro de la familia de los factores de crecimiento transformante beta (TGF- β) que se expresan en la placa, podemos encontrar algunos miembros que actúan promoviendo la calcificación, como es el caso de la proteína morfogénica ósea 2 (BMP-2) o la proteína morfogénica ósea 9 (BMP-9). BMP-2 es capaz de activar Runx2, uno de los factores de transcripción iniciales que regula la transición de las VSMC desde un fenotipo contráctil a osteogénico, ya que lo podemos encontrar en osteoblastos tempranos. Posteriormente se expresa SP7, también conocido como osterix, implicada en la progresión de osteoblastos tempranos a tardíos. Se sabe que la vía Wnt regula la maduración de los osteoblastos a través de la activación de la beta-catenina, facilita la progresión del estadio Runx2⁺ hasta Runx2⁺SP7⁺ y posteriormente hasta osteoclastos maduros. Gracias a su dominio de homología Runt (RHD), puede interaccionar física y funcionalmente con el factor de transcripción SP7 (Yahagi *et al.*, 2017). Aunque todavía no se conocen los mecanismos exactos por los que Runx2 induce el paso a fenotipo osteogénico. BMP-9 sin embargo actúa, junto con TGF- β entre otras proteínas, en la diferenciación osteogénica de células mesenquimales producto de la transición de endotelio a mesénquima (EndMT) (Sánchez-Duffhues *et al.*, 2019). Este proceso está favorecido por TNF- α e IL-1 β , e implica la pérdida de las características endoteliales y la posterior diferenciación a un fenotipo similar a fibroblastos. Runx2 también se induce por el aumento de las concentraciones intracelulares de fosfato inorgánico en las células musculares, gracias a que el transportador de fosfato PIT-1, ubicado en sus membranas, presenta una regulación al alza cuando las concentraciones de fosfato aumentan en el medio por diferentes motivos, como la enfermedad renal crónica (ERC), aumento de la vitamina D, etc. (Chavkin *et al.*, 2015). Además, al igual que para la formación de la placa aterosclerótica, las ROS favorecen la calcificación debido a la inducción de citoquinas proinflamatorias anteriormente explicada, pero también pueden activar Runx2 a través de la vía AKT (Yahagi *et al.*, 2017).

Otra de las formas principales de activar NF- κ B es mediante la unión del ligando del receptor activador del factor nuclear κ β (RANKL) junto a su receptor, expresado

por VSMC de fenotipo osteoblástico. Además, RANKL también se ha relacionado con la secreción de citoquinas IL-6 por parte de macrófagos, estimulando la calcificación y la diferenciación osteocondrogénica (Durham *et al.*, 2018). La vía NF- κ B-RANKL también se ha relacionado con la producción de citoquinas procalcificantes como IL-1 β y TNF α . De hecho, TNF- α inducido de esta forma promueve la calcificación suprimiendo el efecto del Pirofosfato, uno de los inhibidores principales de la precipitación de hidroxapatita. Dentro de los inductores de la vía NF- κ B-RANKL podemos encontrar a la angiotensina II, una de las principales hormonas peptídicas vasoconstrictoras pertenecientes al sistema renina-angiotensina-aldosterona, un sistema con un papel fundamental en la regulación de la presión arterial y el equilibrio hídrico corporal. La regulación positiva del receptor de Angiotensina II (AT₂R), se ha relacionado con el curso de la osteogénesis, mientras que su regulación negativa la inhibe (Vossen *et al.*, 2019).

6.2) Calcificación de la íntima:

Relacionada con la ruptura de la placa aterosclerótica y con la obstrucción arterial. La calcificación íntima se suele encontrar en individuos con hiperlipidemia, síndromes metabólicos, gran cantidad de citoquinas proinflamatorias en sangre, y otras condiciones relacionadas a la aterosclerosis, ya que, en presencia de un ambiente inflamatorio, las VSMC con linaje osteocondrogénico y los macrófagos del núcleo necrótico pueden perder inhibidores de la calcificación como la fetuina-A y las proteínas Gla, lo que se relaciona con la liberación de vesículas extracelulares cargadas de lípidos, microARN y proteínas como la anexina, con gran capacidad de unión al calcio. Las vesículas extracelulares o restos necróticos ricos en fosfolípidos junto a regiones con una disminución local de las fibras de colágeno, forman el sitio de nucleación que marcará el comienzo del proceso de mineralización. En este sitio se deposita ortofosfato de calcio, que progresa a una forma amorfa de calcio y posteriormente a cristales de hidroxapatita. Por otro lado, las VSMC se pueden transdiferenciar a un fenotipo similar a osteoblastos/condrocitos (Nakahara *et al.*, 2017).

6.3) Calcificación de la media:

También conocida como Arterioesclerosis de Monckeberg, es un tipo de calcificación que se da principalmente en arterias de pequeño calibre y arteriolas producto de la diferenciación de VSMC a osteocondrocitos y su posterior segregación

de matriz extracelular calcificada. Está asociada a una variedad de condiciones, como diabetes mellitus, enfermedad renal crónica (ERC), y envejecimiento (Durham *et al.*, 2018). Sin embargo, a diferencia de la calcificación íntima, puede ocurrir en ausencia de hiperlipidemia y células inflamatorias, además debido a que la formación de placa se da en la media, no tiene por qué haber una previa migración de VSMC al espacio de la íntima.

6.4) Inhibidores de la calcificación:

La proteína Gla de matriz (MGP):

Es una proteína sintetizada tanto por VSMC como por condrocitos, que posee un papel fundamental en la inhibición de la calcificación. La emisión de vesículas extracelulares cargadas de MGP activa por las VSMC previene la calcificación. Para que MGP sea biológicamente activa sus residuos de glutamato, deben carboxilarse postraduccionalmente por la enzima gamma-glutamylcarboxilasa dependiente de la vitamina K. Aunque su mecanismo de funcionamiento todavía no se conoce por completo, numerosos estudios apuntan a su función como regulador negativo de la actividad de BMP-2, Además su alta afinidad por los iones de calcio, sugiere que ayuda a evitar la acumulación y deposición de cristales de hidroxapatita (Bjørklund *et al.*, 2020). La actividad de MGP puede estar influenciada por varios mecanismos con el potencial de usarse como biomarcadores para predecir la progresión de la calcificación vascular.

Klotho:

Es una enzima transmembrana producida principalmente por células renales y también por enterocitos, VSMC y otros tejidos, que cumple una función inhibitoria sobre los transportadores de fosfato PIT-1/-2 mediante su unión física. Además actúa junto con el factor de crecimiento de fibroblastos-23 (FGF-23) para reducir la reabsorción de fosfato en el riñón y fósforo en el intestino. (Yamada & Giachelli, 2017)

Pirofosfato (PP):

Es una molécula compuesta de dos grupos fosfato unidos por un enlace de tipo éster, con función clave en la prevención de la calcificación vascular. Su síntesis se lleva a cabo por la nucleótido pirofosfatasa/fosfotransferasa (ENPP1) a partir de ATP en el entorno intracelular. Posteriormente, la proteína de membrana anquilosa (ANKH)

libera el PP al medio extracelular, donde reprime la nucleación y el crecimiento la hidroxiapatita (Lee *et al.*, 2020).

La fetuina-A:

Una glicoproteína sintetizada por el hígado y liberada al torrente sanguíneo, donde realiza una función relacionada a la inmunidad innata y de transporte de ácidos grasos. Es capaz de ingresar en las vesículas extracelulares, inhibiendo la nucleación y precipitación de fosfato de calcio. De hecho varios estudios vinculan niveles bajos de fetuina-A con calcificación vascular, rigidez arterial y eventos cardiovasculares (Lee *et al.*, 2020).

Osteoprotegerina (OPG):

Es una glicoproteína soluble con función de receptor de citoquinas sintetizado tanto por VSMC como por condrocitos. Interviene en la función del receptor RANK, uno de los receptores capaces de activar la vía NF- κ B, puesto que OPG es capaz de unirse al ligando del receptor (RANKL), evitando así que este último interactúe con RANK. Sus niveles por tanto son un marcador útil para predecir la vulnerabilidad de la placa, además de su uso terapéutico para prevenir la progresión de la calcificación (Lee *et al.*, 2020).

Osteopontina (OPN):

Es una proteína secretada principalmente por las VSMC. Debido a sus fosfoserinas cargadas negativamente, posee una gran afinidad de unión por las cargas positivas de los iones de calcio y fosfato de la hidroxiapatita, lo que le permite inhibir la generación y crecimiento de cristales de calcio (Lee *et al.*, 2020).

SOX-9:

Conocido como factor de transcripción SOX9, es una importante proteína con función inhibitoria sobre la actividad de Runx2. Esta actividad se media por la unión física entre ambas proteínas, cuyas concentraciones relativas determinan el fenotipo final de la célula del músculo liso vascular (Durham *et al.*, 2018).

6.5) Factores de riesgo para la calcificación vascular:

El hecho de que la aterosclerosis predisponga para la calcificación vascular explica que comparta factores de riesgo con la calcificación vascular, como puede ser la edad avanzada, el sexo masculino, la hipertensión, diabetes mellitus, ERC, etc.

Enfermedad Renal Crónica (ERC):

El organismo regula los niveles séricos de Pi mediante el equilibrio entre la absorción intestinal de Pi, la reabsorción tubular renal de Pi y la excreción renal. La pérdida progresiva de la función renal es compensada hasta cierto punto gracias a la secreción de hormonas que aumentan la excreción de fósforo como FGF23 y la hormona paratiroidea (PTH). Sin embargo llega un momento, donde la pérdida de función renal es tan grave, que su capacidad de filtración de Pi es inferior al consumo dietético (Yamada & Giachelli, 2017).

El aumento de fosfato en sangre es captado por los cotransportadores dependientes de sodio PiT-1 y PiT-2 en las VSMC. La internalización por parte de PiT-1 favorece, la expresión de genes propios de osteocondrocitos a través de Runx2, apoptosis celular y la formación de vesículas extracelulares calcificante. Por otro lado, se ha observado que PiT-2 protege de la calcificación, aunque no se conocen todavía las vías exactas (Yamada & Giachelli, 2017).

Diabetes mellitus (DM):

El aumento de productos finales de la glucosilación (AGE) a raíz del aumento de glucosa en sangre conlleva un incremento de las interacciones con su receptor RAGE y las vías correspondientes. Podemos destacar, una mayor activación de la vía Runx2 por la mayor presencia de BMP-2 y por la vía AKT activada por ROS, esto lleva a una mayor presencia de osteoblastos. Por otra parte, la conversión de células endoteliales en EndMT mediada por BMP-9 favorece su posterior diferenciación a osteoblastos. La señalización AGE/RAGE también se asocia con la presencia de citoquinas inflamatorias como TNF- α , IL-1 β y IL-6 (Sanchez-Duffhues *et al.*, 2019).

6.6) Estrategias de prevención:

Tanto la aterosclerosis como la calcificación poseen muchas estrategias de prevención en común, debido a que en muchos casos, la calcificación de la íntima se genera a partir de la placa ateromatosa. Dentro de estas estrategias en común podemos nombrar el consumo de una dieta sana, evitando el consumo excesivo de sal, el

tabaquismo, realizar ejercicio físico regularmente, controlando las enfermedades crónicas como la ERC, los niveles de glucosa en sangre, los niveles de colesterol y de tensión sanguínea. También es importante llevar a cabo un control de los factores de riesgo provocados por condiciones preexistentes, como pueden ser la diabetes, la ERC, la hiperlipidemia, la hipertensión o la edad avanzada.

6.7) Estrategias de tratamiento:

Al igual que ocurre con las estrategias de tratamiento para la aterosclerosis, es conveniente mantener las estrategias de prevención al mismo tiempo que se aplican tratamientos ya sean farmacológicos o dietéticos. Sin embargo, todavía no se disponen de biomarcadores certeros para poder controlar el estado de la calcificación en humanos.

Tratamientos dietéticos:

Este tipo de enfoques se centran en la modificación de la dieta con la finalidad de promover un consumo preferente de ciertos compuestos con propiedades antiaterogénicas. Se han realizado estudios y pruebas sobre el uso de ciertas vitaminas y su impacto sobre la función cardiovascular, entre ellos, la vitamina K ha mostrado resultados prometedores. La vitamina K desempeña un papel fundamental en la activación de la proteína Gla de matriz (MGP), que tiene una función anticalcificante en los vasos sanguíneos. De hecho, varios estudios han demostrado una relación inversa entre la calcificación y el consumo de melanoquinonas (Vossen *et al.*, 2019).

También podemos mencionar el papel de los antioxidantes, donde destacamos el magnesio, un compuesto respaldado por estudios observacionales y ensayos de intervención donde asocian su ingesta con una menor calcificación vascular. Sin embargo, todavía se requieren mas estudios bien diseñados, aleatorizados y controlados para validar su uso clínico (Hénaut & Massy, 2018).

Tratamientos farmacológicos:

Los tratamientos farmacológicos para la calcificación vascular como los bloqueadores de canales de calcio o los inhibidores del sistema renina-angiotensina han demostrado resultados prometedores en estudios preclínicos y en animales. Sin embargo su eficacia en humanos es aún incierta, pues generan resultados ambiguos y contradictorios. Se

necesita todavía mas investigación para determinar su verdaderos impacto en el tratamiento de la calcificación vascular (Vossen *et al.*, 2019).

7) CONCLUSIONES:

La importante presencia de las cardiopatías relacionadas a la arteriosclerosis en la sociedad presentan un gran costo humano, tanto en número de vidas como en calidad de vida, además de una gran presión sobre los recursos y sistemas de salud. Esto se agrava con el hecho de que un importante porcentaje de las personas que padecen arteriosclerosis, también sufren una función cardiovascular deficiente durante toda su vida a pesar de los tratamientos y las medidas de prevención.

Aunque el avance en el conocimiento de este tipo de patología es constante e imparables, no se debe confiar únicamente en las terapias. Por ello es de suma importancia concienciar sobre la adopción de hábitos de vida saludables, haciendo gran incapié en las medidas preventivas.

Bibliografía:

- Badran, A., Nasser, S. A., Mesmar, J., El-Yazbi, A. F., Bitto, A., Fardoun, M. M., ... & Eid, A. H. (2020). Reactive oxygen species: modulators of phenotypic switch of vascular smooth muscle cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8764.
- Basatemur, G. L., Jørgensen, H. F., Clarke, M. C., Bennett, M. R., & Mallat, Z. (2019). Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis. *Nature reviews cardiology*, 16(12), 727-744.
- Bjørklund, G., Svanberg, E., Dadar, M., Card, D. J., Chirumbolo, S., Harrington, D. J., & Aaseth, J. (2020). The role of matrix Gla protein (MGP) in vascular calcification. *Current Medicinal Chemistry*, 27(10), 1647-1660.
- Bojar, R. M. (2020). *Manual of perioperative care in adult cardiac surgery*. John Wiley & Sons.
- Carrasquilla, G. D., Christiansen, M. R., & Kilpeläinen, T. O. (2021). The genetic basis of hypertriglyceridemia. *Current Atherosclerosis Reports*, 23(8), 39.
- Chavkin, N. W., Chia, J. J., Crouthamel, M. H., & Giachelli, C. M. (2015). Phosphate uptake-independent signaling functions of the type III sodium-dependent phosphate transporter, PiT-1, in vascular smooth muscle cells. *Experimental cell research*, 333(1), 39-48.
- Chow, C. K., Jolly, S., Rao-Melacini, P., Fox, K. A., Anand, S. S., & Yusuf, S. (2010). Association of diet, exercise, and smoking modification with risk of early cardiovascular events after acute coronary syndromes. *Circulation*, 121(6), 750-758.
- Collet, J. P., Thiele, H., Barbato, E., Barthelémy, O., Bauersachs, J., Bhatt, D. L., ... & Siontis, G. C. (2021). Guía ESC 2020 sobre el diagnóstico y tratamiento del síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST: Comentarios a la guía ESC 2020 sobre el tratamiento del síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST (contenido relacionado). *Revista española de cardiología*, 74(6), 544-544. (Collet *et al.*, 2021)
- Deng, S., Xu, Y., & Zheng, L. (2022). HDL Structure. In *HDL Metabolism and Diseases* (pp. 1-11). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Durham, A. L., Speer, M. Y., Scatena, M., Giachelli, C. M., & Shanahan, C. M. (2018). Role of smooth muscle cells in vascular calcification: implications in atherosclerosis and arterial stiffness. *Cardiovascular research*, 114(4), 590-600.
- Eikelboom, J. W., Connolly, S. J., Bosch, J., Dagenais, G. R., Hart, R. G., Shestakovska, O., ... & Yusuf, S. (2017). Rivaroxaban with or without aspirin in stable cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine*, 377(14), 1319-1330.
- Ference, B. A., Ginsberg, H. N., Graham, I., Ray, K. K., Packard, C. J., Bruckert, E., ... & Catapano, A. L. (2017). Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *European heart journal*, 38(32), 2459-2472.
- Fredman, G., & Tabas, I. (2017). Boosting inflammation resolution in atherosclerosis: the next frontier for therapy. *The American journal of pathology*, 187(6), 1211-1221.

- Gimbrone Jr, M. A., & García-Cardeña, G. (2016). Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis. *Circulation research*, 118(4), 620-636.
- Green, D. J., Hopman, M. T., Padilla, J., Laughlin, M. H., & Thijssen, D. H. (2017). Vascular adaptation to exercise in humans: role of hemodynamic stimuli. *Physiological reviews*, 97(2), 495-528.
- Hafiane, A., Gasbarrino, K., & Daskalopoulou, S. S. (2019). The role of adiponectin in cholesterol efflux and HDL biogenesis and metabolism. *Metabolism*, 100, 153953.
- Hénaut, L., & Massy, Z. A. (2018). Magnesium as a calcification inhibitor. *Advances in Chronic Kidney Disease*, 25(3), 281-290.
- Jankovic, N., Geelen, A., Streppel, M. T., De Groot, L. C., Kiefte-de Jong, J. C., Orfanos, P., ... & Feskens, E. J. (2015). WHO guidelines for a healthy diet and mortality from cardiovascular disease in European and American elderly: the CHANCES project. *The American journal of clinical nutrition*, 102(4), 745-756.
- Kojima, Y., Weissman, I. L., & Leeper, N. J. (2017). The role of efferocytosis in atherosclerosis. *Circulation*, 135(5), 476-489.
- Lee, S. J., Lee, I. K., & Jeon, J. H. (2020). Vascular calcification—new insights into its mechanism. *International journal of molecular sciences*, 21(8), 2685.
- Libby, P., Buring, J. E., Badimon, L., Hansson, G. K., Deanfield, J., Bittencourt, M. S., & Tokgözoğlu, L. (2019). Lewis EF. Atherosclerosis. *Nature reviews Disease primers*, 5(1), 56.
- Liberal, L., Montecucco, F., Tardif, J. C., Libby, P., & Camici, G. G. (2020). Inflammation in age-dependent cardiovascular disease. *European heart journal*, 41(31), 2974-2982.
- Linton, M. F., Yancey, P. G., Davies, S. S., Jerome, W. G., Linton, E. F., Song, W. L., ... & Vickers, K. C. (2019). The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis. *Endotext* [Internet].
- Maguire, E. M., Pearce, S. W., & Xiao, Q. (2019). Foam cell formation: A new target for fighting atherosclerosis and cardiovascular disease. *Vascular Pharmacology*, 112, 54-71.
- Moresoli, P., Habib, B., Reynier, P., Secrest, M. H., Eisenberg, M. J., & Filion, K. B. (2017). Carotid stenting versus endarterectomy for asymptomatic carotid artery stenosis: a systematic review and meta-analysis. *Stroke*, 48(8), 2150-2157.
- Nakahara, T., Dweck, M. R., Narula, N., Pisapia, D., Narula, J., & Strauss, H. W. (2017). Coronary artery calcification: from mechanism to molecular imaging. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 10(5), 582-593.
- Nicholls, S. J., Puri, R., Anderson, T., Ballantyne, C. M., Cho, L., Kastelein, J. J., ... & Nissen, S. E. (2016). Effect of evolocumab on progression of coronary disease in statin-treated patients: the GLAGOV randomized clinical trial. *Jama*, 316(22), 2373-2384.
- Qi, M., & Xin, S. (2019). FGF signaling contributes to atherosclerosis by enhancing the inflammatory response in vascular smooth muscle cells. *Molecular Medicine Reports*, 20(1), 162-170.
- Reiner, Ž. (2017). Hypertriglyceridaemia and risk of coronary artery disease. *Nature Reviews Cardiology*, 14(7), 401-411.
- Reustle, A., & Torzewski, M. (2018). Role of p38 MAPK in atherosclerosis and aortic valve sclerosis. *International journal of molecular sciences*, 19(12), 3761.
- Sabatine, M. S., Giugliano, R. P., Keech, A. C., Honarpour, N., Wiviott, S. D., Murphy, S. A., ... & Pedersen, T. R. (2017). Evolocumab and clinical outcomes in patients with cardiovascular disease. *New England journal of medicine*, 376(18), 1713-1722.
- Sánchez-Duffhues, G., García de Vinuesa, A., van de Pol, V., Geerts, M. E., de Vries, M. R., Janson, S. G., ... & Ten Dijke, P. (2019). Inflammation induces endothelial-to-mesenchymal transition and promotes vascular calcification through downregulation of BMP2. *The Journal of pathology*, 247(3), 333-346.
- Stomberski, C. T., Hess, D. T., & Stamler, J. S. (2019). Protein S-nitrosylation: determinants of specificity and enzymatic regulation of S-nitrosothiol-based signaling. *Antioxidants & redox signaling*, 30(10), 1331-1351.
- Tabas, I., & Bornfeldt, K. E. (2016). Macrophage phenotype and function in different stages of atherosclerosis. *Circulation research*, 118(4), 653-667.
- Thomas, M. P., Parzynski, C. S., Curtis, J. P., Seth, M., Nallamothu, B. K., Chan, P. S., ... & Gurm, H. S. (2015). Percutaneous coronary intervention utilization and appropriateness across the United States. *PloS one*, 10(9), e0138251.
- Valdivielso, J. M., Rodríguez-Puyol, D., Pascual, J., Barrios, C., Bermúdez-López, M., Sánchez-Niño, M. D., ... & Ortiz, A. (2019). Atherosclerosis in chronic kidney disease: more, less, or just different?. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 39(10), 1938-1966.
- Vossen, L. M., Kroon, A. A., Schurgers, L. J., & de Leeuw, P. W. (2019). Pharmacological and nutritional modulation of vascular calcification. *Nutrients*, 12(1), 100.
- Whelton, P. K., Carey, R. M., Aronow, W. S., Casey, D. E., Collins, K. J., Dennison Himmelfarb, C., ... & Wright, J. T. (2018). 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Journal of the American College of Cardiology*, 71(19), e127-e248.
- Yahagi, K., Kolodgie, F. D., Lutter, C., Mori, H., Romero, M. E., Finn, A. V., & Virmani, R. (2017). Pathology of human coronary and carotid artery atherosclerosis and vascular calcification in diabetes mellitus. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 37(2), 191-204.
- Yamada, S., & Giachelli, C. M. (2017). Vascular calcification in CKD-MBD: Roles for phosphate, FGF23, and Klotho. *Bone*, 100, 87-93.
- Zipes, D. P. (2018). Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. *BMH Medical Journal-ISSN* 2348-392X, 5(2), 63-63.