

Las lipoproteínas de alta densidad: protectoras vasculares contra la aterosclerosis

Dr. Yosit Ponce Gutiérrez^a✉, Dr. Arik Ponce Gutiérrez^a, MSc. Dr. Arnaldo Rodríguez León^b y Dr. Carlos Llanes Álvarez^a

^a Policlínico "Juan B. Contreras Fowler". Ranchuelo, Villa Clara, Cuba.

^b Hospital Universitario "Celestino Hernández Robau". Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

Full English text of this article is also available

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Recibido: 26 de octubre de 2012

Modificado: 18 de diciembre de 2012

Aceptado: 31 de enero de 2013

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses

Abreviaturas

HDL: lipoproteína de alta densidad

LCAT: lecitina-colesterol aciltransferasa

LDL: lipoproteína de baja densidad

LPL: lipoproteinlipasa

ONSe: óxido nítrico sintetasa endotelial

PON: paraoxonasa

PTEC: Proteína de transferencia de ésteres de colesterol

TRC: transporte reverso de colesterol

VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad

Versión On-Line:

Español - Inglés

✉ Y Ponce Gutiérrez

Calle Camilo Cienfuegos N° 63, e/
Carmen Rivero y Federico Escobar.
Ranchuelo, Villa Clara, Cuba.

Correo electrónico:

foilanponce@capiro.vcl.sld.cu

RESUMEN

El incremento de los niveles de lipoproteínas de alta densidad y sus potenciales beneficios en la aterosclerosis ha sido motivo para la realización de este artículo, en el que se efectúa una revisión sobre la información médica más reciente que existe sobre el tema y su posterior actualización. Se describen la estructura de estas lipoproteínas, sus efectos vasculares ateroprotectores, el transporte reverso de colesterol, y se exponen las nuevas estrategias que permiten incrementar sus concentraciones en el organismo, ya que estudios recientes indican que estabilizan las placas de ateroma de una manera acelerada, por lo que constituyen una novedosa alternativa terapéutica en los pacientes de alto riesgo. De esta forma se consolidan los conocimientos sobre las lipoproteínas de alta densidad, con el fin de brindar una atención de más calidad en la prevención, control y tratamiento de esta frecuente enfermedad.

Palabras clave: Lipoproteínas de alta densidad, HDL, Aterosclerosis, Placa de ateroma

High-density lipoproteins: vascular guards against atherosclerosis

ABSTRACT

Increasing levels of high-density lipoproteins and their potential benefits in Atherosclerosis motivated us to write this article in order to update knowledge on this topic. The structure of these lipoproteins is described, as well as their atheroprotective vascular effects and the reverse cholesterol transport. New strategies to increase their concentration in the body are presented, as recent studies indicate that they stabilize atherosclerotic plaques in an expedited manner. Therefore, it constitutes a novel therapeutic alternative in high risk patients. This will update the knowledge on high-density lipoproteins, in order to provide a better quality care in the prevention, control and treatment of this common disease.

Palabras clave: High-density lipoprotein, HDL, Atherosclerosis, Atherosclerotic plaque

INTRODUCCIÓN

La aterosclerosis es una enfermedad caracterizada por el depósito e infiltración de componentes lipídicos en las paredes de las arterias de mediano y

grueso calibre. Es la forma más común de arteriosclerosis. Provoca una reacción inflamatoria y la multiplicación y migración de las células musculares lisas de la pared, que van produciendo estrechamientos de la luz arterial. Los engrosamientos concretos son denominados placas de ateroma, cuya complicación más frecuente es la trombosis¹.

Esta enfermedad es la principal causa de muerte de los países desarrollados o del primer mundo, es decir, Norteamérica, Europa y Australia, asociada a un estilo de vida poco saludable. Aproximadamente el 76 % de los trombos coronarios fatales son provocados por la ruptura de una placa de ateroma complicada².

La aterosclerosis es el resultado del desequilibrio entre la entrada y la salida de colesterol en la pared arterial, con un predominio de la primera. La principal responsable de la entrada de colesterol en la pared arterial es la lipoproteína de baja densidad (*LDL*, por sus siglas en inglés), mientras que la principal encargada de su salida es la lipoproteína de alta densidad (*HDL*, por sus siglas en inglés). Tanto las concentraciones sistémicas (torrente circulatorio) altas del colesterol de las *LDL*, como las bajas del de las *HDL* se han asociado de forma constante con el desarrollo de aterosclerosis³.

Se han probado múltiples estrategias terapéuticas que intentan prevenir el desarrollo de la enfermedad mediante una reducción de las *LDL* o un incremento de las *HDL*. Si bien la reducción de las *LDL*, fundamentalmente con el uso de estatinas⁴, se ha establecido como terapia estándar para la prevención primaria y secundaria de sucesos aterotrombóticos, el incremento de las *HDL* avizora un futuro esperanzador, de ahí se deduce la vital importancia de su estudio, y las perspectivas terapéuticas de su aplicación en esta enfermedad tan frecuente, y en la que aún no se ha logrado un total y efectivo control.

ESTRUCTURA DE LAS HDL

Las *HDL* son complejos macromoleculares, seudomicelares, constituidos por lípidos anfipáticos (fosfolípidos y colesterol libre), lípidos no polares (triglicéridos y ésteres de colesterol) y por proteínas llamadas apolipoproteínas (Apo). Los lípidos anfipáticos se organizan en una monocapa en la superficie del complejo, y presentan sus grupos polares hacia el medio acuoso. La estabilidad de esta monocapa está garantizada por las Apo. Los lípidos no polares son insolubles en un medio acuoso como el plasma y en consecuencia, se sitúan

en el interior de las lipoproteínas, de manera tal que evitan las interacciones con grupos polares que serían fisicoquímicamente desfavorables. Por tanto, el transporte de los lípidos en el plasma está garantizado⁵.

Las *HDL* son las lipoproteínas más pequeñas y con mayor proporción proteica (55-60 % de su masa neta). Se han identificado 5 subfracciones de *HDL*. De la más grande (y más eficaz en la recogida de colesterol) a la más pequeña (y menos eficaz), los subtipos son: *HDL2a*, *HDL2b*, *HDL3a*, *HDL3b*, y *HDL3c*. Su principal proteína es la Apo A-I, encargada no solo del destino de estas lipoproteínas, sino que constituye también más del 70 % del contenido proteínico del total de partículas de *HDL*; de ahí que la concentración plasmática de Apo A-I, en condiciones normales (sin intervención farmacológica), se correlaciona estrechamente con la concentración plasmática de *HDL*. La Apo A-II es la segunda apolipoproteína más abundante, pero su misión todavía no ha sido bien definida. Las *HDL* contienen otras proteínas (**Figura 1**) en menor concentración (Apo A-IV, Apo A-V, Apo C-I, Apo C-II y Apo E)^{6,7}.

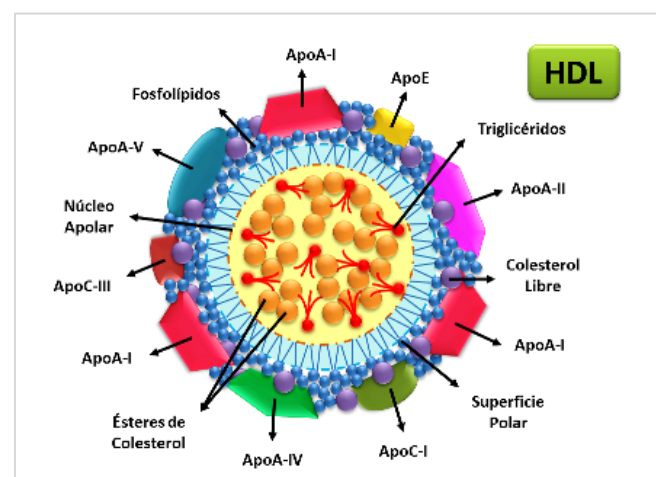


Figura 1. Estructura de las Lipoproteínas de Alta Densidad (*HDL*). Principales componentes proteicos y lipídicos. Las apolipoproteínas (Apo) se unen por interacciones hidrofóbicas a los lípidos más externos, y por atracciones electrostáticas a los fosfolípidos para estabilizar a la *HDL*.

TRANSPORTE REVERSO DE COLESTEROL

El transporte reverso de colesterol (TRC) se define como la extracción de colesterol de los tejidos extrahepáticos y su movilización hacia el hígado para su metabolización y eventual excreción intestinal con los ácidos biliares. Las *HDL* tienen un papel central en la

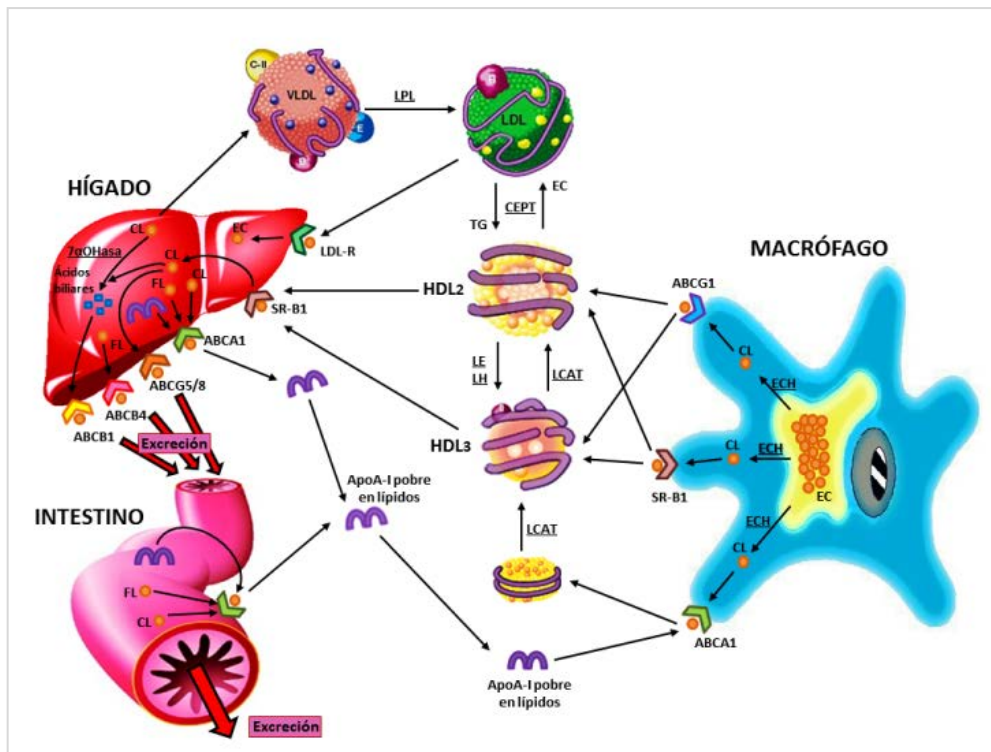


Figura 2. Representación gráfica del TRC. La principal proteína de las HDL, la ApoA-I, se sintetiza en el hígado y el intestino donde, a través del receptor ABCA-1, recibe una pequeña cantidad de fosfolípidos y se transforma en ApoA-I pobre en lípidos (HDL naciente). La apoA-I guía la HDL naciente hacia los tejidos extrahepáticos, fundamentalmente hacia los macrófagos, de los que recibe colesterol libre a través del receptor ABCA-1 (HDL naciente, con migración pre β 1). Mediante la acción de la enzima LCAT, el colesterol libre se transforma en ésteres de colesterol, y así se transforma en HDL maduro esférico (HDL3 y HDL2), que recibe colesterol de los tejidos periféricos a través del receptor SR-B1 o del ABCG1, aumenta su tamaño y su contenido de colesterol esterificado. El TRC se completa por dos vías: a) captación hepática de cHDL maduro a través del receptor SR-B1, y b) la PTEC cataliza la transferencia de colesterol esterificado a las cLDL, los cuales a su vez serán captados por el hígado a través del receptor de LDL. Finalmente, desde el hígado, el colesterol libre puede verse directamente a la bilis o convertirse en ácidos biliares (la enzima encargada de esta reacción es la 7α -hidroxilasa), previamente a que se produzca la excreción biliar en el intestino. **Legenda:** Apolipoproteína (Apo); Colesterol asociado a HDL (cHDL); Colesterol asociado a LDL (cLDL); Colesterol libre (CL); Enzima 7-alfa hidroxilasa (7α OHasa); Ésteres de colesterol (EC); Ésteres-colesterol hidrolasa (ECH); Fosfolípidos (FL); Lecitina-colesterol aciltransferasa (LCAT); Lipasa endotelial (LE); Lipasa hepática (LH); Lipoproteín lipasa (LPL); Proteína de Transferencia de Ésteres de Colesterol (PTEC); Receptor de LDL (LDL-R); Receptor de desechos B1 (SR-B1); Triglicéridos (TG).

extracción de colesterol de las lesiones ateroscleróticas y en su transporte hasta el hígado (Figura 2)⁸.

Seguidamente se comentan brevemente los pasos del TRC:

Síntesis de HDL

La síntesis y la secreción a la circulación de Apo A-I (principal componente de las HDL) se producen en el hígado y en el intestino; el hígado genera el 75 % de la Apo A-I humana. Ambos tejidos se encargan de la lipi-

dación de las moléculas de Apo A-I recién secretadas, pobres en lípidos, a través del receptor dependiente de ATP (*ATP-binding cassette*, en su idioma original) A-1, donde se forman las HDL nacientes (que también reciben el nombre de Apo A-I pobre en lípidos)^{3,9}.

Captación de colesterol por las HDL nacientes (Eflujo de colesterol)

Este proceso puede llevarse a cabo mediante un variado número de mecanismos, y resulta finalmente en la formación de partículas discoidales de HDL:

- **Difusión acuosa:** Este mecanismo pasivo se cumple mediante un simple proceso de difusión, de modo que el movimiento de colesterol puede ser bidireccional, y el sentido del flujo está determinado únicamente por su gradiente químico de concentración. Se produce en todas las células y es un proceso lento bastante ineficaz (tarda horas)³.

- **Salida de colesterol libre** mediada por el receptor dependiente de ATP A-1: este movimiento de colesterol libre es unidireccional, únicamente desde las células a las apolipoproteínas pobres en lípidos^{3,9,10}.

Este movimiento de colesterol libre es unidireccional, únicamente desde las células a las apolipoproteínas pobres en lípidos^{3,9,10}.

- **Receptor de desechos tipo B clase I (SR-B1**, por sus siglas en inglés): el flujo de colesterol libre mediado por la molécula SR-B1 tiene lugar sólo hacia aceptores que contengan fosfolípidos, (es decir, HDL y apolipoproteínas lipidadas) y es bidireccional, en dependencia del gradiente de concentra-

ción a ambos lados de la membrana^{3,11}.

- Moléculas transportadoras ABCG-1/ABCG-4: constituyen una ruta alternativa para el transporte de colesterol libre desde los macrófagos hacia las *HDL* maduras, nunca hacia *HDL* nacientes (Apo A-I pobre en lípidos)^{3,12}.

Maduración de las *HDL*

Las partículas de *HDL* nacientes sufren un proceso de transformación intravascular mediante la acción de diversas enzimas:

- Enzima lecitina-colesterol aciltransferasa (LCAT): en el interior de la molécula discoidal de *HDL* naciente, la LCAT cataliza la transferencia de grupos 2-acil desde la lecitina al colesterol libre captado desde los macrófagos, con lo que se generan ésteres de colesterol y lisolecitina. Los ésteres de colesterol son más hidrófugos que el colesterol libre, por lo que se mueven al núcleo de la partícula de lipoproteína, y así se forma la molécula madura de *HDL*, grande y esférica^{3,13}.
- Proteína de transferencia de ésteres de colesterol (PTEC): es una glucoproteína hidrófuga, sintetizada en el hígado y en el tejido adiposo, que circula unida a lipoproteínas en el plasma. La PTEC promueve la transferencia de ésteres de colesterol de las partículas de *HDL* a las lipoproteínas que contengan la Apo B [*LDL*, quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad (*VLDL*, por sus siglas en inglés)] a cambio de triglicéridos, es decir, de manera inversa transfiere triglicéridos desde las *VLDL*, quilomicrones y *LDL* a las *HDL*, de ahí que se produzca la migración de ésteres de colesterol de nuevo a *LDL*, de manera que se reduce el tamaño de la partícula de *HDL*^{3,14,15}.
- Otras proteínas implicadas son: la proteína de transferencia de fosfolípidos y diferentes lipasas [lipoproteinlipasa (LPL), lipasa hepática y lipasa endotelial]. Los triglicéridos de las *HDL* maduras son hidrolizados por la lipasa hepática. Esta hidrólisis, en asociación con la actividad de la proteína de transporte de fosfolípidos, disminuye el tamaño de las *HDL* maduras, y las transforma en *HDL* nacientes, pobres en fosfolípidos, que pueden reiniciar el ciclo de captación de colesterol^{3,16}.

Catabolismo de las *HDL*

El factor más determinante en las concentraciones plasmáticas de *HDL* y Apo A-I es la tasa de eliminación

de esta última. Los riñones, el hígado y los tejidos productores de esteroides (glándulas suprarrenales, ovarios y testículos) son los sitios principales de catabolismo de las *HDL*. Este catabolismo puede efectuarse mediante: a) la endocitosis y degradación lisosómica de toda la partícula (incluida la Apo A-I), que ocurren tanto en el hígado como en el riñón, y b) captación selectiva de colesterol, es decir, retirada del colesterol y de otros lípidos de la partícula, sin afectar al contenido proteínico. El mecanismo mejor caracterizado es la captación hepática por el *SR-B1* a ese nivel. El colesterol libre movilizado en *HDL* puede excretarse directamente a la bilis o convertirse en ácidos biliares, previamente a la excreción biliar (la enzima encargada de esta reacción es la 7α -hidroxilasa)^{3,17}.

ACCIONES ATEROPROTECTORAS DE LAS *HDL* NO RELACIONADAS AL TRC

La protección vascular de las altas concentraciones de *HDL* contra la aterosclerosis no solo se circunscriben al efecto del TRC, sino que incluye otras acciones ateroprotectoras, como: actividad antioxidante, protección de la función endotelial, antiinflamatoria, antiapoptótica; inactivación del sistema del complemento, regulación de la actividad secretora del endotelio, así como efectos antitrombóticos y fibrinolíticos (**Figura 3**).

Actividad antioxidante

Las *LDL* oxidadas en el espacio subendotelial intervienen en la formación de la placa de ateroma por sus cualidades proinflamatorias. En este contexto, el papel antiaterogénico de las *HDL* se debe a la capacidad antioxidante que poseen. Varios de sus elementos participan en esta propiedad, entre ellos sus apolipoproteínas y particularmente, la paraoxonasa (PON) 2, enzima asociada físicamente a las *HDL* plasmáticas. Esta PON se sintetiza en el hígado de los mamíferos, circula por la sangre unida a las Apo A-I y J de las *HDL*, y su expresión se inhibe por estímulos proaterogénicos^{5,18}.

Las bases moleculares que explican la relación inversa entre la PON y la aterosclerosis, se han ubicado en la capacidad que posee la enzima de eliminar los lipoperóxidos que participan en la formación de la placa. El inicio y la progresión de la placa de ateroma en la pared arterial dependen en buena medida de la peroxidación de las lipoproteínas mediada por radicales libres, en particular de las *LDL*¹⁹.

Estos efectos biológicos se relacionan con la habilidad de la PON de eliminar los peróxidos asociados a

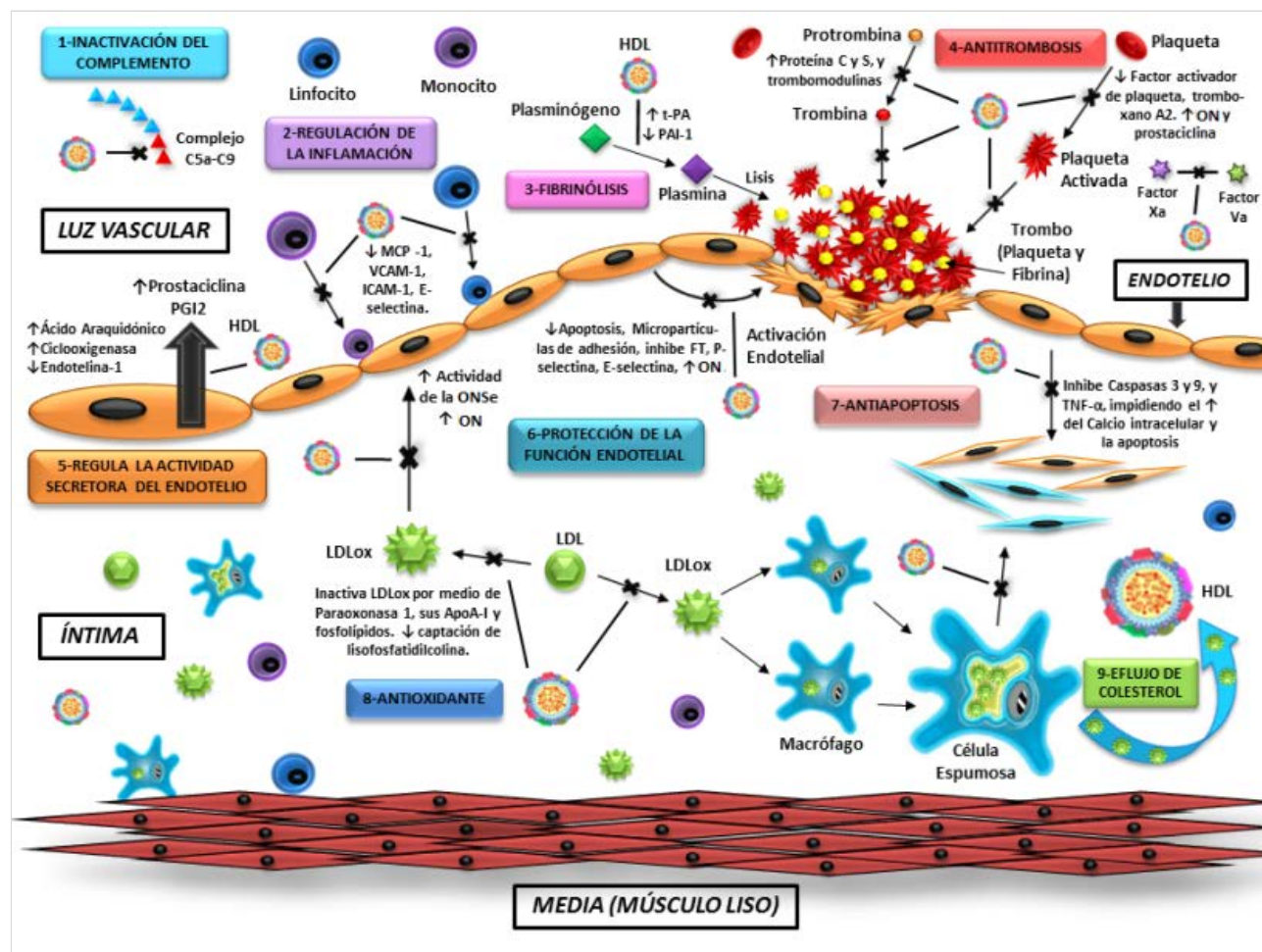


Figura 3. Resumen gráfico de las acciones ateroprotectoras de las HDL. **1) Inactivación del complemento:** las HDL impiden que se forme el complejo C5-C9 en la cascada de activación del sistema del complemento. **2) Regulación de la inflamación:** las HDL inhiben la atracción de los monocitos y linfocitos circulantes al endotelio por regulación negativa de la expresión de la MCP-1, la VCAM-1 e ICAM-1, que son mediadoras de la adhesión y de la E-selectina, y permite su anclado y rodamiento en la superficie de las células endoteliales. **3) Fibrinólisis:** las HDL favorecen la conversión del plasminógeno en plasmina (enzima fibrinolítica), por regulación positiva del t-PA y negativa del PAI-1. **4) Antitrombosis:** las HDL impiden la activación plaquetaria por disminución del factor activador de plaqueta, tromboxano A₂ y el aumento de la síntesis de óxido nítrico y prostaciclina. La esfingosina de la HDL limita las interacciones procoagulantes entre los factores X_a y V_a de la cascada de la coagulación. La disminución de la producción de trombina es debido a que mejora la actividad de la proteína C activada y la proteína S, y la regulación positiva de las trombomodulinas endoteliales. La disminución de la activación endotelial se produce porque previenen la apoptosis de las células endoteliales y la formación de micropartículas de adhesión, la inhibición de factores tisulares y la P-selectina, la expresión de la E-selectina, y el aumento de la producción de óxido nítrico. **5) Regula la actividad secretora del endotelio:** las HDL estimulan la producción de PGI₂, ya que aprovisionan a las células endoteliales de ácido araquidónico, principal sustrato para la síntesis de PGI₂, y estimulan la síntesis de la ciclooxigenasa en las células del endotelio y del músculo liso vascular, e inhiben la de endotelina-1. **6) Protección de la función endotelial:** las HDL inactivan los efectos nocivos de las LDL-ox a nivel de producción de óxido nítrico y aumentan la actividad de la ONSe. **7) Antiapoptosis:** las HDL impiden la apoptosis de la CE, macrófagos y células espumosas porque previenen el aumento sostenido del calcio intracelular inducido por agentes proapoptóticos, como las LDL-ox, lo que impide la activación de las proteínas caspasas 3 y 9, y el antagonismo del TNF-α. Esto se debe a que el estímulo de las HDL de migración y proliferación de las células endoteliales es calcio dependiente, mediado por múltiples cascadas de las quinasas. **8) Antioxidante:** las HDL inactivan a las LDL-ox, por medio de la enzima PON 1, de sus ApoA-I y fosfolípidos, además disminuyen la captación de lisofosfatidilcolina, uno de los productos derivados del proceso oxidativo de las LDL. **9) Eflujo de colesterol:** las HDL reciben el colesterol de los tejidos extrahepáticos, fundamentalmente macrófagos y células espumosas vasculares, para ulteriormente transportarlo al hígado y excretarse con la bilis en el intestino, como parte del TRC. **Legenda:** Activador del inhibidor del plasminógeno tipo 1 (PAI-1); Activador tisular del plasminógeno (t-PA); Apolipoproteína (Apo); Células endoteliales (CE); Factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α); Factores tisulares (FT); LDL oxidada (LDL-ox), Molécula de adhesión de células vasculares 1 (VCAM-1), Molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), Óxido nítrico (ON); Óxido nítrico sintetasa endotelial (ONSe); Proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1). ↑ Aumento. ↓ Disminución.

las lipoproteínas, lo que da lugar a los alcoholes correspondientes, derivados que son inactivos desde el punto de vista de la peroxidación, de la quimiotaxis y del proceso inflamatorio en general. La actividad de la PON varía entre individuos por factores genéticos o fisiopatológicos. En efecto, el gen humano de esta enzima presenta dos polimorfismos (M55L y Q192R) que influyen en su actividad. Por otra parte, la actividad de la PON se ha encontrado disminuida en sujetos hiperlipidémicos y diabéticos insulino dependientes. Además, existe una correlación positiva entre su concentración y la de Apo A-I⁵.

Protección de la función endotelial

Se ha postulado que los mecanismos responsables de la preservación de la función endotelial mediada por las HDL, están relacionados con la capacidad de estas últimas de inactivar los efectos nocivos de las LDL oxidadas (LDL-ox) a nivel de la producción de óxido nítrico²⁰.

Las HDL promueven la producción de este óxido por medio de la enzima óxido nítrico sintetasa endotelial (ONSe) en diferentes mecanismos.

- 1- La HDL regula la distribución subcelular de la ONSe, la proteína de la ONSe está localizada en el colesterol enriquecido de las caveolas de la membrana plasmática, como resultado de la miristoilación y la palmitoilación de la proteína. La HDL regula el ambiente lipídico dentro de las caveolas y las LDL-ox, lo que permite la preservación del módulo de señalización de la ONSe^{21,22}.
- 2- Basado en estudios miméticos de la Apo A-I, las HDL previenen el desacople de la ONSe por las LDL, lo que favorece la producción de óxido nítrico por encima de la de anión superóxido (O_2^-)^{21,23}.
- 3- Las HDL activan los mecanismos de señales de la membrana que estimulan la actividad de la ONSe. La unión de la Apo A-I de la HDL al SR-B1, ocasiona la rápida activación del receptor Src de la tirosina quinasa, lo que origina se desencadene la activación de la fosfatidilinositol quinasa 3, y consecutivamente de la proteína quinasa B alfa (Akt, en su idioma original) y la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK, por sus siglas en inglés), las que producen un incremento en la actividad de la ONSe. Aunque las apolipoproteínas y los fosfolípidos de las HDL son suficientes para activar la señalización, puede también producirse por los lisofosfolípidos SPC, esfingosina 1 fosfato (S1P) y lisosulfátidos aso-

ciados a las HDL que actúan a través del receptor de lisofosfolípidos S1P-3.

- 4- La HDL regula la abundancia de la ONSe. Además de modular la respuesta aguda de la activación de la vía de la fosfatidilinositol quinasa 3, Akt y MAPK, las HDL ocasionan el incremento de la ONSe²⁴⁻²⁶.

Las HDL inactivan a las LDL-ox, no sólo a través de la PON como se ha discutido previamente, sino también por medio de la Apo A-I, de sus fosfolípidos y de la captación de lisofosfatidilcolina, uno de los productos derivados del proceso oxidativo de las LDL^{21,23}.

Regulación de la respuesta inflamatoria

La atracción y adhesión de leucocitos a las células endoteliales y su interacción con las células del músculo liso juega un papel central en el desarrollo de la placa de ateroma. La interacción de los leucocitos con las células endoteliales está mediada por moléculas de adhesión localizadas en la superficie luminal del endotelio²⁷.

Las HDL inhiben la atracción de los monocitos al endotelio por regulación negativa de la expresión de la proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1, por sus siglas en inglés). Entre las moléculas que participan en la adhesión leucocitaria al endotelio encontramos la molécula de adhesión de células vasculares 1 (VCAM-1, por sus siglas en inglés), la de adhesión intercelular 1 (ICAM-1, por sus siglas en inglés) y la E-selectina. Las VCAM-1 e ICAM-1 son mediadoras de la adhesión de linfocitos y monocitos circulantes, mientras que la E-selectina permite su anclado y rodamiento en la superficie de las células endoteliales. Además, estas tres moléculas se expresan abundantemente en las placas de ateroma, muy probablemente para reclutar las células específicas al espacio subendotelial por el proceso inflamatorio desencadenado por las LDL-ox²⁸.

Estudios *in vitro* con células endoteliales humanas, han puesto en evidencia que las concentraciones fisiológicas de HDL inhiben la expresión de la VCAM-1, ICAM-1 y de la E-selectina²⁹. Este efecto parece estar relacionado con la inhibición del factor de necrosis tumoral α (TNF α , por sus siglas en inglés) y sus repercusiones en los segundos mensajeros intracelulares que resultan en la síntesis de moléculas de adhesión; además, es independiente a la eliminación mediada por las HDL de los radicales libres que se generan en la lesión aterosclerótica^{5,21}.

Prevención de la apoptosis de las células endoteliales

Múltiples factores proaterogénicos promueven la apoptosis en el endotelio, entre ellos las *LDL-ox*, el *TNF- α* , la homocisteína y la angiotensina II. Las acciones antiapoptóticas de las *HDL* incluyen la prevención del aumento sostenido del calcio intracelular inducido por agentes proapoptóticos como las *LDL-ox*, lo que impide la activación de las proteínas caspasas 3 y 9, y el antagonismo de una variedad de otros mecanismos proapoptóticos. Esto se debe a que el estímulo de las *HDL* de migración y proliferación de las células endoteliales es calcio dependiente y mediado por múltiples cascadas de las quinasas, que involucran la fosfatidilinositol quinasa 3, las *MAPK* p38 y p42/44, la quinasa de Rho. El *TNF- α* que igualmente induce muerte celular endotelial, es inhibido por las *HDL* por medio de la inducción atenuada de la caspasa 3, componente importante de todas las vías primarias apoptóticas³⁰⁻³³.

Inactivación del sistema del complemento

Cuando el proceso inflamatorio inicial se instala en las primeras etapas de la formación del ateroma, el complemento produce daño en las células endoteliales, que culmina con la necrosis del tejido. Las *HDL*, a través de su Apo A-I, se une al factor C9 del complemento, lo que inhibe la formación del complejo C5a-C9, y en consecuencia, anula los efectos nocivos del complemento sobre el endotelio vascular en el proceso aterosclerótico⁵.

Regulación de la actividad secretora del endotelio

La prostaciclina PGI₂, producida por la acción de la ciclooxigenasa de las células endoteliales, tiene un potente efecto vasorrelajante y disminuye la liberación de factores de crecimiento que estimulan la proliferación local de células de músculo liso involucradas en el desarrollo del ateroma. En este contexto, las *HDL* estimulan la producción de PGI₂ a través de dos mecanismos: 1) proveen a la célula endotelial de ácido araquidónico, principal sustrato para la síntesis de PGI₂, y 2) estimulan la síntesis de la ciclooxigenasa en las células endoteliales y del músculo liso vascular. La endotelina-1 es otro compuesto cuya síntesis se ve afectada por las *HDL*. Ese efecto tiene probablemente su origen a nivel de la regulación postranscripcional de la síntesis de endotelina-1³⁴⁻³⁷.

Actividad antitrombótica

Las *HDL* tienen múltiples acciones antitrombóticas que

involucran el incremento del flujo sanguíneo, la disminución de la generación de trombina y la activación endotelial y plaquetaria. Las *HDL* aumentan el flujo sanguíneo al incrementar el óxido nítrico y la producción de prostaciclina. La disminución de la activación endotelial por *HDL* se produce al prevenir la apoptosis de las células endoteliales y la formación de micropartículas de adhesión, la inhibición de factores tisulares, la P-selectina, la expresión de la E-selectina, y el aumento de la producción de óxido nítrico. La disminución de la producción de trombina por las *HDL* es debido a que mejora la actividad de la proteína C activada y la proteína S, y la regulación positiva de las trombomodulinas endoteliales. El antagonismo de las *HDL*, en la activación plaquetaria, se produce por regulación negativa de la liberación del factor activador de las plaquetas y la síntesis de tromboxano A₂, y por aumento de la síntesis de óxido nítrico y prostaciclina³⁸⁻⁴⁰.

Las *HDL* transportan varios esfingolípidos que están presentes en el plasma en rango micromolar. Se ha identificado que al menos 4 tipos de esfingolípidos de las *HDL* pueden, directa o indirectamente, contribuir a la actividad antitrombótica.

- Los glicoesfingolípidos y la glucosilceramida asociados a ella son cofactores lipídicos de las acciones anticoagulantes de la proteína C activada y la proteína S.
- La esfingosina inhibe la activación de la protrombina en la agregación plaquetaria y parece limitar las interacciones procoagulantes entre los factores X_a y V_a de la cascada de la coagulación, así como también puede directamente, regular de forma negativa la producción de trombina.
- Los esfingolípidos mencionados y varios lisoefingolípidos ejercen potentes efectos celulares por medio de la familia de receptores acoplados a la proteína G, y las *HDL* son las mayores transportadoras de S1P. Como la S1P y otros lisoefingolípidos se relacionan con las actividades vasoactivas y antiapoptóticas, y la apoptosis de las células endoteliales produce trombosis, entonces la actividad antiapoptótica de las *HDL*, mediada tanto por los lisoefingolípidos como por el óxido nítrico, puede reducir el riesgo de trombosis.
- Como las interacciones de las células endoteliales con los procoagulantes, leucocitos inflamatorios y micropartículas derivadas de células involucran reacciones adhesivas, entonces los lisoefingolípidos

asociados a las *HDL* pueden tener efecto antitrombótico por inhibir la síntesis de moléculas adhesivas endoteliales^{21,41}.

Actividad fibrinolítica

Las reacciones de fibrinólisis proporcionan acción proteolítica sobre la fibrina y lisis de los trombos ricos en fibrina por la plasmina, la cual se forma por la activación del plasminógeno. La hipofibrinólisis contribuye a la trombosis arterial, más que a la trombosis venosa. Las *HDL* pueden promover la fibrinólisis con la regulación negativa del activador del inhibidor del plasminógeno tipo 1 (*PAI-1*, por sus siglas en inglés) y la positiva del activador tisular del plasminógeno (*t-PA*, por sus siglas en inglés). La oxidación de las *HDL* altera su efec-

to en la fibrinólisis porque oxida las *HDL3*, y en los otros subtipos de *HDL*, promueve la expresión del *PAI-1* suprimiendo, por consiguiente, la acción fibrinolítica^{42,43}.

TERAPIAS PARA ELEVAR LAS CONCENTRACIONES DE HDL COLESTEROL

La forma más efectiva de prevenir la aterosclerosis y con ella las enfermedades cardiovasculares, es disminuyendo las concentraciones de *LDL* y elevando las de *HDL* (Figura 4).

TERAPIAS NO FARMACOLÓGICAS

Medidas dietéticas

Las dietas ricas en ácidos grasos monoinsaturados y

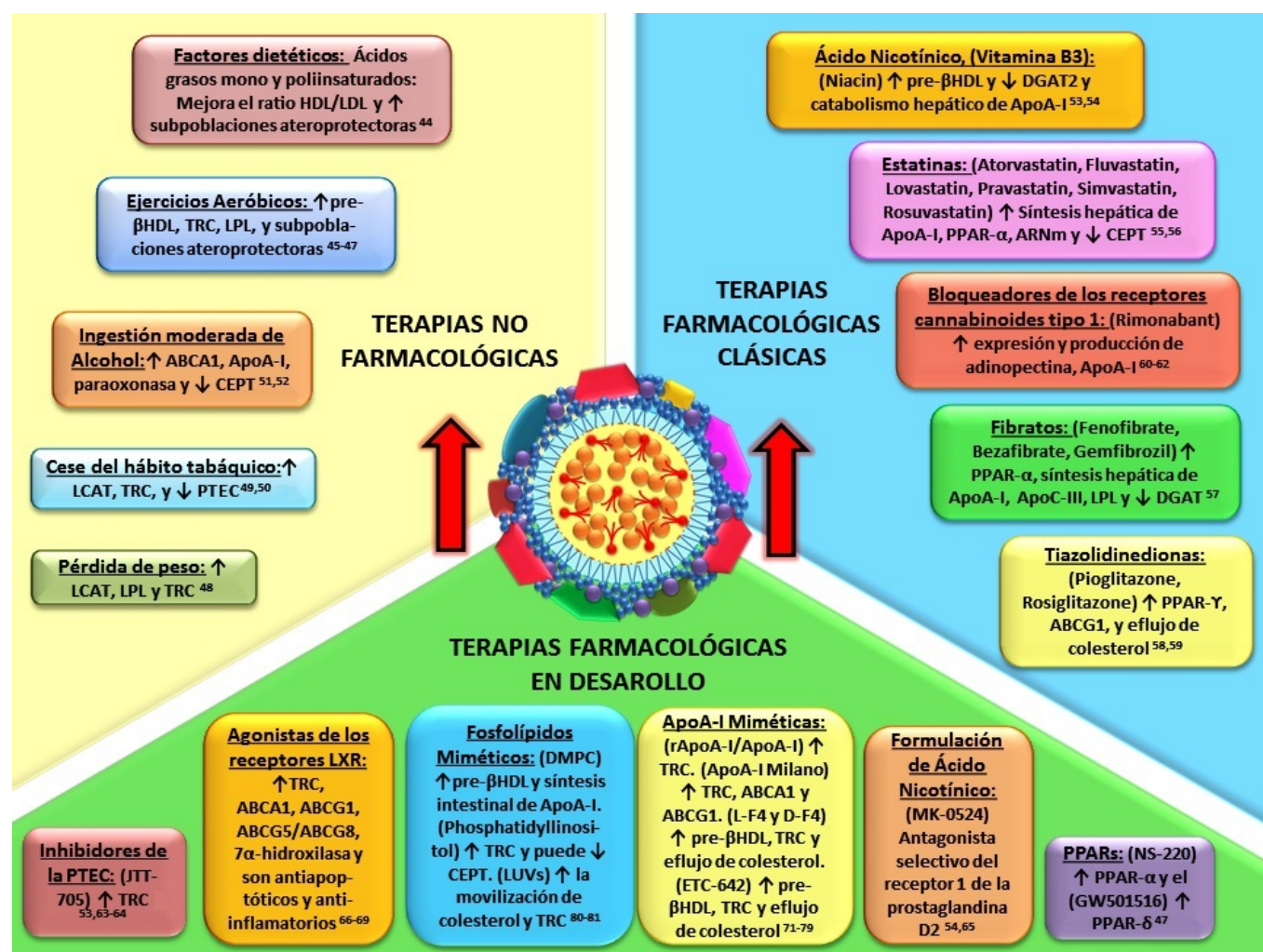


Figura 4: Terapias para elevar las concentraciones de *HDL* colesterol. Apolipoproteína (Apo); Diacilglicerol aciltransferasa 2 (DGAT2); 1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DMPC), Liposomas unilamelares grandes (LUV); Lecitina-colesterol aciltransferasa (LCAT); Lipoproteinlipasa (LPL); Proteína de transferencia de ésteres de colesterol (PTEC); Receptores activados de proliferación de peroxisomas (PPAR), Receptores hepáticos X (LXR); Transporte reverso de colesterol (TRC).

poliinsaturados (pescado azul, frutos secos, aceite de oliva) elevan los valores de *HDL* y reducen el riesgo cardiovascular. El consumo de ácidos grasos saturados reduce el potencial antiinflamatorio de las *HDL*, mientras que los ácidos poliinsaturados lo mejoran⁴⁴.

Ejercicios aeróbicos

El ejercicio aeróbico frecuente aumenta las *HDL*, aproximadamente un 5 %^{45,46}. Este efecto es precoz (en menos de 2 meses) y parece ligado a la frecuencia, intensidad y duración del ejercicio⁴⁷.

Pérdida de peso

Un reciente metaanálisis ha demostrado que en pacientes obesos la pérdida de cada kilogramo de peso se asocia a un incremento de *HDL* de 0,35 mg/dl⁴⁸.

Cese del hábito tabáquico

Incrementa los valores de *HDL* en 5 mg/dl, incluso en plazos tan cortos como 2 semanas después del cese^{49,50}.

Ingestión moderada de alcohol

Incrementa las concentraciones de *HDL* entre 5-15 % y disminuye el riesgo cardiovascular⁵¹ (30-40 g diarios, se recomienda 2 bebidas en varones y 1 en mujeres). Aparentemente el alcohol etílico *per se* causa el ascenso, por lo que cualquier bebida alcohólica podría elevarlo⁵²; no obstante, los beneficios deben sopesarse con los riesgos de su consumo antes de recomendar la ingesta de alcohol.

TERAPIAS FARMACOLÓGICAS CLÁSICAS

Niacina/ácido nicotínico

La niacina reduce la captación de las *HDL* por el hígado y la cantidad de Apo A-I extraída, lo que da lugar a partículas de *HDL* ricas en Apo A-I (muy eficientes en el TRC)^{53,54}. También reduce la actividad de la PTEC, la lipólisis y la liberación de ácidos grasos hacia el hígado, con la consiguiente disminución de la producción de *VLDL*. Es el tratamiento más efectivo para elevar las *HDL* (20-35 %); reduce el colesterol total un 10-15 %, el asociado a las *LDL* un 15-20 %, los triglicéridos un 30-50 % y es el único que reduce la lipoproteína(a)⁵⁴.

Estatinas

Las estatinas elevan las *HDL* un 5-10 %⁴⁷ (la rosuvastatina es la que induce mayores incrementos⁵⁵), al aumentar la síntesis de Apo A-I y disminuir la actividad de la PTEC⁵⁶. Sus efectos dependen de los valores

iniciales de *HDL*; se obtiene un efecto más marcado cuanto menores son estos valores.

Fibratos

Son agonistas de los receptores activados por proliferador de peroxisomas (*PPAR*, por sus siglas en inglés) alfa. Incrementan la expresión de Apo A-I, Apo A-II y LPL, y reducen la Apo C-III y la actividad de la PTEC; además reducen los valores de *VLDL* al aumentar la oxidación de los ácidos grasos en el hígado, reducir la lipogénesis y favorecer la captación de ácidos grasos por el músculo. Aumentan la concentración de *HDL* un 10-20 % y reducen los valores de triglicéridos un 20-50 %, y del colesterol de las *LDL*, un 10-15 %. El fenofibrato y el bezafibrato disminuyen más este último, mientras que el gemfibrozilo reduce más los triglicéridos. Su impacto depende de los valores lipídicos basales; el aumento de las *HDL* es más marcado cuando las concentraciones basales de triglicéridos están elevadas⁵⁷.

Tiazolidinedionas

Indicadas en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, son agonistas de los *PPAR* gamma, que actúan aumentando la sensibilidad a la insulina en el tejido graso y el hígado. Favorecen la captación de glucosa y disminuyen tanto su producción hepática como la concentración de ácidos grasos libres circulantes. La pioglitazona y la rosiglitazona han demostrado una actividad hipoglucemiante similar (ambas disminuyen la hemoglobina glucosilada un 1,5 %); pero la pioglitazona es superior en cuanto a los efectos cardiovasculares, debido a que incrementa las *HDL* un 10 % y reduce, en mayor cuantía, los triglicéridos, aunque no tiene efecto sobre el colesterol de las *LDL*; mientras que la rosiglitazona lo eleva un 10 %⁵⁸. Según Lincoff *et al*⁵⁹, pueden desencadenar insuficiencia cardíaca.

Bloqueadores de los receptores cannabinoides tipo 1

El rimonabant, primer inhibidor selectivo del receptor cannabinoide tipo 1, tenía marcadas propiedades anorexígenas y podía incrementar las *HDL* y reducir los triglicéridos, pero fue suspendido en 2009 por la Agencia Europea de Medicamentos debido al riesgo de trastornos psiquiátricos graves y de suicidio, en los pacientes tratados⁶⁰.

OBJETIVOS FARMACOLÓGICOS EN DESARROLLO

Inhibidores de la PTEC

La PTEC cataliza la transferencia de ésteres de coleste-

rol de *HDL* a *LDL-VLDL* a cambio de triglicéridos⁵³. Según Badimón⁵⁴, esta estrategia de incrementar las *HDL* mediante la inhibición farmacológica de la *PTEC* se vio truncada cuando, en el estudio ILLUMINATE, el torcetrapib mostró un incremento significativo de sucesos cardiovasculares y de mortalidad, pese a incrementos de *HDL* de 72 % y descensos de *LDL* de 25 %. A pesar del fracaso del torcetrapib, hubo otros dos inhibidores de la *PTEC*, el anacetrapib y el dalcetrapib, los que mostraron buenos resultados.

Agonistas de receptores LXR

Los receptores hepáticos X actúan como factores nucleares de transcripción que se asocian con los receptores retinoides X e inducen la expresión de determinados genes^{54,61}. Sus agonistas aumentan el TRC al incrementar la expresión de ABCA-1 y ABCG-1 (transportan colesterol desde los macrófagos a las *HDL* inmaduras y maduras, respectivamente), de ABCG5/ABCG8 (excreta colesterol desde el hígado a la bilis) y 7- α -hidroxilasa (enzima limitante en la síntesis de ácidos biliares). Asimismo, mejoran la tolerancia a la glucosa en modelos animales y tienen propiedades antiapoptóticas y antiinflamatorias⁶¹.

ApoA-I Milano

La ApoA-I Milano es una molécula descubierta en ciertas familias italianas debido a una mutación en el gen de ApoA-I (sustitución de la arginina por cisteína en la posición 173), en quienes, sorprendentemente, el riesgo cardiovascular es bajo, a pesar de tener concentraciones bajas de *HDL* y ApoA-I, y valores elevados de TG⁵⁴.

Las administraciones repetidas del complejo ApoA-I Milano recombinante con fosfolípidos (ETC-216) consiguen una regresión de la aterosclerosis en ratones⁵⁴. Estos hallazgos se han confirmado en humanos, en pacientes con SCA en quienes se consiguió la regresión de la aterosclerosis coronaria (hasta un 4,5 %) medida por ultrasonido intracoronario^{54,62}.

Otras terapias sobre ApoA-I

La infusión directa de *HDL* reconstituida (r*HDL*: ApoA-I combinada con fosfolípidos) ha demostrado mejorar el TRC⁵⁴, al usar objetivos de valoración bioquímicos^{63,64}. Otra estrategia es el uso de moléculas miméticas de ApoA-I que se administran por vía intravenosa, y ha demostrado reducir la progresión de la aterosclerosis en ratones, sin alterar el perfil lipídico^{54,65,66}.

Asimismo, se ha comprobado que las inyecciones semanales de *HDL* autóloga deslipidada (es decir, sólo las apolipoproteínas) producían una reducción del 12 % del volumen de la placa evaluada por ultrasonido intracoronario en 28 pacientes que habían sufrido un SCA frente a un 3 % de aumento de la placa en los controles⁵⁴. Finalmente, continúan Badimón *et al*⁵⁴, los fosfolípidos forman parte de la molécula de *HDL*. En ratones elevan el *HDL* y reducen la aterosclerosis; y en 16 voluntarios normolipémicos, el fosfatidilinositol, un derivado de la lecitina de soja, aumenta las concentraciones de *HDL* en un 13-18 %.

CONCLUSIONES

En el TRC, las *HDL* tienen el papel protagónico en la extracción de colesterol de las lesiones ateroscleróticas y en su transporte hasta el hígado, para su ulterior metabolismo y final excreción intestinal con la bilis en las heces fecales. El efecto vásculo-protector de las *HDL* no relacionado al TRC, radica en que tienen efecto antioxidante, antiinflamatorio, antiapoptótico, anti-trombótico y fibrinolítico, y actúan sobre el sistema del complemento, regulan la actividad secretora del endotelio y protegen la función endotelial. Las altas concentraciones séricas de *HDL* se han correlacionado con una disminución del tamaño de las placas de ateroma, así como la estabilización en las de alto riesgo, lo que disminuye así la incidencia de accidentes aterotrombóticos; por lo tanto, la posibilidad de incrementarlas tanto con terapias farmacológicas como no farmacológicas, constituye un importante blanco terapéutico en la aterosclerosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Badimón L, Vilahur G. Enfermedad aterotrombótica coronaria: avances en el tratamiento antiplaquetario. *Rev Esp Cardiol*. 2008;61(5):501-13.
2. Falk E. Pathogenesis of Atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47(8):7-12.
3. Badimón JJ, Ibañez B. Incremento de las *HDL* como arma terapéutica en la aterotrombosis. *Rev Esp Cardiol*. 2010;63(3):323-33.
4. Nissen SE, Nicholls SJ, Sipahi I, Libby P, Raichlen JS, Ballantyne CM, *et al*. Effect of very high-intensity statin therapy on regression of coronary atherosclerosis: the ASTEROID trial. *JAMA*. 2006;295(13):1556-65.
5. Pérez Méndez O. Lipoproteínas de alta densidad (*HDL*). ¿Un objetivo terapéutico en la prevención

- de la aterosclerosis? Arch Cardiol Mex. 2004;74(1): 53-67.
6. Toth P. The "good cholesterol": high-density lipoprotein. Circulation. 2005;111(5):e89-91.
 7. Vaisar T, Pennathur S, Green PS, Gharib SA, Hoofnagle AN, Cheung MC, *et al.* Shotgun proteomics implicates protease inhibition and complement activation in the antiinflammatory properties of HDL. J Clin Invest. 2007;117(3):746-56.
 8. Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. Circ Res. 2005;96:1221-32.
 9. Brunham LR, Kruit JK, Iqbal J, Fievet C, Timmins JM, Pape TD, *et al.* Intestinal ABCA1 directly contributes to HDL biogenesis in vivo. J Clin Invest. 2006;116(4): 1052-62.
 10. Yokoyama S. ABCA1 and biogenesis of HDL. J Atheroscler Thromb. 2006;13(1):1-15.
 11. Yvan-Charvet L, Pagler TA, Wang N, Senokuchi T, Brundert M, Li H, *et al.* SR-BI inhibits ABCG1-stimulated net cholesterol efflux from cells to plasma HDL. J Lipid Res. 2008;49(1):107-14.
 12. Wang N, Collins HL, Ranalletta M, Fuki IV, Billheimer JT, Rothblat GH, *et al.* Macrophage ABCA1 and ABCG1, but not SR-BI, promote macrophage reverse cholesterol transport in vivo. J Clin Invest. 2007;117(8):2216-24.
 13. Curtiss LK, Volenta DT, Hime NJ, Rye KA. What is so special about apolipoprotein AI in reverse cholesterol transport? Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006;26(1):12-9.
 14. Cuchel M, Rader DJ. Macrophage reverse cholesterol transport: key to the regression of Atherosclerosis? Circulation. 2006;113(21):2548-55.
 15. Shah PK. Inhibition of CETP as a novel therapeutic strategy for reducing the risk of atherosclerotic disease. Eur Heart J. 2007;28(1):5-12.
 16. Barter PJ, Caulfield M, Eriksson M, Grundy SM, Kastelein JJ, Komajda M, *et al.* Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary events. N Engl J Med. 2007;357(21):2109-22.
 17. Rader DJ. Molecular regulation of HDL metabolism and function: implications for novel therapies. J Clin Invest. 2006;116(12):3090-100.
 18. Mackness B, Hine D, Liu Y, Mastorikou M, Mackness M. Paraoxonase-1 inhibits oxidised LDL-induced MCP-1 production by endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun. 2004;318(3):680-3.
 19. Tomás M, Latorre G, Sentí M, Marrugat J. Función antioxidante de las lipoproteínas de alta densidad: un nuevo paradigma en la arteriosclerosis. Rev Esp Cardiol. 2004;57(6):557-69.
 20. Assmann G, Gotto AM. HDL Cholesterol and Protective Factors in Atherosclerosis. Circulation. 2004; 109(23 Suppl 1):III8-14.
 21. Mineo C, Deguchi H, Griffin JH, Shaul PW. Endothelial and antithrombotic actions of HDL. Circ Res. 2006;98(11):1352-64.
 22. Gharavi NM, Baker NA, Mouillessaux KP, Yeung W, Honda HM, Hsieh X, *et al.* Role of endothelial nitric oxide synthase in the regulation of SREBP activation by oxidized phospholipids. Circ Res. 2006; 98(6): 768-76.
 23. Shaul PW, Mineo C. HDL action on the vascular wall: is the answer NO? J Clin Invest. 2004;113(4): 509-13.
 24. Drew BG, Fidge NH, Gallon-Beaumier G, Kemp BE, Kingwell BA. High-density lipoprotein and apolipoprotein AI increase endothelial NO synthase activity by protein association and multisite phosphorylation. Proc Natl Acad Sci USA. 2004;101(18):6999-7004.
 25. Mineo C, Yuhanna IS, Quon MJ, Shaul PW. High density lipoprotein-induced endothelial nitric-oxide synthase activation is mediated by Akt and MAP kinases. J Biol Chem. 2003;278(11):9142-9.
 26. Nofer JR, van der Giet M, Tölle M, Wolinska I, von Wnuck Lipinski K, Baba HA, *et al.* HDL induces NO-dependent vasorelaxation via the lysophospholipid receptor S1P3. J Clin Invest. 2004;113(4):569-81.
 27. Blankenberg S, Barbaux S, Tiret L. Adhesion molecules and atherosclerosis. Atherosclerosis. 2003; 170(2):191-203.
 28. Hausenloy DJ, Yellon DM. Targeting residual cardiovascular risk: raising high-density lipoprotein cholesterol levels. Heart. 2008;94(6):706-14.
 29. Calabresi L, Franceschini G, Sirtori CR, De Palma A, Saresella M, Ferrante P, *et al.* Inhibition of VCAM-1 expression in endothelial cells by reconstituted high density lipoproteins. Biochem Biophys Res Commun. 1997;238(1):61-5.
 30. Sugano M, Tsuchida K, Makino N. High-density lipoproteins protect endothelial cells from tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis. Biochem Biophys Res Commun. 2000;272(3):872-6.
 31. Dimmeler S, Haendeler J, Zeiher AM. Regulation of endothelial cell apoptosis in atherothrombosis. Curr Opin Lipidol. 2002;13(5):531-6.

32. Choy JC, Granville DJ, Hunt DW, McManus BM. Endothelial cell apoptosis: biochemical characteristics and potential implications for atherosclerosis. *J Mol Cell Cardiol.* 2001;33(9):1673-90.
33. Nofer JR, Levkau B, Wolinska I, Junker R, Fobker M, von Eckardstein A, *et al.* Suppression of endothelial cell apoptosis by high density lipoproteins (HDL) and HDL-associated lysosphingolipids. *J Biol Chem.* 2001;276(37):34480-5.
34. Caughey GE, Cleland LG, Penglis PS, Gamble JR, James MJ. Roles of cyclooxygenase (COX)-1 and COX-2 in prostanoid production by human endothelial cells: selective up-regulation of prostacyclin synthesis by COX-2. *J Immunol.* 2001;167(5):2831-8.
35. Linton MF, Fazio S. Cyclooxygenase-2 and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2002;13(5):497-504.
36. Norata GD, Callegari E, Inoue H, Catapano AL. HDL3 induces cyclooxygenase-2 expression and prostacyclin release in human endothelial cells via a p38 MAPK/CRE-dependent pathway: effects on COX-2/PGI-synthase coupling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(5):871-7.
37. Tall AR, Yvan-Charvet L, Terasaka N, Pagler T, Wang N. HDL, ABC transporters, and cholesterol efflux: implications for the treatment of atherosclerosis. *Cell Metabolism.* 2008;7(5):365-75.
38. Assmann G, Nofer JR. Atheroprotective effects of high-density lipoproteins. *Annu Rev Med.* 2003;54:321-41.
39. Durand E, Scoazec A, Lafont A, Boddaert J, Al Hajzen A, Addad F, *et al.* In vivo induction of endothelial apoptosis leads to vessel thrombosis and endothelial denudation: a clue to the understanding of the mechanisms of thrombotic plaque erosion. *Circulation.* 2004;109(21):2503-6.
40. Polgar J, Matuskova J, Wagner DD. The P-selectin, tissue factor, coagulation triad. *J Thromb Haemost.* 2005;3(8):1590-6.
41. Deguchi H, Yegneswaran S, Griffin JH. Sphingolipids as bioactive regulators of thrombin generation. *J Biol Chem.* 2004;279(13):12036-42.
42. Ridker PM, Brown NJ, Vaughan DE, Harrison DG, Mehta JL. Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events. *Circulation.* 2004;109(25 Suppl 1):IV6-19.
43. Norata GD, Banfi C, Pirillo A, Tremoli E, Hamsten A, Catapano AL, *et al.* Oxidised-HDL3 induces the expression of PAI-1 in human endothelial cells. Role of p38MAPK activation and mRNA stabilization. *Br J Haematol.* 2004;127(1):97-104.
44. Nicholls SJ, Lundman P, Harmer JA, Cutri B, Griffiths KA, Rye KA, *et al.* Consumption of saturated fat impairs the anti-inflammatory properties of high-density lipoproteins and endothelial function. *J Am Coll Cardiol.* 2006;48(4):715-20.
45. Kraus WE, Houmard JA, Duscha BD, Knetzger KJ, Wharton MB, McCartney JS, *et al.* Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *N Engl J Med.* 2002;347(19):1483-92.
46. Kodama S, Tanaka S, Saito K, Shu M, Sone Y, Onitake F, *et al.* Effect of aerobic exercise training on serum levels of high-density lipoprotein cholesterol: a meta-analysis. *Arch Intern Med.* 2007;167(10):999-1008.
47. Singh IM, Shishehbor MH, Ansell BJ. High-density lipoprotein as a therapeutic target: a systematic review. *JAMA.* 2007;298(7):786-98.
48. Dattilo AM, Kris-Etherton PM. Effects of weight reduction on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 1992;56(2):320-8.
49. Garrison RJ, Kannel WB, Feinleib M, Castelli WP, McNamara PM, Padgett SJ. Cigarette smoking and HDL cholesterol: the Framingham offspring study. *Atherosclerosis.* 1978;30(1):17-25.
50. Maeda K, Noguchi Y, Fukui T. The effects of cessation from cigarette smoking on the lipid and lipoprotein profiles: a meta-analysis. *Prev Med.* 2003;37(4):283-90.
51. Gaziano JM, Buring JE, Breslow JL, Goldhaber SZ, Rosner B, VanDenburgh M, *et al.* Moderate alcohol intake, increased levels of high-density lipoprotein and its subfractions, and decreased risk of myocardial infarction. *N Engl J Med.* 1993;329(25):1829-34.
52. Mukamal KJ, Conigrave KM, Mittleman MA, Camargo CA, Stampfer MJ, Willett WC, *et al.* Roles of drinking pattern and type of alcohol consumed in coronary heart disease in men. *N Engl J Med.* 2003;348(2):109-18.
53. Santos-Gallego CG, Ibanez B, Badimon JJ. HDL-cholesterol: is it really good? Differences between apoA-I and HDL. *Biochem Pharmacol.* 2008;76(4):443-52.
54. Badimón JJ, Santos-Gallego CG, Badimón L. Importancia del colesterol HDL en la aterotrombosis. ¿De dónde venimos? ¿Hacia dónde vamos? *Rev Esp Cardiol.* 2010;63(2):20-35.

55. Jones PH, Davidson MH, Stein EA, Bays HE, McKenney JM, Miller E, *et al.* Comparison of the efficacy and safety of rosuvastatin versus atorvastatin, simvastatin, and pravastatin across doses (STELLAR* Trial). *Am J Cardiol.* 2003;92(2):152-60.
56. Schaefer JR, Schweer H, Ikewaki K, Stracke H, Seyberth HJ, Kaffarnik H, *et al.* Metabolic basis of high density lipoproteins and apolipoprotein A-I increase by HMG-CoA reductase inhibition in healthy subjects and a patient with coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 1999;144(1):177-84.
57. Chapman MJ, Le Goff W, Guerin M, Kontush A. Cholesteryl ester transfer protein: at the heart of the action of lipid-modulating therapy with statins, fibrates, niacin, and cholesteryl ester transfer protein inhibitors. *Eur Heart J.* 2010;31(2):149-64.
58. Yki-Jarvinen H. Thiazolidinediones. *N Engl J Med.* 2004;351(11):1106-18.
59. Lincoff AM, Wolski K, Nicholls SJ, Nissen SE. Pioglitazone and risk of cardiovascular events in patients with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of randomized trials. *JAMA.* 2007;298(10):1180-8.
60. Willemen MJ, Mantel-Teeuwisse AK, Buggy Y, Layton D, Straus SM, Leufkens HG, *et al.* Reasons for and time to discontinuation of rimonabant therapy: a modified prescription-event monitoring study. *Drug Saf.* 2012;35(12):1147-58.
61. Zelcer N, Tontonoz P. Liver X receptors as integrators of metabolic and inflammatory signaling. *J Clin Invest.* 2006;116(3):607-14.
62. Nissen SE, Tsunoda T, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Cooper CJ, Yasin M, *et al.* Effect of recombinant ApoA-I Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2003;290(17):2292-300.
63. Tardif JC, Gregoire J, L'Allier PL, Ibrahim R, Lesperance J, Heinson TM, *et al.* Effects of reconstituted high-density lipoprotein infusions on coronary atherosclerosis: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2007;297(15):1675-82.
64. Shaw JA, Bobik A, Murphy A, Kanellakis P, Blombery P, Mukhamedova N, *et al.* Infusion of reconstituted high-density lipoprotein leads to acute changes in human atherosclerotic plaque. *Circ Res.* 2008;103(10):1084-91.
65. Hausenloy DJ, Yellon DM. Enhancing cardiovascular disease risk reduction: raising high-density lipoprotein levels. *Curr Opin Cardiol.* 2009;24(5):473-82.
66. Bloedon LT, Dunbar R, Duffy D, Pinell-Salles P, Norris R, DeGroot BJ, *et al.* Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of oral apoA-I mimetic peptide D-4F in high-risk cardiovascular patients. *J Lipid Res.* 2008;49(6):1344-52.

High-density lipoproteins: vascular guards against atherosclerosis

Yosit Ponce Gutiérrez^a✉, MD; Arik Ponce Gutiérrez^a, MD; Arnaldo Rodríguez León^b, MD, MSc; and Carlos Llanes Álvarez^a, MD

^a Juan B. Contreras Fowler Polyclinic. Ranchuelo, Villa Clara, Cuba.

^b Celestino Hernández Robau University Hospital. Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

Este artículo también está disponible en español

ARTICLE INFORMATION

Received: October 26, 2012
Modified: December 18, 2012
Accepted: January 31, 2013

Competing interests

The authors declare no competing interests

Acronyms

CETP: cholesteryl esters transfer protein
eNOS: endothelial nitric oxide synthase
HDL: high-density lipoprotein
LCAT: lecithin-cholesterol acyltransferase
LDL: low-density lipoprotein
LPL: lipoprotein lipase
PON: paraoxonase
RCT: reverse cholesterol transport
VLDL: very low density lipoproteins

On-Line Versions:
Spanish - English

✉ Y Ponce Gutiérrez
Calle Camilo Cienfuegos N° 63, e/
Carmen Rivero y Federico Escobar.
Ranchuelo, Villa Clara, Cuba.
E-mail address:
froilanponce@capiro.vcl.sld.cu

ABSTRACT

Increasing levels of high-density lipoproteins and their potential benefits in Atherosclerosis motivated us to write this article in order to update knowledge on this topic. The structure of these lipoproteins is described, as well as their atheroprotective vascular effects and the reverse cholesterol transport. New strategies to increase their concentration in the body are presented, as recent studies indicate that they stabilize atherosclerotic plaques in an expedited manner. Therefore, it constitutes a novel therapeutic alternative in high risk patients. This will update the knowledge on high-density lipoproteins, in order to provide a better quality care in the prevention, control and treatment of this common disease.

Palabras clave: High-density lipoprotein, HDL, Atherosclerosis, Atherosclerotic plaque

Las lipoproteínas de alta densidad: protectoras vasculares contra la aterosclerosis

RESUMEN

El incremento de los niveles de lipoproteínas de alta densidad y sus potenciales beneficios en la aterosclerosis ha sido motivo para la realización de este artículo, en el que se efectúa una revisión sobre la información médica más reciente que existe sobre el tema y su posterior actualización. Se describen la estructura de estas lipoproteínas, sus efectos vasculares ateroprotectores, el transporte reverso de colesterol, y se exponen las nuevas estrategias que permiten incrementar sus concentraciones en el organismo, ya que estudios recientes indican que estabilizan las placas de ateroma de una manera acelerada, por lo que constituyen una novedosa alternativa terapéutica en los pacientes de alto riesgo. De esta forma se consolidan los conocimientos sobre las lipoproteínas de alta densidad, con el fin de brindar una atención de más calidad en la prevención, control y tratamiento de esta frecuente enfermedad.

Palabras clave: Lipoproteínas de alta densidad, HDL, Aterosclerosis, Placa de ateroma

INTRODUCTION

Atherosclerosis is a disease characterized by the deposition and infiltration of fatty material on the inner walls of large and medium arteries. It is the most

common form of arteriosclerosis. It causes an inflammatory response and the proliferation and migration of smooth muscle cells in the wall, which leads to a narrowing of the arterial lumen. The concrete thickenings are called atherosclerotic plaques, and thrombosis is their most common complication¹.

This disease is the leading cause of death in developed countries, that is, North America, Europe and Australia, associated with an unhealthy lifestyle. Approximately 76 % of fatal coronary thrombi are caused by the rupture of a complicated atherosclerotic plaque².

Atherosclerosis is the result of an imbalance between deposition and removal of cholesterol in the arterial wall, with a predominance of the former. The main responsible for the deposition of cholesterol in the arterial wall is low-density lipoprotein (LDL), while the main responsible for its removal is high-density lipoprotein (HDL). Both, high systemic concentrations of LDL cholesterol and low concentration of HDL have been consistently associated with the development of atherosclerosis³.

Numerous therapeutic strategies have been tested in an attempt to prevent the development of the disease by lowering LDL or increasing HDL. While LDL reduction, mainly with the use of statins⁴, has been established as a standard therapy for primary and secondary prevention of atherothrombotic events, the increase in HDL predicts a hopeful future. That is why the vital importance of studying it and the therapeutic prospects for its use in such a common disease, which still does not have a full and effective control.

HDL STRUCTURE

HDL is a macromolecular pseudomicellar complex composed of amphipathic lipids (phospholipids and free cholesterol), non-polar lipids (triglyceride and cholesteryl esters) and proteins called apolipoproteins (apo). Amphipathic lipids are arranged in a monolayer on the surface of the complex, and have their polar groups toward the aqueous medium. The stability of this monolayer is guaranteed by the apo. Non-polar lipids are insoluble in aqueous media such as plasma and, consequently, are located within lipoproteins, thus avoiding interactions with polar groups that would be physicochemically unfavorable. Therefore, the transport of lipids in plasma is guaranteed⁵.

HDL is the smallest lipoprotein, and with the highest protein content (55-60 % of its net mass). Five sub-fractions of HDL have been identified. From the largest (and most effective in cholesterol removal) to the smallest (and less effective), the subtypes are: HDL2a, HDL2b, HDL3a, HDL3b, and HDL3c. Its main protein component is apo A-I, accounting for more than 70% of the total protein content of HDL particles; hence, the plasma concentration of apo A-I in normal conditions (without pharmacological intervention) is closely correlated with HDL plasma concentrations. The second most abundant apolipoprotein is apo A-II, but its mission has not yet been well defined. HDL contains other proteins (**Figure 1**) at lower concentration (apo A-IV, apo A-V, apo C-I, apo C-III, and apo E)^{6,7}.

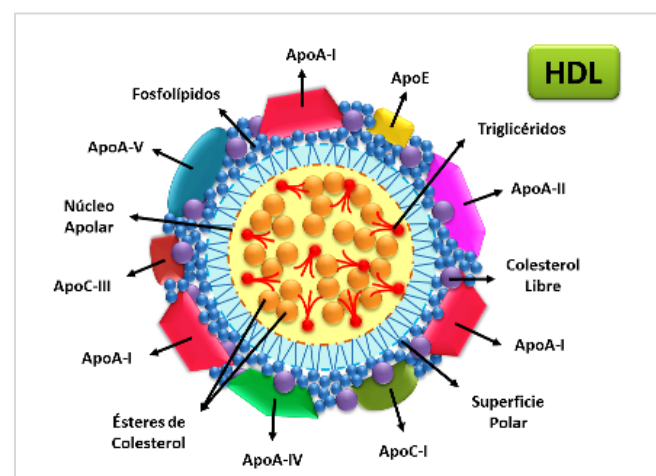


Figure 1. Structure of High Density Lipoprotein (HDL). Major protein and lipid components. Apolipoproteins (apo) bind with the outermost lipids by hydrophobic interactions, and, by means of electrostatic attraction, they bind with phospholipid to stabilize HDL.

REVERSE CHOLESTEROL TRANSPORT

The reverse cholesterol transport (RCT) is defined as the removal of cholesterol from extrahepatic tissues and its transport to the liver for metabolism and ultimate intestinal excretion in bile acids. HDL has a key role in the removal of cholesterol from atherosclerotic lesions and its transport to the liver (**Figure 2**)⁸.

RCT steps are briefly discussed here:

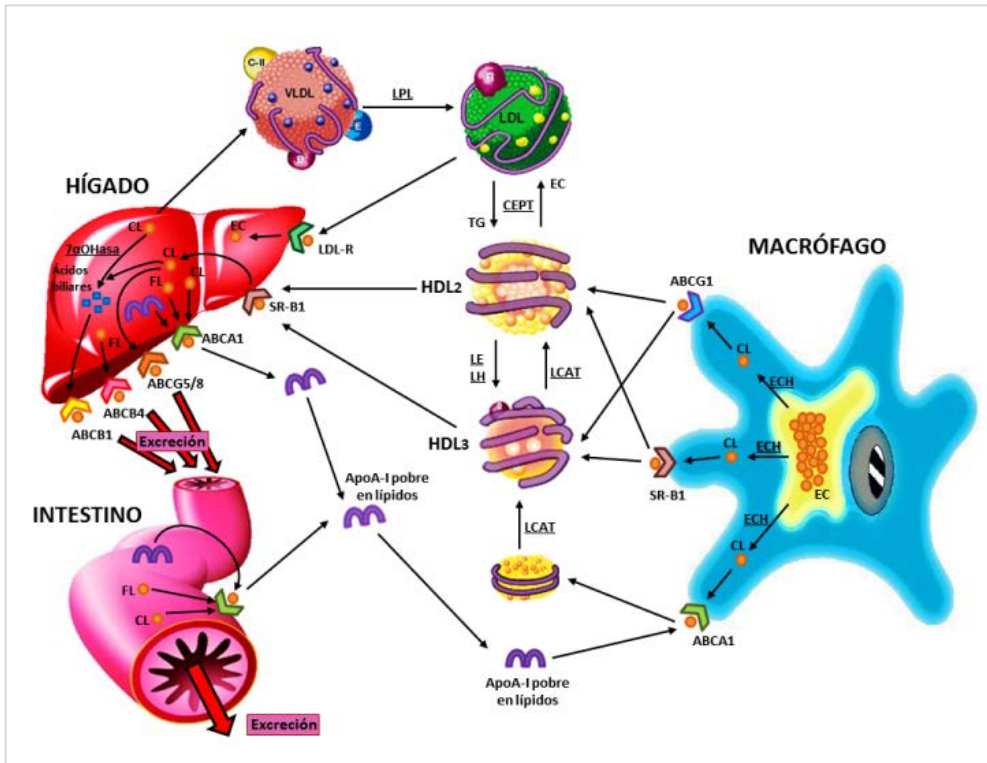


Figure 2. Graphical representation of the RCT. Apo A-I, the main protein of HDL, is synthesized in the liver and intestine where, via ABCA1 receptor, receives a small amount of phospholipids and becomes lipid-poor apo A-I (nascent HDL). The apo A-I leads the nascent HDL to extrahepatic tissues, mainly to macrophages, from which it receives free cholesterol via ABCA1 receptor (nascent HDL with pre β 1 migration). Through the action of the enzyme LCAT, free cholesterol is turned into cholesteryl esters, and so it is transformed into spherical mature HDL (HDL3 and HDL2), which receives cholesterol from peripheral tissues via the receptor SR-BI or ABCG1, increasing its size and its esterified cholesterol content. The RCT is completed in two ways: a) hepatic uptake of mature HDL-C via SR-BI receptor; and b) the CETP catalyzes the transfer of cholesteryl ester to LDL-C, which in turn will be taken up by the liver through the LDL receptor. Finally, from the liver, free cholesterol may be poured directly into the bile or turned into bile acids (the enzyme responsible for this reaction is the 7 α -hydroxylase), prior to the occurrence of biliary excretion in the intestine.

Legend: Apolipoprotein (apo); HDL cholesterol (HDL-C); LDL cholesterol (LDL-C); free cholesterol (FC); Enzyme 7- α hydroxylase (CYP7A1); Cholesteryl esters (CE); Cholesteryl ester hydrolase (CEH); Phospholipids (PL); Lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT); Endothelial lipase (EL); Hepatic lipase (HL); Lipoprotein lipase (LPL); Cholesteryl ester transfer protein (CETP); LDL receptor (LDL-R); Scavenger receptor BI (SR-BI); Triglycerides (TG).

HDL synthesis

The liver and intestine synthesize and secrete apo A-I (the main component of HDL). The liver produces 75% of the human apo A-I. Both tissues are responsible for the lipidation of newly secreted lipid-poor apo A-I via ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1), where the nascent HDL is formed (which is also called lipid-poor apo A-I)^{3,9}.

Cholesterol uptake by nascent HDL (cholesterol efflux)

This process can be accomplished by different mechanisms and eventually results in the formation of discoidal HDL particles:

- Aqueous diffusion: This passive mechanism is fulfilled by a simple diffusion process, so that the movement of cholesterol may be bi-directional, and the direction is determined solely by its concentration gradient. It occurs in all cells and is a slow and rather inefficient process (takes hours)³.
- ABCA1-mediated free cholesterol efflux: this movement of free cholesterol is unidirectional, only from the cells to the lipid-poor apolipoproteins^{3,9,10}.
- Scavenger receptor class B type I (SR-BI): the flux of free cholesterol mediated by SR-BI only takes place toward phospholipid-containing acceptors (that is, HDL and lipidated apolipoproteins), and it is bidirectional, depending on the concentration gradient on both sides of the membrane^{3,11}.

concentration gradient on both sides of the membrane^{3,11}.

- ABCG1 and ABCG4: provide an alternative pathway for the transport of free cholesterol from macrophages to mature HDL, but never to nascent HDL (lipid-poor apo A-I)^{3,12}.

HDL maturation

Nascent HDL particles undergo a process of intravas-

cular transformation by the action of several enzymes:

- The enzyme called lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT): inside the discoidal nascent HDL particle, LCAT catalyzes the transfer of 2-acyl group from lecithin to free cholesterol captured from the macrophages, thus generating cholesteryl esters and lysolecithin. Cholesteryl esters are more hydrophobic than free cholesterol, so they move into the core of the lipoprotein particle, thus forming a mature HDL particle, which is large and spherical^{3,13}.
- Cholesteryl esters transfer protein (CETP): it is a hydrophobic glycoprotein synthesized by liver and adipose tissue which circulates in the plasma bound to lipoproteins. CETP promotes the transfer of cholesteryl esters from HDL particles to apo B-containing lipoproteins [LDL, chylomicrons and very low density lipoproteins (VLDL)] in exchange for triglycerides; that is, it transfers triglycerides conversely from VLDL, chylomicrons and LDL to HDL, thus, there is migration of cholesteryl esters back to LDL and a reduction in the size of the HDL particle^{3,14,15}.
- Other proteins involved are: the phospholipid transfer protein and several lipases [lipoprotein lipase (LPL), hepatic lipase and endothelial lipase]. The triglycerides in mature HDL are hydrolyzed by hepatic lipase. This hydrolysis, in association with the activity of phospholipid transfer protein, reduces the size of mature HDL, and turns them into nascent HDL, poor in phospholipids, which can restart the uptake cycle^{3,16}.

Catabolism of HDL

The most decisive factor determining HDL and apo A-I plasma concentrations is the apo A-I clearance rate. The kidneys, liver and steroidogenic organs (adrenals, ovaries and testes) are the main sites for catabolism of HDL. This catabolism may be effected by: a) endocytosis and lysosomal degradation of the whole particle (including apo A-I), which occur both in the liver and kidneys, and b) selective cholesterol uptake, that is, removal of cholesterol and other lipids from the particle without affecting the protein content. The mechanism that has been best characterized is hepatic uptake by SR-BI. Free cholesterol that is transported in HDL may be directly excreted into the bile or become

bile acids, prior to bile excretion (the enzyme responsible for this reaction is 7 α -hydroxylase)^{3,17}.

HDL ATHEROPROTECTIVE ACTIONS WHICH ARE NOT RELATED TO RCT

Vascular protection given by high concentrations of HDL against atherosclerosis is not only limited to the effect of RCT, but includes other atheroprotective actions, such as antioxidant activity, protection of endothelial function, anti-inflammatory and anti-apoptotic activity, inactivation of the complement system, regulation of the endothelium secretory activity, as well as antithrombotic and fibrinolytic effects (**Figure 3**).

Antioxidant activity

Due to its proinflammatory properties, oxidized LDL in the subendothelial space is involved in the formation of the atherosclerotic plaque. In this context, the antiatherogenic role of HDL is due its antioxidant quality. Several of its elements are involved in this quality, including its apolipoproteins, and particularly paraoxonase (PON) 2, an enzyme physically associated with plasma HDL. This PON is synthesized in mammals' liver, circulates in blood bound to the apo A-I and apo J of HDL, and its expression is inhibited by proatherogenic stimuli^{5,18}.

The molecular bases for the inverse relation between PON and atherosclerosis have been found in the enzyme capacity to eliminate the lipoperoxides that are involved in plaque formation. The onset and progression of the atherosclerotic plaque in the arterial wall is largely dependent on peroxidation of lipoproteins mediated by free radicals, in particular from LDL¹⁹.

These biological effects are associated with the PON's ability to remove peroxides that are linked to lipoproteins, leading to the corresponding alcohols, which are inactive derivatives from the viewpoint of peroxidation, chemotaxis and the inflammatory process in general. PON activity varies among individuals due to genetic and pathophysiological factors. Indeed, the human gene for this enzyme has two polymorphisms (M55L and Q192R) affecting its activity. Moreover, a decreased PON activity has been found in hyperlipidemic and insulin-dependent diabetic sub-

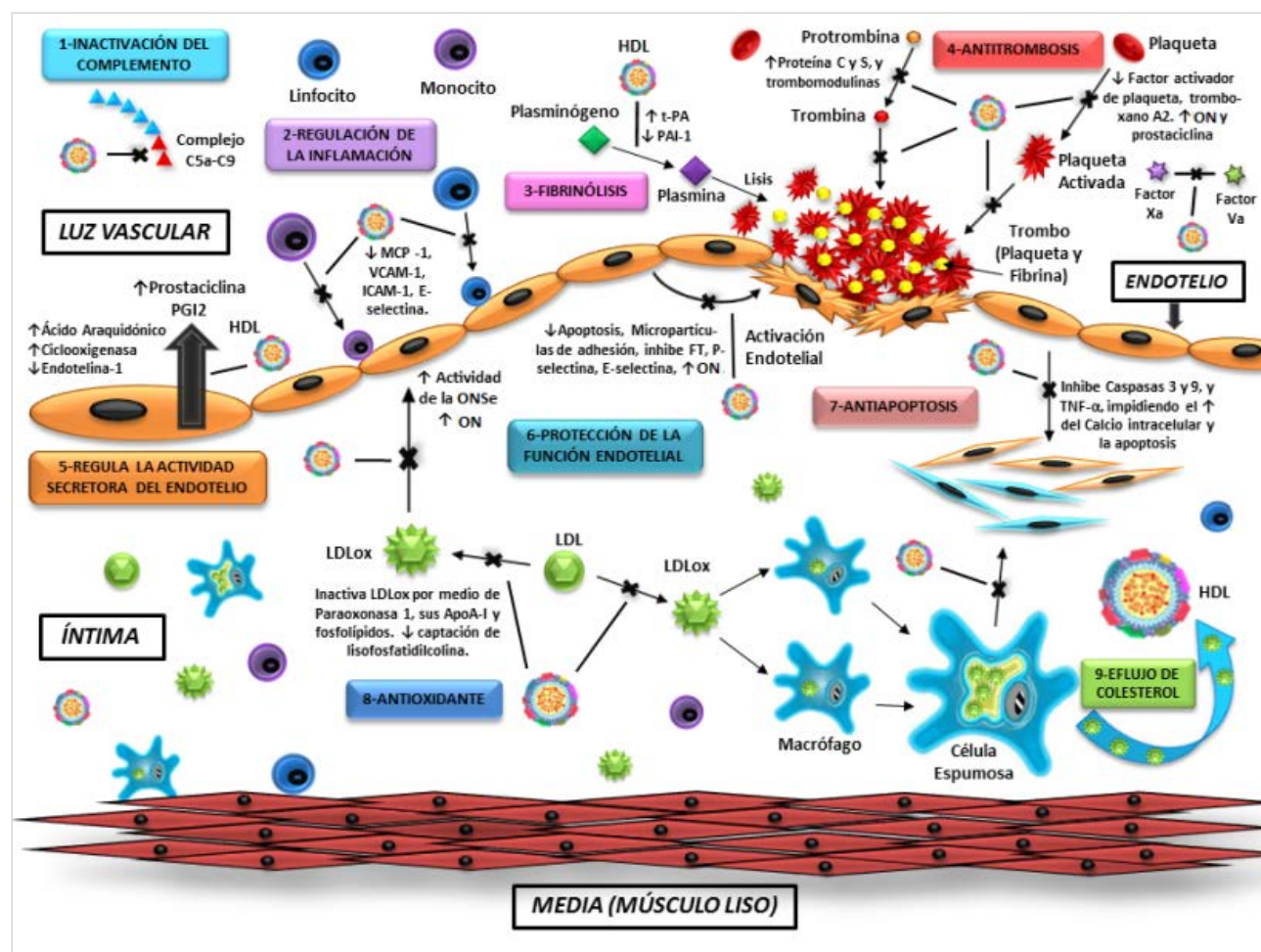


Figure 3. Summary chart of HDL atheroprotective function. 1) **Inactivation of complement:** HDL prevents the formation of C5-C9 complex in the activation cascade of the complement system. 2) **Regulation of inflammation:** HDL inhibits the attraction of circulating monocytes and lymphocytes to the endothelium by downregulating the expression of MCP-1, VCAM-1 and ICAM-1, which are mediators of the adhesion, and of E-selectin, which allows the anchorage and sliding on the surface of endothelial cells. 3) **Fibrinolysis:** HDL promotes the conversion of plasminogen into plasmin (fibrinolytic enzyme) by upregulation of t-PA and downregulation of PAI-1. 4) **Antithrombotic:** HDL prevents platelet activation by decreasing the platelet activating factor and thromboxane A2 and by increasing the synthesis of nitric oxide and prostacyclin. The sphingosine of HDL limits the procoagulant interactions between factors Xa and Va of the coagulation cascade. Decreased production of thrombin is due to improved activity of activated protein C and protein S, and upregulation of endothelial thrombomodulins. The decrease in endothelial activation occurs because it prevents the apoptosis of endothelial cells and the formation of microparticles of adhesion, promotes the inhibition of tissue factor, P-selectin and the expression of E-selectin, and increases the production of nitric oxide. 5) **Regulation of endothelial secretory activity:** HDL stimulates the production of PGI2, as it supplies the endothelial cells with arachidonic acid, the main substrate for the synthesis of PGI2, and stimulates the synthesis of cyclooxygenase in endothelial cells and vascular smooth muscle cells, and inhibits that of endothelin-1. 6) **Protection of endothelial function:** HDL inactivates the harmful effects of ox-LDL at nitric oxide production level, and increase eNOS activity. 7) **Anti-apoptosis:** HDL prevents the apoptosis of endothelial cells, macrophages and foam cells because it prevents the sustained increase in intracellular calcium that is induced by pro-apoptotic agents, such as ox-LDL, preventing the activation of caspase-3 and -9 proteins, and the antagonism of TNF- α . This is due to the fact that the HDL stimulation of migration and proliferation of endothelial cells is calcium-dependent and mediated by multiple kinases cascades. 8) **Antioxidant:** HDL inactivates ox-LDL through the enzyme PON-1, apo A-I and phospholipids. HDL also reduces the uptake of lysophosphatidylcholine, one of the products derived from the LDL oxidation process. 9) **Efflux of cholesterol:** HDL receives cholesterol from extrahepatic tissues, mainly macrophages and vascular foam cells, for its subsequent transport to the liver and excretion into the bile in the intestine, as part of the RCT. **Legend:** Plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1); tissue plasminogen activator (t-PA); Apolipoprotein (apo); Endothelial cells (EC); Tumor necrosis factor alpha (TNF- α); Tissue factors (TF); Oxidized LDL (ox-LDL); Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1); Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1); nitric oxide (NO); Endothelial nitric oxide synthase (eNOS); Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1). $\uparrow$ Increase. $\downarrow$ decrease.

jects. In addition, there is a positive correlation between its concentration and that of apo A-I⁵.

Protection of endothelial function

It has been postulated that the mechanisms responsible for the preservation of endothelial function mediated by HDL are related to its ability to inactivate the harmful effects of oxidized LDL (ox-LDL) at nitric oxide production level²⁰.

HDL promotes the production of this oxide by means of the enzyme endothelial nitric oxide synthase (eNOS) by different mechanisms.

- 1- HDL regulates the subcellular distribution of eNOS. The eNOS protein is localized in the enriched cholesterol of the caveolae of the plasma membrane, as a result of the myristoylation and palmitoylation of the protein. HDL regulates lipid environment within caveolae and ox-LDL, allowing preservation of the signaling module of eNOS^{21,22}.
- 2- Based on mimetic studies of apo A-I, HDL prevents decoupling of eNOS by LDL, which favors the production of nitric oxide over that of superoxide anion (O_2^-)^{21,23}
- 3- HDL activates the signal mechanisms of the membrane that stimulate the activity of eNOS. The binding of apo A-I from HDL with SR-BI, causes a rapid activation of Src receptor of tyrosine kinase, triggering the activation of phosphatidylinositol 3-kinase, and activating consecutively protein kinase B alpha (Akt) and mitogen-activated protein kinase (MAPK), which produced an increase in eNOS activity. Although apolipoproteins and phospholipids of HDL are sufficient to activate the signaling, it can also occur through lysophospholipids present in HDL such as sphingosylphosphorylcholine (SPC), sphingosine-1-phosphate (S1P) and lysosulfatides acting via the lysophospholipid receptor S1P-3.
- 4- HDL regulates the abundance of eNOS. Besides modulating the acute response of the activation of phosphatidylinositol 3-kinase pathway, Akt and MAPK, HDL also causes increased eNOS²⁴⁻²⁶.

HDL inactivates the ox-LDL not only through the PON, as it was previously discussed, but also by means of apo A-I, its phospholipids and lysophosphatidylcholine uptake, one of the products derived from LDL oxidative process^{21,23}.

Regulation of inflammatory response

Attraction and adhesion of leukocytes to endothelial cells and their interaction with smooth muscle cells play a central role in the development of atherosclerotic plaque. The interaction of leukocytes with endothelial cells is mediated by adhesion molecules that are located on the luminal surface of the endothelium²⁷.

HDL inhibits the attraction of monocytes to the endothelium by downregulating the expression of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1). Among the molecules involved in leukocyte adhesion to the endothelium are the vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), the intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and E-selectin. The VCAM-1 and ICAM-1 mediate in the adhesion of circulating lymphocytes and monocytes, while the E-selectin allows its anchorage and sliding on the surface of endothelial cells. Furthermore, these three molecules are abundantly expressed in atherosclerotic plaques, most likely to recruit specific cells into the subendothelial space by the inflammatory process triggered by ox-LDL²⁸.

In vitro studies with human endothelial cells have shown that physiological concentrations of HDL inhibit the expression of VCAM-1, ICAM-1 and E-selectin²⁹. This effect seems to be related to the inhibition of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and its impact on intracellular second messengers resulting in the synthesis of adhesion molecules. In addition, it is independent of the elimination, mediated by HDL, of free radicals that are generated in the atherosclerotic lesion^{5,21}.

Prevention of endothelial cell apoptosis

Multiple proatherogenic factors promote apoptosis in the endothelium, including ox-LDL, TNF- α , homocysteine and angiotensin II. The anti-apoptotic actions of HDL include preventing a sustained increase in intracellular calcium, induced by pro-apoptotic agents such as ox-LDL, which prevents activation of caspase-3 and 9 proteins, and the antagonism of a variety of other pro-apoptotic mechanisms. This is due to the fact that the HDL stimulation of migration and proliferation of endothelial cells is calcium-dependent and mediated by multiple kinases cascades involving phosphatidylinositol 3-kinase, p38 and p42/44 MAPK, and Rho ki-

nase. TNF- α , which also induces endothelial cell death, is inhibited by HDL through the attenuated induction of caspase-3, a major component of all primary apoptotic pathways³⁰⁻³³.

Inactivation of the complement system

When the initial inflammatory process begins in the early stages of atheroma formation, the complement causes damage to endothelial cells, which culminates in tissue necrosis. HDL, through its apo A-I, binds with complement factor C9, which inhibits the formation of C5a-C9 complex, and, consequently, avoids the complement harmful effects on vascular endothelium in the atherosclerotic process⁵.

Regulation of secretory activity of the endothelium

Prostacyclin PGI₂, produced by the action of the cyclooxygenase from endothelial cells, has potent vaso-relaxing effect, and reduces the release of growth factors that stimulate local proliferation of smooth muscle cells involved in the development of atheroma. In this context, the HDL stimulates the production of PGI₂ by two mechanisms: 1) providing arachidonic acid for the endothelial cell, the main substrate for the synthesis of PGI₂, and 2) stimulating the synthesis of cyclooxygenase in endothelial cells and vascular smooth muscle cells. Endothelin-1 is another compound whose synthesis is affected by HDL. This effect is likely to originate at the level of post-transcriptional regulation of the synthesis of endothelin-1³⁴⁻³⁷.

Antithrombotic activity

HDL has multiple antithrombotic properties that involve an increase in blood flow, a reduction in thrombin generation and endothelial and platelet activation. HDL increases blood flow by increasing nitric oxide and prostacyclin production. The decrease in endothelial activation occurs when it prevents the apoptosis of endothelial cells and the formation of microparticles of adhesion, promotes the inhibition of tissue factor, P-selectin and the expression of E-selectin, and increases nitric oxide production. Decreased production of thrombin by HDL is due to improvement in the activity of activated protein C and protein S, and the upregulation of endothelial thrombomodulins. The

antagonism of HDL, on platelet activation, occurs by a downregulation of the release of the platelet activating factor and thromboxane A₂ synthesis, and by increased synthesis of nitric oxide and prostacyclin³⁸⁻⁴⁰.

HDL transports various sphingolipids that are present in plasma at micromolar range. It has been determined that at least four types of sphingolipids in HDL may directly or indirectly contribute to the anti-thrombotic activity.

- The glycosphingolipids and glucosylceramide that are associated with it are lipid cofactors of the anticoagulant activities of activated protein C and protein S.
- Sphingosine inhibits the activation of prothrombin in platelet aggregation and seems to limit procoagulant interactions between factors Xa and Va of the coagulation cascade, and may also directly downregulate the production of thrombin.
- The above mentioned sphingolipids and various lysosphingolipids exert potent cellular effects by means of the group of receptors coupled to G-protein, and HDL is the major transporter of S1P. As the S1P and others lysosphingolipids are related to vasoactive and anti-apoptotic activity, and the apoptosis of endothelial cells leads to thrombosis, then the anti-apoptotic activity of HDL, mediated by both lysosphingolipids and nitric oxide, may reduce the risk of thrombosis.
- As the interaction of endothelial cells with procoagulants, inflammatory leukocytes and microparticles derived from cells involve adhesive reactions, then, the lysosphingolipids that are associated with HDL may have an antithrombotic effect by inhibiting the synthesis of adhesive endothelial molecules^{21,41}.

Fibrinolytic activity

Fibrinolysis reactions exert a proteolytic action on fibrin, and lysis of fibrin rich thrombi by plasmin, which is formed by the activation of plasminogen. Hypofibrinolysis contributes to arterial thrombosis, rather than venous thrombosis. The HDL can promote fibrinolysis by a downregulation of plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1) and an upregulation of the tissue plasminogen activator (t-PA). HDL oxidation alters their effect on fibrinolysis because it oxidizes HDL₃, and, in the other subtypes of HDL, promotes the

expression of PAI-1 suppressing, therefore, fibrinolytic activity^{42,43}.

THERAPIES TO RAISE HDL CHOLESTEROL CONCENTRATIONS

The most effective way of preventing atherosclerosis and cardiovascular diseases is decreasing LDL concentrations and raising HDL (Figure 4).

NON-DRUG THERAPIES

Dietary measures

Diets rich in monounsaturated and polyunsaturated fatty acids (oily fish, nuts, olive oil) raise HDL levels and

reduce cardiovascular risk. The consumption of saturated fatty acids reduces the anti-inflammatory potential of HDL, whereas polyunsaturated acids improve it⁴⁴.

Aerobic exercise

Frequent aerobic exercise increases HDL about 5%^{45,46}. This effect is early (within 2 months), and seems to be linked to the frequency, intensity and duration of exercise⁴⁷.

Weight loss

A recent meta-analysis has shown that in obese indivi-

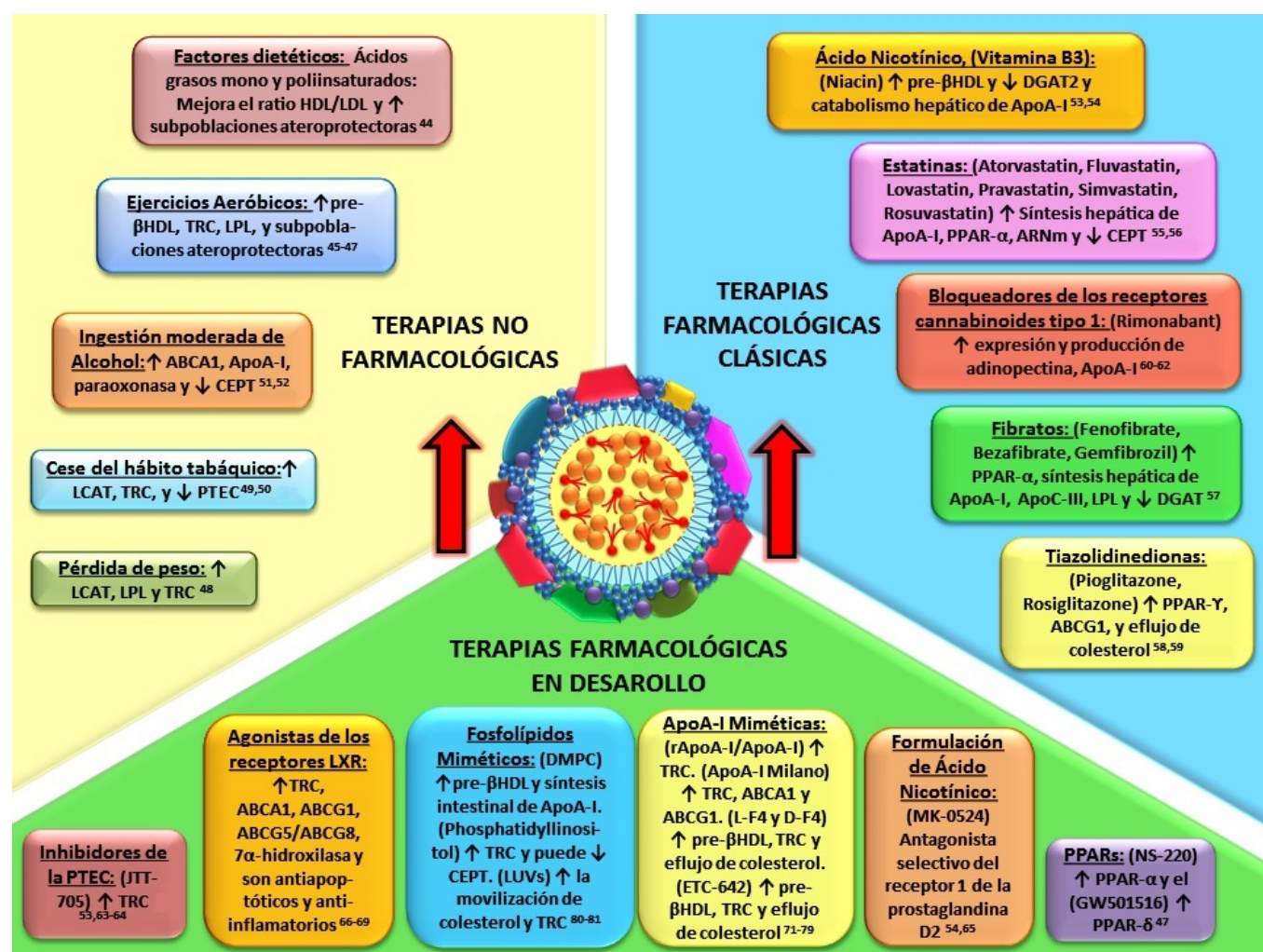


Figura 4: Therapies for raising HDL cholesterol levels. Apolipoprotein (apo); Diacylglycerol acyltransferase 2 (DGAT2); 1, 2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DMPC); Large unilamellar liposomes (LUV); Lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT); Lipoprotein lipase (LPL); Cholesteryl ester transfer protein (CEPT); Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR); Liver X receptors (LXR); Reverse cholesterol transport (RCT).

duals the loss of each kilogram of body weight is associated with a 0.35 mg/dl increase in HDL⁴⁸.

Cese del hábito tabáquico

It increases HDL levels in 5 mg/dl, even in periods as short as two weeks after cessation^{49,50}.

Moderate alcohol intake

It increases HDL concentrations between 5-15% and reduces cardiovascular risk⁵¹ (30-40 g daily, it is recommended 2 drinks for men and one for women). Apparently, ethyl alcohol *per se* causes the increase, so any alcoholic beverage could do it⁵²; however, the benefits must be weighed against the risks before recommending alcohol intake.

STANDARD PHARMACOTHERAPIES

Niacin/nicotinic acid

Niacin reduces HDL uptake by the liver and the amount of apo A-I that is extracted, giving rise to apo A-I-rich HDL particles (very efficient in RCT)^{53,54}. It also reduces the activity of CETP, lipolysis and the release fatty acids into the liver, resulting in decreased VLDL production. It is the most effective treatment to raise HDL (20-35%). It reduces total cholesterol by 10-15%, LDL cholesterol by 15-20%, triglycerides by 30-50 % and is the only one that reduces lipoprotein (a)⁵⁴.

Statins

Statins raise HDL by 5-10%⁴⁷ (rosuvastatin is the one inducing the biggest increases⁵⁵), by increasing the synthesis of apo A-I and decreasing CETP activity⁵⁶. Their effects depend on the initial levels of HDL; the lower the levels the bigger the effect.

Fibrates

They are agonists of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)-alpha. They increase the expression of apo A-I, apo A-II and LPL, and reduce apo C-III and CETP activity. They also reduce VLDL levels by increasing fatty acid oxidation in the liver, reducing lipogenesis and stimulating fatty acid uptake by muscles. They increase HDL by 10-20%, and reduce

triglyceride levels by 20-50% and LDL cholesterol by 10-15%. Fenofibrate and bezafibrate have a higher impact in LDL cholesterol reduction, while gemfibrozil is more effective in reducing triglycerides. Their impact depends on baseline lipid levels; the increase in HDL is more pronounced when baseline concentrations of triglycerides are high⁵⁷.

Thiazolidinediones

Used in the treatment of diabetes mellitus type 2, they are PPAR-gamma agonists which act to increase insulin sensitivity in adipose tissue and liver. They promote glucose uptake and decrease both its hepatic production and the concentration of circulating free fatty acids. Pioglitazone and rosiglitazone have shown a similar hypoglycemic activity (both reduce glycosylated hemoglobin by 1.5%). However, pioglitazone is superior in cardiovascular effects, because it increases HDL by 10% and reduces, to a larger extent, triglycerides, although it has no effect on LDL cholesterol; while rosiglitazone raises it by 10%⁵⁸. According Lincoff *et al*⁵⁹, they may trigger heart failure.

Cannabinoid type 1 receptor antagonists

Rimonabant was the first selective cannabinoid type 1 receptor. It had marked anorectic properties and could increase HDL and lower triglycerides, but its use was stopped in 2009 by the European Medicines Agency because of the risk of serious psychiatric disorders and suicide in patients who used it⁶⁰.

PHARMACOLOGICAL TARGETS BEING DEVELOPED

CETP inhibitors

CETP catalyzes the transfer of cholesteryl esters from HDL to LDL-VLDL in exchange of triglycerides⁵³. According Badimón⁵⁴, this strategy of increasing HDL by pharmacological inhibition of CETP was truncated when, in the ILLUMINATE study, torcetrapib showed a significant increase in cardiovascular events and mortality despite increases in HDL by 72% and decreases in LDL by 25%. Despite the failure of torcetrapib, there were two other CETP inhibitors, anacetrapib and dalcetrapib, which showed good results.

LXR receptor agonists

Liver X receptors (LXR) function as nuclear transcription factors that are associated with the retinoid X receptors and induce the expression of certain genes^{54,61}. Their agonists increase RCT by increasing the expression of ABCA1 and ABCG1 (they transport cholesterol from macrophage to immature and mature HDL, respectively), of ABCG5/ABCG8 (excretion of cholesterol from the liver into the bile) and 7 α -hydroxylase (the rate-limiting enzyme for bile acid synthesis). They also improve glucose tolerance in animal models and have anti-apoptotic and anti-inflammatory properties⁶¹.

ApoA-I Milano

The ApoA-1 Milano is a protein discovered in some Italian families due to a mutation in the apo A-I gene (the substitution of cysteine for arginine at position 173). Surprisingly, in these people, cardiovascular risk is low, despite having low levels of HDL and apoA-I, and high TG levels⁵⁴.

Repeated administrations of recombinant ApoA-1 Milano/phospholipid complex (ETC-216) achieved a decrease of atherosclerosis in mice⁵⁴. These findings have been confirmed in humans, in patients with ACS who achieved a decrease of coronary atherosclerosis (4.5%) measured by intracoronary ultrasound^{54,62}.

Other therapies involving apo A-I

Direct infusion of reconstituted HDL (rHDL: apo A-I combined with phospholipids) has shown to improve RCT⁵⁴, when using biochemical end-points^{63,64}. Another strategy is the use of mimetics of apo A-I which are administered intravenously, and have shown to reduce the progression of atherosclerosis in mice, without altering the lipid profile^{54,65,66}.

Also, it was found that weekly injections of autologous delipidated HDL (i.e. apolipoproteins only) caused a 12% reduction in the plaque volume, assessed by intracoronary ultrasound in 28 patients who had suffered an acute coronary syndrome, compared to a 3 % increase in the plaque of control patients⁵⁴. Finally, continue Badimón *et al*⁵⁴, the phospholipids are part of the HDL particle. In mice, they raise HDL and reduce atherosclerosis; and in 16 normolipemic volunteers, phosphatidylinositol, a deri-

vative of soy lecithin, increased HDL concentrations by 13-18%.

CONCLUSIONS

In the RCT, HDL has the leading role in the removal of cholesterol from atherosclerotic lesions and its transport to the liver, for subsequent metabolism and intestinal excretion with bile in feces. The vascular-protective effect of HDL, unrelated to RCT, is that it has antioxidant, anti-inflammatory, anti-apoptotic, antithrombotic and fibrinolytic properties, and acts on the complement system, regulates the secretory activity of the endothelium and protects endothelial function. High serum levels of HDL have been correlated with a decrease in the size of atherosclerotic plaques, as well as stabilization in high-risk plaques, thereby diminishing the incidence of arterial thrombotic accidents. Therefore, the possibility of increasing HDL with both pharmacological and nonpharmacological therapies is an important therapeutic target in atherosclerosis.

REFERENCES

1. Badimón L, Vilahur G. Enfermedad aterotrombótica coronaria: avances en el tratamiento antiplaquetario. *Rev Esp Cardiol*. 2008;61(5):501-13.
2. Falk E. Pathogenesis of Atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47(8):7-12.
3. Badimón JJ, Ibañez B. Incremento de las HDL como arma terapéutica en la aterotrombosis. *Rev Esp Cardiol*. 2010;63(3):323-33.
4. Nissen SE, Nicholls SJ, Sipahi I, Libby P, Raichlen JS, Ballantyne CM, *et al*. Effect of very high-intensity statin therapy on regression of coronary atherosclerosis: the ASTEROID trial. *JAMA*. 2006;295(13):1556-65.
5. Pérez Méndez O. Lipoproteínas de alta densidad (HDL). ¿Un objetivo terapéutico en la prevención de la aterosclerosis? *Arch Cardiol Mex*. 2004;74(1):53-67.
6. Toth P. The "good cholesterol": high-density lipoprotein. *Circulation*. 2005;111(5):e89-91.
7. Vaisar T, Pennathur S, Green PS, Gharib SA, Hoofnagle AN, Cheung MC, *et al*. Shotgun proteomics implicates protease inhibition and complement activation in the antiinflammatory properties of HDL.

- J Clin Invest. 2007;117(3):746-56.
8. Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res.* 2005;96:1221-32.
 9. Brunham LR, Kruit JK, Iqbal J, Fievet C, Timmins JM, Pape TD, *et al.* Intestinal ABCA1 directly contributes to HDL biogenesis in vivo. *J Clin Invest.* 2006;116(4):1052-62.
 10. Yokoyama S. ABCA1 and biogenesis of HDL. *J Atheroscler Thromb.* 2006;13(1):1-15.
 11. Yvan-Charvet L, Pagler TA, Wang N, Senokuchi T, Brundert M, Li H, *et al.* SR-BI inhibits ABCG1-stimulated net cholesterol efflux from cells to plasma HDL. *J Lipid Res.* 2008;49(1):107-14.
 12. Wang N, Collins HL, Ranalletta M, Fuki IV, Billheimer JT, Rothblat GH, *et al.* Macrophage ABCA1 and ABCG1, but not SR-BI, promote macrophage reverse cholesterol transport in vivo. *J Clin Invest.* 2007;117(8):2216-24.
 13. Curtiss LK, Volenta DT, Hime NJ, Rye KA. What is so special about apolipoprotein AI in reverse cholesterol transport? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(1):12-9.
 14. Cuchel M, Rader DJ. Macrophage reverse cholesterol transport: key to the regression of Atherosclerosis? *Circulation.* 2006;113(21):2548-55.
 15. Shah PK. Inhibition of CETP as a novel therapeutic strategy for reducing the risk of atherosclerotic disease. *Eur Heart J.* 2007;28(1):5-12.
 16. Barter PJ, Caulfield M, Eriksson M, Grundy SM, Kastelein JJ, Komajda M, *et al.* Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary events. *N Engl J Med.* 2007;357(21):2109-22.
 17. Rader DJ. Molecular regulation of HDL metabolism and function: implications for novel therapies. *J Clin Invest.* 2006;116(12):3090-100.
 18. Mackness B, Hine D, Liu Y, Mastorikou M, Mackness M. Paraoxonase-1 inhibits oxidised LDL-induced MCP-1 production by endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;318(3):680-3.
 19. Tomás M, Latorre G, Sentí M, Marrugat J. Función antioxidante de las lipoproteínas de alta densidad: un nuevo paradigma en la arteriosclerosis. *Rev Esp Cardiol.* 2004;57(6):557-69.
 20. Assmann G, Gotto AM. HDL Cholesterol and Protective Factors in Atherosclerosis. *Circulation.* 2004;109(23 Suppl 1):III8-14.
 21. Mineo C, Deguchi H, Griffin JH, Shaul PW. Endothelial and antithrombotic actions of HDL. *Circ Res.* 2006;98(11):1352-64.
 22. Gharavi NM, Baker NA, Mouillessaux KP, Yeung W, Honda HM, Hsieh X, *et al.* Role of endothelial nitric oxide synthase in the regulation of SREBP activation by oxidized phospholipids. *Circ Res.* 2006;98(6):768-76.
 23. Shaul PW, Mineo C. HDL action on the vascular wall: is the answer NO? *J Clin Invest.* 2004;113(4):509-13.
 24. Drew BG, Fidge NH, Gallon-Beaumier G, Kemp BE, Kingwell BA. High-density lipoprotein and apolipoprotein AI increase endothelial NO synthase activity by protein association and multisite phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101(18):6999-7004.
 25. Mineo C, Yuhanna IS, Quon MJ, Shaul PW. High density lipoprotein-induced endothelial nitric-oxide synthase activation is mediated by Akt and MAP kinases. *J Biol Chem.* 2003;278(11):9142-9.
 26. Nofer JR, van der Giet M, Tölle M, Wolinska I, von Wnuck Lipinski K, Baba HA, *et al.* HDL induces NO-dependent vasorelaxation via the lysophospholipid receptor S1P3. *J Clin Invest.* 2004;113(4):569-81.
 27. Blankenberg S, Barbaux S, Tiret L. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2003;170(2):191-203.
 28. Hausenloy DJ, Yellon DM. Targeting residual cardiovascular risk: raising high-density lipoprotein cholesterol levels. *Heart.* 2008;94(6):706-14.
 29. Calabresi L, Franceschini G, Sirtori CR, De Palma A, Saresella M, Ferrante P, *et al.* Inhibition of VCAM-1 expression in endothelial cells by reconstituted high density lipoproteins. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;238(1):61-5.
 30. Sugano M, Tsuchida K, Makino N. High-density lipoproteins protect endothelial cells from tumor necrosis factor- α -induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;272(3):872-6.
 31. Dimmeler S, Haendeler J, Zeiher AM. Regulation of endothelial cell apoptosis in atherothrombosis. *Curr Opin Lipidol.* 2002;13(5):531-6.
 32. Choy JC, Granville DJ, Hunt DW, McManus BM. Endothelial cell apoptosis: biochemical characteristics and potential implications for atherosclerosis. *J Mol Cell Cardiol.* 2001;33(9):1673-90.
 33. Nofer JR, Levkau B, Wolinska I, Junker R, Fobker M, von Eckardstein A, *et al.* Suppression of endothelial

- cell apoptosis by high density lipoproteins (HDL) and HDL-associated lysosphingolipids. *J Biol Chem.* 2001;276(37):34480-5.
34. Caughey GE, Cleland LG, Penglis PS, Gamble JR, James MJ. Roles of cyclooxygenase (COX)-1 and COX-2 in prostanoid production by human endothelial cells: selective up-regulation of prostacyclin synthesis by COX-2. *J Immunol.* 2001;167(5):2831-8.
35. Linton MF, Fazio S. Cyclooxygenase-2 and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2002;13(5):497-504.
36. Norata GD, Callegari E, Inoue H, Catapano AL. HDL3 induces cyclooxygenase-2 expression and prostacyclin release in human endothelial cells via a p38 MAPK/CRE-dependent pathway: effects on COX-2/PGI-synthase coupling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(5):871-7.
37. Tall AR, Yvan-Charvet L, Terasaka N, Pagler T, Wang N. HDL, ABC transporters, and cholesterol efflux: implications for the treatment of atherosclerosis. *Cell Metabolism.* 2008;7(5):365-75.
38. Assmann G, Nofer JR. Atheroprotective effects of high-density lipoproteins. *Annu Rev Med.* 2003;54:321-41.
39. Durand E, Scoazec A, Lafont A, Boddaert J, Al Hajzen A, Addad F, et al. In vivo induction of endothelial apoptosis leads to vessel thrombosis and endothelial denudation: a clue to the understanding of the mechanisms of thrombotic plaque erosion. *Circulation.* 2004;109(21):2503-6.
40. Polgar J, Matuskova J, Wagner DD. The P-selectin, tissue factor, coagulation triad. *J Thromb Haemost.* 2005;3(8):1590-6.
41. Deguchi H, Yegneswaran S, Griffin JH. Sphingolipids as bioactive regulators of thrombin generation. *J Biol Chem.* 2004;279(13):12036-42.
42. Ridker PM, Brown NJ, Vaughan DE, Harrison DG, Mehta JL. Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events. *Circulation.* 2004;109(25 Suppl 1):IV6-19.
43. Norata GD, Banfi C, Pirillo A, Tremoli E, Hamsten A, Catapano AL, et al. Oxidised-HDL3 induces the expression of PAI-1 in human endothelial cells. Role of p38MAPK activation and mRNA stabilization. *Br J Haematol.* 2004;127(1):97-104.
44. Nicholls SJ, Lundman P, Harmer JA, Cutri B, Griffiths KA, Rye KA, et al. Consumption of saturated fat impairs the anti-inflammatory properties of high-density lipoproteins and endothelial function. *J Am Coll Cardiol.* 2006;48(4):715-20.
45. Kraus WE, Houmard JA, Duscha BD, Knetzger KJ, Wharton MB, McCartney JS, et al. Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *N Engl J Med.* 2002;347(19):1483-92.
46. Kodama S, Tanaka S, Saito K, Shu M, Sone Y, Onitake F, et al. Effect of aerobic exercise training on serum levels of high-density lipoprotein cholesterol: a meta-analysis. *Arch Intern Med.* 2007;167(10):999-1008.
47. Singh IM, Shishehbor MH, Ansell BJ. High-density lipoprotein as a therapeutic target: a systematic review. *JAMA.* 2007;298(7):786-98.
48. Dattilo AM, Kris-Etherton PM. Effects of weight reduction on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 1992;56(2):320-8.
49. Garrison RJ, Kannel WB, Feinleib M, Castelli WP, McNamara PM, Padgett SJ. Cigarette smoking and HDL cholesterol: the Framingham offspring study. *Atherosclerosis.* 1978;30(1):17-25.
50. Maeda K, Noguchi Y, Fukui T. The effects of cessation from cigarette smoking on the lipid and lipoprotein profiles: a meta-analysis. *Prev Med.* 2003;37(4):283-90.
51. Gaziano JM, Buring JE, Breslow JL, Goldhaber SZ, Rosner B, VanDenburgh M, et al. Moderate alcohol intake, increased levels of high-density lipoprotein and its subfractions, and decreased risk of myocardial infarction. *N Engl J Med.* 1993;329(25):1829-34.
52. Mukamal KJ, Conigrave KM, Mittleman MA, Camargo CA, Stampfer MJ, Willett WC, et al. Roles of drinking pattern and type of alcohol consumed in coronary heart disease in men. *N Engl J Med.* 2003;348(2):109-18.
53. Santos-Gallego CG, Ibanez B, Badimon JJ. HDL-cholesterol: is it really good? Differences between apoA-I and HDL. *Biochem Pharmacol.* 2008;76(4):443-52.
54. Badimón JJ, Santos-Gallego CG, Badimón L. Importancia del colesterol HDL en la aterotrombosis. ¿De dónde venimos? ¿Hacia dónde vamos? *Rev Esp Cardiol.* 2010;63(2):20-35.
55. Jones PH, Davidson MH, Stein EA, Bays HE, McKenney JM, Miller E, et al. Comparison of the efficacy and safety of rosuvastatin versus atorvastatin, simvastatin, and pravastatin across doses

- (STELLAR* Trial). *Am J Cardiol.* 2003;92(2):152-60.
- 56.Schaefer JR, Schweer H, Ikewaki K, Stracke H, Seyberth HJ, Kaffarnik H, *et al.* Metabolic basis of high density lipoproteins and apolipoprotein A-I increase by HMG-CoA reductase inhibition in healthy subjects and a patient with coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 1999;144(1):177-84.
- 57.Chapman MJ, Le Goff W, Guerin M, Kontush A. Cholesteryl ester transfer protein: at the heart of the action of lipid-modulating therapy with statins, fibrates, niacin, and cholesteryl ester transfer protein inhibitors. *Eur Heart J.* 2010;31(2):149-64.
- 58.Yki-Jarvinen H. Thiazolidinediones. *N Engl J Med.* 2004;351(11):1106-18.
- 59.Lincoff AM, Wolski K, Nicholls SJ, Nissen SE. Pioglitazone and risk of cardiovascular events in patients with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of randomized trials. *JAMA.* 2007;298(10):1180-8.
- 60.Willemen MJ, Mantel-Teeuwisse AK, Buggy Y, Layton D, Straus SM, Leufkens HG, *et al.* Reasons for and time to discontinuation of rimonabant therapy: a modified prescription-event monitoring study. *Drug Saf.* 2012;35(12):1147-58.
- 61.Zelcer N, Tontonoz P. Liver X receptors as integrators of metabolic and inflammatory signaling. *J Clin Invest.* 2006;116(3):607-14.
- 62.Nissen SE, Tsunoda T, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Cooper CJ, Yasin M, *et al.* Effect of recombinant ApoA-I Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2003;290(17):2292-300.
- 63.Tardif JC, Gregoire J, L'Allier PL, Ibrahim R, Lesperance J, Heinson TM, *et al.* Effects of reconstituted high-density lipoprotein infusions on coronary atherosclerosis: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2007;297(15):1675-82.
- 64.Shaw JA, Bobik A, Murphy A, Kanellakis P, Blombery P, Mukhamedova N, *et al.* Infusion of reconstituted high-density lipoprotein leads to acute changes in human atherosclerotic plaque. *Circ Res.* 2008;103(10):1084-91.
- 65.Hausenloy DJ, Yellon DM. Enhancing cardiovascular disease risk reduction: raising high-density lipoprotein levels. *Curr Opin Cardiol.* 2009;24(5):473-82.
- 66.Bloedon LT, Dunbar R, Duffy D, Pinell-Salles P, Norris R, DeGroot BJ, *et al.* Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of oral apoA-I mimetic peptide D-4F in high-risk cardiovascular patients. *J Lipid Res.* 2008;49(6):1344-52.