

El proceso inflamatorio como vínculo entre la aterosclerosis y el sistema inmunológico

The inflammatory process as a link between atherosclerosis and immune system

Mauricio Vargas-Valverde⁽¹⁾

⁽¹⁾Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios, CCSS

Artículo recibido el 15/07/2018

Aceptado para su publicación el 27/07/2018

Correspondencia: amvv01@gmail.com

Resumen

La aterosclerosis es la principal causa de enfermedad cardiovascular. La inflamación media el desarrollo y ruptura de la placa de ateroma. El reclutamiento de células inflamatorias como monocitos, linfocitos, neutrófilos, y mastocitos en la pared de los vasos sanguíneos ocurre debido al daño que el estrés hemodinámico genera en el endotelio vascular. En la región subendotelial hay partículas oxidadas de lipoproteínas de baja densidad que son fagocitadas por los macrófagos, estos acumulan colesterol y se convierten en células espumosas. Los distintos tipos de células presentes en la placa de ateroma generan citoquinas proinflamatorias que permiten la quimiotaxis de leucocitos. El debilitamiento y ruptura de la placa ocurre debido a defectos en los mecanismos de resolución de la inflamación. En consecuencia, el material aterotrombótico sale al lumen del vaso sanguíneo y puede ocasionar un infarto en el miocardio o un accidente cerebrovascular.

Palabras clave: Inflamación, aterosclerosis, monocito, macrófago, célula espumosa, inmunidad innata, inmunidad adaptativa.

Abstract

Atherosclerosis is the main cause of cardiovascular disease. Inflammation mediates the development and rupture of the atheromatous plaque. The recruitment of inflammatory cells such as monocytes, lymphocytes, neutrophils and mast cells in the wall of blood vessels occurs due to the damage that hemodynamic stress generates in the vascular endothelium. In the subendothelial region there are oxidized particles of low density lipoproteins that are phagocytosed by macrophages. These accumulate cholesterol and become foam cells. The different types of cells present in the atheromatous plaque generate proinflammatory cytokines that allow the chemotaxis of leukocytes. The weakening and rupture of plaque occurs due to defects in the mechanisms of resolution of inflammation. As a result, the atherothrombotic material exits the lumen of the blood vessel and can cause a myocardial infarction or stroke.

Key words: Inflammation, atherosclerosis, monocyte, macrophage, foam cell, innate immunity, adaptive immunity.

Introducción

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en el mundo entero, tanto en países desarrollados como en proceso de desarrollo. Prácticamente solo son superadas por las enfermedades infecciosas. La Organización Mundial de la Salud estima que cerca de 16.7 millones de muertes anuales se deben a la enfermedad cardiovascular aterosclerótica. La ruptura de la placa de ateroma es el evento primordial que genera enfermedades cardiovasculares como el infarto en el miocardio y los accidentes cerebrovasculares ⁽¹⁾. La causa más frecuente de enfermedad cardiovascular es la aterosclerosis, aunque su comprensión aún no es completa. Los datos sugieren que la inflamación juega un papel muy importante en el desarrollo de la placa aterosclerótica, su ruptura, así como en la aterotrombosis consecuente, siendo así que la inflamación es el vínculo entre la aterosclerosis y el sistema inmunológico ^(1, 2).

Durante muchos años se creyó que la aterosclerosis era simplemente la acumulación pasiva de colesterol en la pared de los vasos sanguíneos. Actualmente, se considera que el proceso de generación de placas ateroscleróticas es mucho más complejo, pues se ve a la aterosclerosis como una enfermedad inflamatoria crónica ⁽³⁾.

Desarrollo y ruptura de la placa de ateroma

La pared arterial está compuesta por tres capas. La interna se conoce como íntima, la externa se llama adventicia y entre las dos se encuentra la media. La capa íntima está formada por células endoteliales, una delgada membrana basal y algunas fibras de colágeno. La capa media contiene células musculares lisas y una red de fibras de elastina y colágeno. La capa adventicia comprende principalmente tejido conectivo ⁽⁴⁾.

Las áreas de alto estrés hemodinámico en los vasos sanguíneos tales como bifurcaciones y curvaturas, son los sitios más propensos al desarrollo de placas de ateroma. En esos puntos el endotelio vascular puede verse dañado y por consiguiente se disminuye la producción de agentes vasodilatadores como el óxido nítrico y se generan factores de adhesión celular tales como VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1), ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) y selectinas tipo P y E que promueven la extravasación de leucocitos ⁽⁵⁾. Estos son muy importantes para el desarrollo de la placa de ateroma.

El proceso de formación de una placa inicia con el atrapamiento de lípidos en la capa subendotelial de la pared arterial, principalmente lipoproteínas de baja densidad (LDL-C por sus siglas en inglés). ApoB100, un componente del LDL-C, se une a proteoglicanos de la matriz extracelular a través de interacciones iónicas ⁽³⁾. La oxidación del LDL-C ocurre

debido a la acción de enzimas como fosfolipasa A2, ciclooxigenasa y lipoxigenasa, así como por especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés), de manera que se producen especies biológicamente activas que pueden estimular a las células endoteliales para que produzcan citoquinas proinflamatorias y factores quimiotácticos que permiten reclutar diversos tipos celulares como mastocitos, células dendríticas, neutrófilos, células T y monocitos^(1, 6, 7). Estos últimos son atraídos debido a la liberación de quimiocinas como el MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) también conocido como CCL2 (ligando de quimiocinas 2) cuyo receptor en los monocitos es denominado como CCR2. Una vez que los monocitos llegan al interior de la pared de los vasos sanguíneos, se transforman en células espumosas, las cuales son macrófagos cargados de partículas de LDL-C oxidado (oxLDL-C). Estos forman parte de las llamadas estrías grasas, las cuales son características de la aterosclerosis temprana en donde la placa de ateroma es estable⁽⁶⁾.

En dichas estrías participan las células de músculo liso de la pared arterial, que en conjunto con fibras de colágeno forman una capa fibrosa. Con el tiempo se desarrolla una lesión compleja, con células apoptóticas y necróticas, desechos celulares y cristales de colesterol que forman un núcleo necrótico en la lesión. Esta estructura está cubierta por una capa fibrosa de grosor variable. En las regiones "hombro" de la placa aterosclerótica abundan linfocitos T, macrófagos y mastocitos, los cuales producen mediadores proinflamatorios y enzimas⁽³⁾. El crecimiento de la placa puede causar estenosis en el vaso sanguíneo afectado. Esto contribuye a que se genere isquemia en el tejido circundante. La ruptura de la placa genera un evento trombótico, ya que se produce la salida de material altamente trombogénico propio del núcleo de la placa de ateroma. Además, se desencadenan fenómenos como la agregación plaquetaria y la activación de la cascada de la coagulación. De esta manera se forma un trombo que puede obstruir al vaso sanguíneo en el lugar en donde se encuentra la placa de ateroma o bien, en un punto distante a ella⁽³⁾.

La ruptura de la placa en etapas avanzadas de la aterosclerosis ocurre por la acción de los diferentes tipos de células presentes en esta. De ellos, los macrófagos son los principales responsables de la disminución de la estabilidad de la capa fibrosa, debido a que producen enzimas proteolíticas o metaloproteinasas que rompen el colágeno que constituye la capa⁽⁵⁾.

Inmunidad innata en la aterosclerosis

En la placa aterosclerótica se encuentra una gran cantidad de células del sistema inmune. Entre ellas se pueden mencionar a los macrófagos, los cuales reconocen a las partículas de oxLDL-C por medio de receptores Scavenger. Estos son un tipo de receptores reconocedores de patrones (RRPs) que le permiten a estas células internalizar desechos celulares, microorganismos y otras partículas. Se ha determinado que los RRP más asociados a la internalización de oxLDL-C son SRA-1 y SRA-2, MARCO, CD36, SR-B1, LOX-1 y PSOX21. La acumulación de oxLDL-C en los macrófagos hace que estos se conviertan en células espumosas⁽³⁾.

Tanto en el endotelio de los vasos sanguíneos como en los macrófagos se expresan otro tipo de RRP conocidos como receptores tipo Toll (TLR del inglés Toll-like receptors). En

general, TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7 y TLR9 han sido asociados con la aterosclerosis aunque se desconoce su papel específico^(3, 8). Cuando un TLR se une a su ligando, se desencadena un proceso de transducción de señales que terminan con la activación de factores de transcripción nuclear y la expresión de proteínas determinadas. Comúnmente se asocia a los TLR la vía de transducción de señales dependiente de la proteína adaptadora MyD88 (proteína 88 de respuesta primaria y diferenciación mieloide). En esta vía se expresa el factor de transcripción nuclear NFκβ, el cual está relacionado con la producción de IL-1 e IL-18⁽²⁾, dos citoquinas proateroscleróticas. Se ha determinado en ratones que TLR2 y TLR4 tienen capacidad para reconocer componentes de oxLDL-C y por lo tanto pueden generar un efecto proaterosclerótico. En el caso del TLR2, al parecer la acción de factores sistémicos y locales sobre dicho RRP acelera el desarrollo de lesiones ateroscleróticas de forma TLR2 ligando dependiente. Los ligandos endógenos del TLR2 (ciertos componentes de células apoptóticas y/o necróticas, de la matriz extracelular y del oxLDL-C) son importantes en el inicio de la formación de la placa de ateroma, posiblemente a través de la activación directa del TLR2 de las células endoteliales en los sitios de flujo sanguíneo alterado. Los ligandos exógenos del TLR2 (partículas asociadas a microorganismos como Citomegalovirus, *Chlamydomphila pneumoniae* y otros) exacerbaban los procesos proateroscleróticos dentro de una lesión en desarrollo mediante la activación de macrófagos/monocitos y células espumosas⁽⁹⁾.

Las citoquinas proinflamatorias tienen un rol fundamental en la aterosclerosis. De ellas la más potente es la IL-1, la cual puede existir como IL-1α e IL-1β y es producida principalmente por monocitos, macrófagos y células epiteliales. Ambas, pero especialmente la IL-1β, tienen la capacidad de activar al receptor tipo 1 de IL-1 (IL-1R1) presente en diversos tipos de células como macrófagos y células vasculares. El efecto es la generación de más citoquinas proinflamatorias como IL-12, IL-6, factor de necrosis tumoral (TNF) y otros mediadores de la aterosclerosis como las metaloproteinasas⁽¹⁰⁾. La producción de la IL-1 se da mediante la activación del inflamasoma, en especial el conocido como NLRP3, el cual es una estructura molecular presente en el citoplasma de macrófagos, células de músculo liso, células endoteliales, linfocitos T y células dendríticas. Un inflamasoma es un complejo multiproteico de señalización que participa en la respuesta inflamatoria innata ante estímulos catalogados como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs del inglés Pathogen-Associated Molecular Patterns) o patrones moleculares asociados a daño (DAMPs del inglés Damage-Associated Molecular Patterns). En modelo murino, se ha estudiado como los cristales de colesterol internalizados por los macrófagos impulsan a NLRP3. De hecho, se considera que estos cristales son los mejores promotores de dicho inflamasoma. NLRP3 actúa sobre la caspasa 1, la cual escinde un fragmento de la Pro-IL-1β y la convierte en la forma activa IL-1β^(8, 10, 11).

La producción de IL-1 depende de dos señales. El reconocimiento de PAMPs o DAMPs por los TLR constituye una primera señal que promueve la activación de NFκβ. A su vez, este estimula la transcripción de los genes que codifican por NLRP3, así como la Pro-IL-1β. Una segunda señal, como los cristales de colesterol, es la que hace que se ensamble el inflamasoma y así se active la IL-1β⁽¹¹⁾.

Es conocida la actividad proinflamatoria de los leucotrienos. Numerosos estudios en humanos y animales han demostrado que estos son importantes en el desarrollo y progresión de la aterosclerosis. Al interactuar con sus receptores, los leucotrienos promueven la acumulación y funcionamiento de prácticamente todos los subgrupos de leucocitos en los sitios de inflamación. En células como neutrófilos, monocitos, macrófagos, células dendríticas y mastocitos la actividad de la enzima araquidonato 5-lipoxigenasa sobre el ácido araquidónico genera leucotrieno intermedio inestable A4 (LTA4). Este es metabolizado en leucotrieno B4 (LTB4), el cual es un potente quimioatrayente. También se generan leucotrieno C4 (LTC4) o cistenil-leucotrieno que aumenta la vascularización, la permeabilidad y contractilidad de las células de músculo liso presentes en la placa de ateroma. Los macrófagos presentes en la placa perpetúan la inflamación al generar más leucotrienos, ya que esto se traduce en la producción de citoquinas proinflamatorias y metaloproteinasas ⁽⁶⁾.

Inmunidad adaptativa en la aterosclerosis

Las células T son reclutadas al mismo tiempo que los macrófagos, pero en menor medida. De hecho, en una placa de ateroma la relación entre células T y macrófagos es 1:10. Las células T predominantes son de tipo CD4+ y se encargan de producir mediadores proaterogénicos, contribuyen al crecimiento de la lesión y por consiguiente al agravamiento de la enfermedad. Las células dendríticas migran de la sangre a los vasos sanguíneos, procesan antígenos tales como ApoB100 y luego pueden dirigirse a nódulos linfáticos. En esos sitios presentan los antígenos a las células T vírgenes. Después de la activación, estas células pasan a ser T efectoras y entran en el torrente sanguíneo. Cuando las células T efectoras son reclutadas en las placas ateroscleróticas, reconocen antígenos procesados que les son presentados por los macrófagos locales y las células dendríticas ⁽³⁾. La tolerancia al LDL-C es bien conocida. Los clones de células T reactivas a ApoB100 que escapan a la educación tímica probablemente se mantienen bajo control por los mecanismos de tolerancia periférica. Cuando el LDL se acumula en la pared del vaso, se somete a modificaciones oxidativas que provocan una respuesta inflamatoria, así como su captación por parte de las células presentadoras de antígeno y consiguiente presentación de antígenos de ApoB100. Esto conduce a la activación de células T reactivas contra ApoB100 que contribuyen al proceso aterogénico ⁽³⁾.

La respuesta Th1 tiene un papel importante en la patogénesis de la aterosclerosis. Las citoquinas representativas de esta respuesta son IL-2, IFN- γ , TNF- β , TNF- α , GM-CSF ^(2, 4). El IFN- γ se asocia con efectos como disminución de las fibras de colágeno de la capa fibrosa de la placa de ateroma, mayor expresión de antígenos en términos del complejo principal de histocompatibilidad tipo II, aumento de proteasas y quimiocinas, regulación positiva de moléculas de adhesión celular, inducción de citoquinas proinflamatorias y aumento de la activación de macrófagos y células endoteliales. Por otra parte, no es claro el papel de la respuesta Th2 en las placas de ateroma ^(3, 4). El perfil de citoquinas propio de la respuesta Th2 implica a IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 ⁽²⁾.

Fracaso de la resolución de la inflamación en la placa aterosclerótica

Es claro que la inflamación, desde el punto de vista inmunológico, explica en parte el proceso de formación de placas de ateroma. En general, un proceso inflamatorio debe resolver adecuadamente. El éxito de la resolución de la inflamación se conoce como catabasis. Para que ocurra es necesario que se inhiba el reclutamiento de celular, que se promueva la salida de las células inflamatorias de los sitios en donde estuvieron concentradas, así como que fagocitos profesionales eliminen a las células apoptóticas mediante un proceso conocido como eferocitosis. En una placa de ateroma inestable, la resolución del proceso inflamatorio ha sido ineficiente, o bien ha fallado del todo ⁽¹²⁾.

Una placa aterosclerótica vulnerable muestra las características de la resolución defectuosa de la inflamación. Las células inflamatorias, incluyendo células espumosas, se acumulan en la íntima debido a la afluencia persistente de células nuevas (como los monocitos) y hay una escasa salida de las células residentes. Además, los macrófagos apoptóticos sufren necrosis debido a que no son eliminados eficientemente mediante eferocitosis. Esto contribuye a la formación del núcleo necrótico que promueve el adelgazamiento de la capa fibrosa y por consiguiente la ruptura de la misma y salida de material trombogénico al lumen de los vasos sanguíneos ^(12, 13).

La falla de la eferocitosis en la placa de ateroma inestable se debe a distintas razones. Es necesario mencionar que las células fagocíticas se dirigen a los sitios de apoptosis siguiendo señales tipo “*find-me*”. La más común de estas señales es la quimiocina CX3CL1, aunque también se pueden mencionar a la lisofosfatidilcolina y a la esfingocina-1-fosfato ⁽¹⁴⁾. Una vez que los fagocitos arriban, el reconocimiento de las células apoptóticas ocurre debido a que estas expresan señales tipo “*eat-me*” como la calreticulina. En una placa inestable las células apoptóticas la expresan en muy poca cantidad. Además, el TNF- α promueve la expresión de CD47 en las células presentes en la placa. CD47 es considerado como una señal “*don't eat-me*” y suprime la eferocitosis. Otra causa de la eferocitosis defectuosa es el bloqueo de las señales “*eat-me*” por parte de fosfolípidos oxidados que se producen gracias a la acción de ROS de manera que se inhibe el reconocimiento de las células apoptóticas por parte de los fagocitos ⁽¹³⁾.

Se ha mencionado que las citoquinas de la respuesta tipo Th1 promueven el proceso inflamatorio en una placa de ateroma. El papel de las citoquinas de la respuesta Th2 no es claro. En la placa de ateroma se pueden encontrar al menos dos fenotipos de macrófagos. Se trata de los macrófagos clásicamente activados o M1, los cuales favorecen el proceso inflamatorio, ya que producen citoquinas proinflamatorias como INF- γ . El segundo grupo corresponde a macrófagos alternativamente activados o M2. Estos colaboran con la supresión de la inflamación, pues producen citoquinas como la IL-10 e IL-4 (características de la respuesta Th2) ^(7, 15). Además, fagocitan el *debris* celular y promueven el crecimiento de la capa fibrosa mediante la liberación de TGF β (factor β transformante del crecimiento). En la aterosclerosis temprana se encuentran macrófagos tipo M2, mientras que en una placa inestable predominan los macrófagos tipo M1. Esto sugiere un rol protector por parte de los macrófagos M2. Además de las citoquinas tipo Th2, la polarización hacia macrófagos tipo

M2 es posible debido a la acción mediadores lipídicos como esfingocina, lipoxina A4, resolovina D1 y la protectina D1^(12, 15). Dependiendo del microambiente en donde se encuentren los macrófagos, estos pueden ser M1 o M2. La plasticidad celular es una característica de estas células inflamatorias^(7, 15).

Un tercer tipo de macrófagos, denominado como Mox, ha sido asociado a la aterosclerosis. Estos son macrófagos que han sido expuestos a fosfolípidos oxidados. En ratones, cerca del 30% de los macrófagos presentes en las placas de ateroma inestables corresponden a este fenotipo. Se considera que la activación de Mox es dependiente de TLR2 y el efecto de ello es la producción de IL-1 β ⁽¹⁵⁾.

La aterosclerosis es una enfermedad que no es comprendida del todo. La inflamación, en la que participan componentes de la inmunidad innata y adaptativa, actúa en el desarrollo de la placa de ateroma y su desestabilización. Es importante recalcar que la mayoría de los estudios relacionados con inflamación y aterosclerosis se realizan en modelo murino y su validación clínica en seres humanos aún no se ha efectuado. Sin embargo, la comprensión de los mecanismos inmunológicos que median la inflamación es un campo de investigación fascinante y la información que se produce día a día contribuye al entendimiento de la participación del sistema inmunológico en enfermedades de diversa índole.

Referencias

1. Yang X, Li Y, Li Y, Ren X, Zhang X, Hu D, et al. Oxidative stress-mediated atherosclerosis: mechanisms and therapies. *Frontiers in Physiology* 2017; 8(600): 1-16.
2. Kindt T, Goldsby R, Osborne B. *Inmunología de Kubby*. 6ta ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2007.
3. Hansson G, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. *Nature Immunology*. 2011; 12(3): 204-212.
4. Fatkhullina A, Peshkova I, Koltsova E. The role of cytokines in the development of atherosclerosis. *Biochemistry*. 2016; 81(11): 1358-1370.
5. Boamponsem A. The role of inflammation in atherosclerosis. *Advances in Applied Science Research*. 2011; 2(4):194-207.
6. Charo I, Taub R. Anti-inflammatory therapeutics for the treatment of atherosclerosis. *Nature Reviews*. 2011; 10: 365-376.
7. Sanmarco L, Eberhardt N, Ponce N, Cano R, Bonacci G, Aoki M. New insights into the immunobiology of mononuclear phagocytic cells and their relevance to the pathogenesis of cardiovascular diseases. *Front. Immunol*. 2018; 8(1921): 1-20.
8. Baldrighi M, Mallat Z, Li X. NLRP3 inflammasome pathways in atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2017; 267: 127-138.
9. Mullick A, Tobias P, Curtiss L. Toll-like receptors and atherosclerosis. Key contributors in disease and health? *Immunologic Research*. 2006; 34(3): 193-209.
10. Rader D. IL-1 and atherosclerosis: a murine twist to an evolving human story. *The Journal of Clinical Investigation*. 2012; 122(1): 27-30.

11. Karasawa T, Takahashi M. Role of NLRP3 Inflammasomes in atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.* 2017; 24: 443-451.
12. Tabas I. Macrophage death and defective inflammation resolution in atherosclerosis. *Nature Reviews Immunology.* 2010; 10: 36-46.
13. Yurdagul A, Doran A, Cal B, Fredman G, Tabas I. Mechanisms and consequences of defective efferocytosis in atherosclerosis. *Front. Cardiovasc. Med.* 2018; 4(86): 1-10.
14. Elliott M, Koster K, Murphy P. Efferocytosis signaling in the regulation of macrophage inflammatory responses. *J Immunol.* 2017; 198(4): 1387-1394.
15. Parisi L, Gini E, Baci D, Tremolati M, Fanuli M, Bassani B, et al. Macrophage polarization in chronic inflammatory diseases: killers or builders? *Journal of Immunology Research.* 2018: 1-25.