

# Patogénese da aterosclerose – 1ª parte

## The pathogenesis of atherosclerosis - Part 1

José Manuel Silva\*, Nuno Devesa\*\*, Elsa Gaspar\*\*

### Resumo

Os autores abordam sumariamente a cronologia da doença aterosclerótica para depois reverem, tentando integrá-las na evolução da placa de ateroma, as várias teorias da aterogénese. Nesta primeira parte são referenciadas as teorias da resposta à retenção, lipídica, monoclonal, da encrustação, da resposta à lesão e oxidativa.

Palavras chave: aterosclerose, patogénese, cronologia, teorias

### Abstract

The authors briefly describe the chronologic process of atherosclerosis and review, trying to integrate the known theories of atherogenesis, the usual evolution of the atherosclerotic plaque. In the first part of this work only six theories are reviewed, namely the response-to-retention hypothesis, the lipid hypothesis, the monoclonal theory, the encrustation or haemostasis theory, the response-to-lesion or Ross theory and the oxidative hypothesis.

Key words: atherosclerosis, pathogenesis, chronology, theories

### Nota inicial

A doença aterosclerótica é a principal causa de morte nos países desenvolvidos e assume cada vez mais protagonismo nos países em vias de desenvolvimento e mesmo nos menos desenvolvidos. Inclusivamente, aquilo que era impensável há pouco tempo é já uma realidade preocupante, com muitos doentes seropositivos para o vírus da imunodeficiência humana a sofrerem de aterosclerose clínica precoce, estimando-se em cerca de 50% a prevalência de hiperlipidemia nos doentes tratados com inibidores das proteases.

Este panorama parece-nos justificar uma revisão sobre a patogénese da aterosclerose, na medida em que a sua com-

preensão permite entender muitos dos fenómenos que lhe são próprios, das manifestações paralelas da doença e das novas avenidas que se abrem para a sua prevenção e terapêutica.

Procurámos conseguir uma simbiose entre a extensão e a síntese, mas estamos conscientes da extensão e das lacunas da presente revisão.

### Introdução

As palavras aterosclerose e ateroma, que descrevem com perfeição a natureza anatomopatológica das lesões ateroscleróticas típicas, provêm da junção dos vocábulos gregos, *athere*, *oma* e *skleros*, que significam, respectivamente, gordura, massa e duro.

Os estudos imunoquímicos mais recentes confirmam o clássico conceito de Virchow de que a doença aterosclerótica tem características de uma doença inflamatória crónica<sup>1</sup>, fruto de uma excessiva resposta inflamatória e fibroproliferativa da parede vascular a uma grande série de possíveis factores hostis, um processo que, na sua base, tem objectivos protectores e regenerativos<sup>2</sup>.

Normalmente, em resposta à agressão, o influxo de células inflamatórias, a activação da coagulação e a proliferação e migração endoteliais agem em conjunto para restaurar uma camada endotelial confluyente, mas um dano mais subtil e prolongado ou demasiado extenso, induzido por agentes químicos, imunológicos, físicos ou virusais, pode originar não só uma lesão mecânica e/ou funcional do endotélio, mas também atingir os mecanismos de regeneração endotelial, resultando numa perda das suas funções homeostáticas e numa contínua activação dos sistemas inflamatório e trombótico<sup>3,4</sup>. Foi demonstrado que a elevação da proteína C reactiva prediz uma evolução cardiovascular desfavorável, tanto em homens saudáveis<sup>5</sup> como em doentes com angina instável<sup>6,7</sup> e enfarte do miocárdio<sup>8,9</sup>, independentemente dos outros factores de risco, podendo reflectir um importante componente inflamatório na patogénese desta condição.

É a continuidade ou intensidade da agressão vascular, ou um excesso na resposta, que perpetuam a reacção em cascata que termina nas diversas manifestações clínicas de etiologia aterosclerótica, fundamentalmente a doença coronária isquémica, os aneurismas aórticos, a doença arterial periférica e a doença cerebrovascular aterotrombótica.

### Cronologia

Consideradas como as primeiras lesões, por excelência, da doença aterosclerótica, as *estrias lipídicas* estão presentes na aorta de todas as crianças por volta dos dez anos de idade, independentemente da raça, sexo ou ambiente, disseminando-se progressivamente; por volta dos 25 anos ocupam aproximadamente 20 a 50% da superfície interna da aorta<sup>10,11,12</sup>. Observam-se nas artérias coronárias, sobretudo nos segmentos proximais, durante a segun-

\*Assistente Hospitalar de Medicina Interna.

\*\*Interno do Internato Complementar de Medicina Interna Serviço de Medicina II dos Hospitais da Universidade de Coimbra Recebido para publicação a 22.07.99

da década de vida<sup>2,13</sup>, enquanto nas artérias cerebrais o fazem durante a terceira e quarta décadas, com particular exuberância nas populações com maior incidência de doença cerebrovascular<sup>10</sup>. Neste intervalo de tempo, que dura até por volta dos 30 anos de idade, as lesões ateroscleróticas são quase exclusivamente constituídas por estrias lipídicas, mais facilmente reversíveis antes do desenvolvimento dos componentes fibrogénico e proliferativo<sup>11</sup>.

Lesão mais característica da aterosclerose avançada, a *placa fibrosa* segue um horário paralelo ao da sua predecessora, com um desfaseamento médio de 15 anos<sup>11</sup>, aparecendo na aorta abdominal antes da torácica<sup>14</sup>, posteriormente nas coronárias e só muito mais tarde, com um atraso de cerca de 20 anos<sup>1</sup>, nas artérias vertebrais e cerebrais<sup>10,12</sup>. Por volta dos 40 anos, cerca de 20% da superfície envolvida pelas estrias lipídicas foi ocupada por placas fibrosas<sup>11</sup>.

Não há provas de que as estrias lipídicas sejam as precursoras das placas fibrosas ou fibroproliferativas<sup>1</sup>, se bem que pareça que as segundas, pelo menos algumas, evoluíram a partir das primeiras, desde que se reúnem as condições para tal agravamento<sup>17,18,19</sup>.

As *lesões complicadas* são raras antes dos 40 anos de idade<sup>11</sup>.

Apesar destas diferenças cronológicas, as lesões macroscópicas e microscópicas em todos os segmentos arteriais não mostram diferenças qualitativas entre as várias populações, sexos e grupos raciais<sup>20</sup>, diferindo apenas na extensão das mesmas<sup>21</sup>. Por exemplo, verifica-se um excesso de lesões aórticas em jovens negros relativamente aos jovens brancos, diferença não totalmente explicada pela prevalência dos vários factores de risco, invertendo-se este quadro com o avançar da idade<sup>13,22</sup>.

## Etiopatogenia

O nosso conhecimento da patogénese da aterosclerose provém, fundamentalmente, de estudos em porcos, pombos, coelhos, primatas não humanos e de autópsias de seres humanos de todas as idades<sup>13,14</sup>. As diferenças entre as várias espécies e as enormes concentrações de colesterol usadas na aterogénese experimental podem levar a algumas dificuldades na interpretação e extrapolação para o homem dos dados obtidos, ao fim e ao cabo o objectivo final de todas as investigações. Um homem normal necessitaria de 110 ovos por dia para consumir a quantidade equivalente de colesterol usada na alimentação aterogénica de macacos *rhesus*<sup>23</sup>.

Embora clinicamente classificada como uma doença sistémica, a doença aterosclerótica não ocorre aleatoriamente na árvore vascular mas sim nas chamadas “áreas de predilecção”, estrutural e funcionalmente diferentes da restante superfície endotelial<sup>24</sup>, que corresponderiam às “*gotas gelatinosas*” descritas por Virchow<sup>25</sup>. Caracterizam-se por uma túnica íntima consideravelmente espessada, consistindo numa substância fundamental edemaciada e

metacromática na qual se encontram algumas células mesenquimatosas e musculares lisas indiferenciadas e algumas fibras elásticas e de colagénio<sup>14,26</sup>, por um aumento da permeabilidade do endotélio para proteínas plasmáticas, como a albumina, fibrinogénio e LDL, por um *glycocalyx* mais fino e por um maior *turnover* endotelial<sup>24</sup>.

Nos porcos e coelhos alimentados com uma dieta rica em colesterol, as primeiras alterações ultraestruturais são observadas nas referidas “áreas de predilecção”, onde se acumulam grandes quantidades de lípidos, nomeadamente fosfolípidos e colesterol não esterificado<sup>27</sup>, e lipoproteínas<sup>14,28</sup>.

Aquilo que se verifica é que, nestas localizações anatómicas, o influxo de LDL é superior ao efluxo<sup>29</sup>. As lipoproteínas atravessam o endotélio por transcitose<sup>27</sup>, um processo fisiológico de passagem das LDL para a íntima, que não resulta de perda de continuidade do endotélio<sup>30</sup> nem depende de quaisquer receptores, a uma taxa directamente correlacionada com as concentrações lipídicas no plasma<sup>31,32</sup>. A maior permeabilidade intercelular à volta das células endoteliais mitóticas ou moribundas e as *open junctions* que se encontram nas zonas de ramificação arterial serão, provavelmente, vias predominantes para a passagem das LDL e outras macromoléculas<sup>33,34</sup>. A verdadeira barreira da parede vascular parece ser não o endotélio mas a lâmina elástica interna, localizada na transição íntima/média, a qual actuará como um crivo, de tal modo que as lipoproteínas e outras macromoléculas, como os factores da coagulação, seriam aprisionados na íntima na proporção directa das suas concentrações plasmáticas<sup>16,30</sup>. Deste modo, todos os factores de risco que aumentem a permeabilidade do endotélio resultarão num desenvolvimento acelerado da aterosclerose<sup>35</sup>.

A retenção na íntima poderá estar associada a importantes alterações induzidas localmente pela hipercolesterolemia na composição bioquímica dos elementos da matriz, nomeadamente um aumento na concentração de sulfato de condroitina e sulfato de dermatano e uma escassez de sulfato de heparano, em relação à parede arterial normal<sup>29,36</sup>, conjecturando-se que as interacções preferenciais dos glicosaminoglicanos, elastina e colagénio com as LDL contribuam para a deposição precoce e retenção das lipoproteínas na matriz subendotelial<sup>29</sup>. Nesta fase não se verificam quaisquer alterações morfológicas do endotélio<sup>27</sup> que constituem, habitualmente, um fenómeno tardio<sup>37</sup>.

A ausência de lesão endotelial, aparente nas fases mais precoces da aterogénese, levou ao desenvolvimento da *teoria da resposta à retenção*<sup>38</sup>. Em contraposição à teoria da resposta à lesão, esta nova teoria defende que o aumento da permeabilidade do endotélio não é um aspecto essencial, pois alguns modelos experimentais a permeabilidade endotelial em zonas susceptíveis à aterosclerose até está diminuída, e que a condição necessária e suficiente para o desencadeamento da cascata aterogénica é a re-

tenção de lipoproteínas na parede arterial. Dados mais recentes reforçam esta teoria, ao demonstrarem, em ratos transgênicos alimentados com dieta hipercolesterolemian-te, que a apoB100 humana não mutada causa aterosclerose, enquanto uma apoB100 mutada para o *binding site* aos proteoglicanos, mas não ao receptor das LDL, é incapaz de levar ao desenvolvimento de lesões ateroscleróticas<sup>39</sup>.

A interacção com os proteoglicanos, nomeadamente o sulfato de dermatano e o sulfato de condroitino, induz modificações estruturais, hidrolíticas e oxidativas nas LDL que poderão inibir o mecanismo de retrocontrolo dos glicosaminoglicanos sobre a proliferação das células musculares lisas<sup>40</sup> e estimular a formação de células espumosas<sup>36,41</sup>. Variações na afinidade das subfracções do sulfato de condroitino para as LDL poderão modular a acumulação lipídica na aterogénese<sup>42</sup>. A afinidade dos glicosaminoglicanos provenientes de várias artérias para as LDL não é a mesma, sendo maior nas artérias mais propensas para a aterosclerose, como a aorta, e menor nas mais resistentes, como as pulmonares<sup>43</sup>. As LDL modificadas podem autopolimerizar-se ou reagir com proteoglicanos mastocitários, formando agregados que podem conter 5000 a 10000 partículas LDL<sup>44</sup>. As gotículas de lípidos que se formam encontram-se enredadas entre os finos filamentos da matriz e têm tendência a coalescer, originando partículas de maior diâmetro<sup>14</sup>.

Estes eventos bioquímicos antecederiam a invasão monocitária das "áreas de predilecção"<sup>14,27,29,45</sup>, se bem que outros autores considerem a presença de monócitos na íntima como o acontecimento mais precoce da aterosclerose experimental<sup>46,47</sup>. De qualquer modo, os monócitos/macrófagos encontram-se presentes na lesão ateromatosa desde os primórdios da sua formação, desempenhando um papel central no processo inflamatório do microambiente da placa de ateroma<sup>2</sup>, papel esse que lhe é conferido pela sua vastíssima capacidade de intervenção. Entre outras funções, estas células podem expressar receptores *scavenger* para lipoproteínas modificadas e gerar radicais livres e toda uma série de substâncias, incluindo múltiplas citocinas, como diversos factores de crescimento e as interleucinas 1 e 6, tromboxanos, leucotrienos e prostaglandinas, apoE,  $\alpha$ 2-macroglobulina, componentes do complemento, factores da coagulação e fibrinólise e hidrolases como a colagenase e a elastase (que podem digerir a matriz extracelular e fragilizar a lesão)<sup>48</sup>. Alterações morfológicas e redução da quantidade de elastina, que começa a diminuir depois dos 20 anos de idade mas é afectada pela libertação local excessiva de elastase<sup>49</sup>, são características comuns da parede arterial envolvida na aterogénese, quer em humanos, quer em animais de experimentação<sup>50,51</sup>; os níveis deste enzima estão elevados no sangue periférico durante várias manifestações de cardiomiopatia isquémica<sup>52</sup>. Devido à longa semi-vida (40-70 anos), a perda de elastina em adultos é certamente uma manifestação de ex-

cessiva elastólise local, mais do que de uma diminuição de síntese<sup>53</sup>.

A precoce adesão e penetração de monócitos e linfócitos T no endotélio e espaço subendotelial<sup>54,55</sup> seria mediada pela libertação ou activação local de factores quimiotáticos e proliferativos e moléculas de adesão, que habitualmente não são expressados na artéria normal ou são no a níveis muito baixos, mas estão presentes nas lesões ateroscleróticas<sup>2,55,56,57</sup>. Entre as primeiras incluem-se o TGF- $\beta$  (*transforming growth factor- $\beta$* ), o TNF (*tumor necrosis factor*), o M-CSF (*macrophage colony stimulating factor*), o PDGF (*platelet derived growth factor*), o MCP-1 (*monocyte chemotactic protein*), o factor activador do plasminogénio, a interleucina 1, a interleucina 6, etc., secretadas pelos macrófagos e linfócitos, mas que se sabe também serem produzidos no endotélio e células musculares lisas, criando um efeito de *feedback* positivo que potencia o crescimento da lesão ateromatosa<sup>54,58,59</sup>. Foram identificadas diversas moléculas de adesão na superfície endotelial, como as ICAM 1 e 2 (*intercellular adhesion molecules*), a VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*), a ELAM (*endothelial leukocyte adhesion molecule*) e a GMP 140 (*granular membrane protein 140*), que interagem com receptores nos leucócitos e que podem ser induzidas ou aumentadas pela exposição a mediadores da inflamação e a algumas citocinas<sup>59,60</sup>, sobretudo nas células endoteliais adjacentes a *clusters* de linfócitos T e macrófagos activados presentes nas placas de ateroma<sup>57</sup>. No coelho alimentado com uma dieta aterogénica, a VCAM-1, que é específica para monócitos e linfócitos<sup>60,61</sup>, é expressada pelo endotélio antes dos macrófagos aparecerem no subendotélio<sup>62,63</sup>. Numa extensão variável, a ELAM-1, a ICAM-1 e a VCAM-1, sobretudo as duas primeiras, detectam-se num grande espectro de lesões ateroscleróticas humanas<sup>64</sup>. Doentes com dislipidemia severa têm níveis plasmáticos de moléculas de adesão (ICAM-1, VCAM-1 e E-selectin) muito superiores aos controlos<sup>65</sup> e a expressão do mRNA da VCAM-1 é mais acentuada na aorta de doentes com alterações aórticas ateroscleróticas; as concentrações plasmáticas da VCAM-1, mais elevadas em doentes com aterosclerose da aorta torácica ou abdominal comparativamente com voluntários saudáveis, poderão dar uma ideia do estado de activação ou danificação endotelial *in vivo*<sup>66</sup>. A expressão destes marcadores de activação na microcirculação estimula a adesão leucocitária e aumenta a permeabilidade para macromoléculas e a actividade pró-coagulante, características que também ocorrem na aterosclerose experimental<sup>57</sup>.

As células musculares lisas, outro dos elementos figurados nucleares na patogénese da aterosclerose, encontram-se, em algumas áreas da lesão, numa "fase sintética", ricas em retículo citoplasmático rugoso<sup>14</sup>, contribuindo para a formação de uma matriz de tecido conjuntivo constituída por fibras elásticas, colagénio e proteoglicanos, ao con-

trário das localizadas na túnica média, onde são o único constituinte celular<sup>46</sup>, que apresentam um fenótipo contráctil<sup>2</sup>. O número de células musculares lisas em proliferação é relativamente pequeno<sup>67</sup>.

A contínua retenção local de lípidos e lipoproteínas e a sua convivência com os elementos celulares presentes ou atraídos para a íntima levam à formação de células espumosas, ou *foam cells*, a mais particular característica histológica de uma lesão ateromatosa. Estas células, originárias fundamentalmente de macrófagos, mas também de células musculares lisas, acumulam grandes quantidades de ésteres de colesterol no seu interior, com prejuízo das suas vias metabólicas e funções vitais. À medida que as células espumosas se vão acumulando, o endotélio vai sendo estirado e adelgado<sup>14</sup>. Está formada a *estria lipídica*, o substrato patológico que está na base da teoria lipídica, desenvolvida a partir dos trabalhos de Virchow<sup>25</sup> e Anitskchow e Chalатов<sup>68</sup>.

A convivência, no espaço confinado da lesão ateromatosa, de células endoteliais, monócitos, células musculares lisas e outras, como os mastócitos, favorece as interacções celulares, resultando num aumento local de citoquinas, factores de crescimento e proteínas da matriz, como a fibronectina e o colagénio<sup>59</sup>. Estabelece-se uma verdadeira rede de interacções celulares<sup>2</sup>, aqui apresentadas apenas de uma forma extremamente sintética, em que a libertação de uma molécula, uma citoquina ou factor de crescimento, que funciona como uma hormona local<sup>55</sup>, pode levar à expressão de uma outra, na célula alvo, que pode, por sua vez, estimular as células adjacentes, de uma forma parácrina, ou a si mesma, de uma forma autócrina. A complexidade das acções pró e anti-aterogénicas das citoquinas indica que o padrão de expressão destes mediadores no tempo e no espaço pode influenciar criticamente múltiplos aspectos da iniciação, progressão e complicação das placas ateroscleróticas<sup>69</sup>. Mas também pode ser a disrupção dos mecanismos normais de comunicação intercelular a responsável por fenómenos de hiperplasia e alterações da permeabilidade e da coagulação focais, com desenvolvimento de um processo patológico aterosclerótico<sup>70</sup>.

O entretenimento destes processos leva à fragilização, ruptura e replicação do endotélio. As células musculares lisas, que provêm quer da proliferação das que já existiam na íntima quer da migração a partir da média, escapando da sua conexão e dependência do sistema nervoso vascular<sup>71</sup>, multiplicam-se e formam, com o tecido conjuntivo que sintetizam de novo, uma capa fibrosa sob o endotélio<sup>2,14</sup>. Esta capa fibrosa é dinâmica, com a síntese a ser equilibrada pela degradação, pelo que uma eventual diminuição da quantidade de células musculares lisas levará inevitavelmente a uma diminuição da síntese das proteínas da matriz e a uma fragilização das placas ricas em conteúdo lipídico<sup>72</sup>. Na evolução das estrias lipídicas para as lesões mais avançadas assiste-se a um aumento relativo das células

musculares lisas, se bem que os macrófagos e os linfócitos T, quer *helper* quer supressores/citotóxicos, se encontrem sempre em número significativo<sup>73</sup>. A multiplicação das células musculares lisas poderá revestir-se de um certo grau de monoclonalidade, o que constituiu a base da *teoria monoclonal* de Benditt e Benditt<sup>74</sup>. Sendo inequívoca a contribuição das células musculares lisas para o desenvolvimento da doença aterosclerótica, a verdade é que a inibição da sua proliferação poderá contribuir para a fragilidade das lesões devido a um aumento relativo do conteúdo lipídico sobre o conteúdo fibroproliferativo<sup>75</sup>.

Provavelmente na tentativa de remover para o pulmão, fígado, baço e gânglios linfáticos o excesso de lípidos acumulados nas lesões<sup>2</sup>, alguns dos macrófagos espumosos atravessam novamente o endotélio, agora em direcção ao lúmen, estimulando a adesão plaquetar nessas zonas<sup>14</sup>. A transformação dos macrófagos em células espumosas reduz amplamente a sua capacidade migratória, afectando este mecanismo de transporte reverso de colesterol<sup>76</sup>. Mesmo depois da capa fibrosa estar formada, os monócitos continuam a penetrar na íntima, fazendo-o predominantemente nos bordos da lesão onde essa capa não existe ou é mais fina. Deste modo, a *placa de ateroma*, agora em plena evolução, expande-se perifericamente<sup>14</sup>. As células espumosas, aprisionadas no centro da lesão, vão morrendo progressivamente, desenvolvendo-se um grande núcleo necrótico que acaba por envolver parte da camada média<sup>14</sup>. Neste estágio encontram-se depósitos de cálcio em algumas lesões<sup>14</sup>. Menos de metade das placas de ateroma contêm um núcleo lipídico, que pode representar até 45% da sua constituição, fundamentalmente colesterol<sup>77</sup>, sendo a maioria constituída apenas por tecido fibroso duro<sup>32</sup>, apelidadas de *placas fibrosas*.

Até aqui a doença aterosclerótica pode considerar-se um processo relativamente benigno, que poderá dar origem a estenoses significativas e angina crónica, é certo, mas que raramente é mortal, a menos que se sobreponha um processo trombótico<sup>78</sup>. Efectivamente, a estrutura das *placas complicadas* sugere que possam ocorrer múltiplos episódios trombóticos por fissuração das placas, com a possibilidade de incorporação sucessiva dos diversos trombos formados<sup>14,78,79,80</sup>, um processo dinâmico e repetitivo que joga um papel fundamental no crescimento das placas e no desencadear das síndromes coronárias agudas<sup>79,81</sup>, sendo o responsável pela maioria dos acidentes cardiovasculares<sup>78,82,83</sup>. Estes processos estão em consonância parcial com a *teoria da encrustação* de Rokitsky<sup>84</sup> que defendia o primado da deposição de fibrina sobre a acumulação lipídica.

Davies et al<sup>85</sup> acharam fissuras nas placas ateroscleróticas de 17% dos doentes por si estudados, falecidos de causa não cardíaca; várias destas fissuras apresentavam trombos sobrejacentes. Nas coronárias foram encontrados microtrombos murais com uma frequência crescente

desde os 11-15 até aos 40 anos (o grupo mais velho estudado)<sup>86</sup>. Estes e outros dados parecem confirmar que as fissurações e a cicatrização subsequente poderão contribuir para a evolução de lesões iniciais para lesões avançadas. Actualmente é consensual que por detrás de mais de 3/4 dos acidentes coronários fatais está a fissuração/ruptura de uma placa ateromatosa com sobreposição de um trombo<sup>78,87</sup>.

Durante os estádios mais avançados da aterogénese, à medida que as lesões se vão espessando, as placas tornam-se vascularizadas, contendo um grande número de canais tipo capilar e venular, provavelmente devido à hipoxia local e à libertação de substâncias tipo bFGF (*basic fibroblast growth factor*) ou outras moléculas angiogénicas<sup>2,88</sup>. Estes canais parecem desenvolver-se como extensões dos *vasa vasorum*<sup>89</sup>, constituindo esta neovascularização uma condição aparentemente necessária para o desenvolvimento da placa<sup>90</sup>, e poderão desempenhar um papel crítico nas fases terminais da aterosclerose, fragilizando a placa e/ou desencadeando hemorragias intraluminais mais ou menos graves<sup>87</sup>.

A manutenção do(s) factor(es) de risco responsáveis pela evolução da doença aterosclerótica leva a um contínuo agravamento dos processos anteriormente descritos. A activação endotelial pela placa em desenvolvimento ou a lesão do próprio endotélio com exposição da matriz subendotelial e células espumosas eternizam a adesão e activação plaquetar com estimulação do sistema da coagulação<sup>2,59,91</sup>. É natural, portanto, que perturbações do equilíbrio hemostático prestem igualmente um importante contributo para a patogénese da aterosclerose.

O endotélio normal cumpre um papel fundamental na actividade coagulante e fibrinolítica<sup>3</sup>, sintetizando t-PA, PAI-1, antitrombina III e factor de von Willebrand<sup>92</sup> (essencial para a adesão plaquetar, estabelecendo pontes entre a glicoproteína Ib das plaquetas e o colagénio da parede vascular). O sulfato de heparano<sup>36</sup> e a produção de óxido nítrico e prostaglandina 2 criam um clima antitrombótico na superfície endotelial e a produção de urokinase e do activador do plasminogénio estimulam a fibrinólise<sup>2</sup>. O endotélio pode, ainda, sintetizar e captar outros factores que previnem a coagulação<sup>2,3</sup>.

A desendotelização física ou funcional leva a uma perda dos mecanismos de protecção, com início de uma reacção trombogénica, e a um grande aumento da deposição local de fibrinogénio<sup>93</sup>, com adesão e activação plaquetar e activação do factor XII e do factor VII<sup>92</sup>. Nas placas de ateroma há uma sobre-expressão de factor tecidual, proteína activadora da via extrínseca e intrínseca da coagulação, que se encontra normalmente longe da corrente sanguínea, a nível da adventícia<sup>89</sup>, e de PAI-1, um inibidor do sistema fibrinolítico, altos níveis do qual têm sido associados a várias complicações trombóticas<sup>94,95</sup>, com um largo excesso local de PAI-1 sobre o activador do plasminogé-

nio<sup>96</sup>. O factor tecidual parece ser especificamente sintetizado pelos macrófagos espumosos ou macrófagos ou células do mesênquima adjacentes a depósitos de colesterol e não por macrófagos fagocitando activamente hemossiderina, fibrina ou restos celulares<sup>89</sup>. A activação das células endoteliais por citoquinas como a interleucina-1 e o TNF leva à formação de um complexo protrombinase na superfície endotelial com subsequente deposição de fibrina<sup>3</sup>. Os produtos de degradação da fibrina, que assim se vão acumulando, são quimiotácticos para as células musculares lisas e podem contribuir para estimular uma resposta cicatrizante na parede arterial<sup>89,97</sup>. Por sua vez, a trombina, proveniente da activação da protrombina e da lise dos trombos que se formam secundariamente à disrupção do endotélio ou às hemorragias intraluminais, além de responsável pela hidrólise do fibrinogénio em fibrina e pela activação do factor XIII, é quimiotáctica para monócitos/macrófagos e linfócitos T<sup>98,99</sup>, é mitogénica para as células musculares lisas e fibroblastos<sup>89</sup> e estimula a agregação e activação plaquetar<sup>79</sup>, a produção de interleucina-1 pelos macrófagos<sup>100</sup>, e a síntese de PDGF e de bFGF pelas células musculares lisas e endoteliais<sup>101,102,103</sup>; esta última, por sua vez, estimula o enzima conversor da angiotensina, com produção local de angiotensina II<sup>104</sup>. A actividade da trombina detecta-se em todas as fases de desenvolvimento de uma lesão experimental, aumentando a deposição local de fibrina com intuítos reparativos e de facilitação da reendotelização<sup>93</sup>, mas cujo excesso contribui para a formação de placas de ateroma. Os vasos sanguíneos normais não contêm mRNA para o receptor da trombina, que surge passadas poucas horas de trauma mecânico experimental e é estimulado pelo FGF e pelo PDGF<sup>89</sup>. A administração de hirudina, um potente inibidor da trombina, bloqueia a primeira onda de proliferação de células musculares lisas após angioplastia experimental<sup>89</sup>.

A deposição e activação de plaquetas em áreas desendotelizadas, física ou funcionalmente, acompanha-se da libertação de factores de crescimento (fundamentalmente o PDGF, contribuindo para a estimulação e proliferação dos fibroblastos e células musculares lisas e para a migração destas últimas), de tromboxano A2 (factor pró-agregante e vasoconstritor), de tromboglobulina (que diminui a secreção de prostaciclina endotelial e concorre para o estado pró-trombótico) e de GMP-140 (que medeia a ligação de neutrófilos e monócitos às plaquetas activadas)<sup>47,59</sup>. A importância das plaquetas é confirmada por estudos em porcos com deficiência homozigótica do factor de Von Willebrand, que são resistentes à aterosclerose espontânea e trombose, por estudos em coelhos trombocitopénicos, menos susceptíveis à aterosclerose experimental<sup>79</sup>, pela acção protectora da terapêutica antiplaquetar<sup>105</sup> e por alguns estudos clínicos que evidenciam uma associação independente entre a concentração e agregabilidade plaquetares e a morbidade e mortalidade cardiovascula-

res<sup>106,107,108,109</sup>, se bem que, para já, essa mesma associação não tenha sido detectada para a extensão da DCI avaliada por coronariografia<sup>107</sup>. Saliente-se que as LDL estimulam a agregação plaquetar<sup>110</sup>.

A grande questão que se coloca, e para a qual se procura activamente uma resposta cabal, é a de saber exactamente qual a alteração inicial responsável pelo desencadeamento da espiral da aterogénese. A hipótese de que uma lesão inicial do endotélio seja o facto crucial que desencadeia todo o processo foi colocada formalmente pela primeira vez em 1976 e revista em 1986, ficando conhecida como a teoria da resposta à lesão ou teoria de Ross<sup>47,111</sup>, numa integração e actualização das teses anteriores. Efectivamente, a disfunção endotelial secundária a uma lesão, principalmente nos locais de ramificação arterial, dispara a retenção de lipoproteínas na parede arterial, a expressão de glicoproteínas de adesão pelas células endoteliais, a libertação de citoquinas e a migração de monócitos, linfócitos T e células musculares lisas<sup>2</sup>, um processo em tudo semelhante ao acima descrito. O ponto fulcral desta hipótese é a proposta de que os diferentes factores de risco de algum modo levam a disfunção endotelial, sem necessariamente haver alteração da sua morfologia<sup>2</sup>. Efectivamente, o desnudamento endotelial experimental leva imediatamente a adesão plaquetar, mas a área é rapidamente re-endotelizada sem espessamento da íntima ou proliferação das células musculares lisas<sup>112</sup>, um processo prejudicado pela hipercolesterolemia<sup>113</sup>. Nos modelos animais de aterosclerose experimental, o endotélio permanece aparentemente intacto até às fases mais tardias da formação da lesão<sup>114</sup>, o mesmo acontecendo nas coronárias humanas<sup>37</sup>, pelo que é necessário mais do que uma simples lesão mecânica do endotélio para produzir aterosclerose<sup>30</sup>.

A lesão inicial pode ocorrer de várias maneiras, incluindo a tensão hemodinâmica, a tensão de cisalhamento (*shear stress*), o dano tóxico do fumo do tabaco (nomeadamente mediado pelo monóxido de carbono), a deposição de complexos imunes circulantes, as infecções víricas e a acção da homocisteína, de radicais livres<sup>115</sup> e dos níveis aumentados de LDL<sup>77</sup>. Quando vários destes factores coexistem, actuam sinergicamente e multiplicam os seus efeitos, amplificando a magnitude da lesão vascular<sup>116</sup>. Os acontecimentos subsequentes não seriam mais do que uma resposta inflamatória, envolvendo a activação de monócitos e células endoteliais, libertação de citoquinas e participação das células musculares lisas<sup>29</sup>. Na patogénese da aterosclerose espontânea é pouco provável que a lesão endotelial inicial seja de causa mecânica<sup>50</sup>.

Uma das consequências desta disfunção endotelial é o aparecimento de espasticidade coronária<sup>117</sup>, que pode ser avaliada por coronariografia com teste de provocação pela ergonovina e é um factor/marcador de risco independente para a progressão da DCI<sup>118</sup>. Em zonas de espasmodicida-

de coronária desenvolvem-se, a um prazo relativamente curto, lesões ateroscleróticas típicas<sup>119</sup>. De facto, os mesmos agonistas que causam vasodilatação mediada pelo EDRF, como a acetilcolina, serotonina, trombina e difosfato de adenosina, são responsáveis por vasoconstricção quando o endotélio está lesado<sup>116</sup>; talvez esta seja a causa do tónus vascular elevado das artérias ateroscleróticas<sup>120</sup>. Virtualmente todos os doentes com angina instável têm algum grau de disrupção endotelial, enquanto os doentes com angina estável têm um endotélio intacto sobre uma estenose com repercussão hemodinâmica, confirmando o papel central do endotélio<sup>121</sup>.

A teoria lipídica da aterosclerose, edificada sobre os trabalhos experimentais que induziram lesões ateroscleróticas em animais alimentados com uma dieta rica em colesterol, alicerçada pelos estudos anatomopatológicos em cadáveres humanos, escorada na associação epidemiológica entre a colesterolemia e a doença aterosclerótica e confirmada pelos estudos de regressão e de prevenção primária e secundária com diversas formas de intervenção hipolipemiente, sugere que a acumulação de colesterol na parede arterial seria o mecanismo básico da aterogénese.

Por isso mesmo, as tentativas de desvendar os segredos da formação das células espumosas, *ex-libris* da doença aterosclerótica, têm contribuído sobremaneira para o conhecimento desta doença. É hoje unanimemente aceite que a fonte dos depósitos intralésionais e intracelulares de colesterol são as lipoproteínas circulantes<sup>122</sup>. Mas como é que as lipoproteínas penetram nas células e porque é que só algumas se transformam em células espumosas?

Desde os trabalhos de Goldstein e Brown<sup>123</sup>, responsáveis pela descoberta dos receptores das LDL, sabe-se que a ligação e passagem das lipoproteínas nas membranas celulares é mediada por receptores próprios. Estes receptores estão sujeitos a um efeito de retrocontrolo negativo, dependente do conteúdo intracelular de colesterol, modulando, desta sorte, a homeostase do colesterol<sup>124</sup>. Não parecem contribuir directamente para a aterogénese e a formação de células espumosas<sup>122</sup> e não são essenciais para que as LDL atravessem o endotélio. Um tipo particular de macrófago, com receptores das LDL pouco sensíveis ao fenómeno de retrocontrolo, acumula grandes quantidades de ésteres de colesterol na presença de LDL não modificadas e pode constituir o mecanismo etiopatogénico básico em alguns casos de aterosclerose acelerada<sup>125</sup>.

Estudos diversos identificaram um diferente grupo de receptores, de que poderão existir diferentes tipos<sup>126,127</sup>, os receptores *scavenger*, presentes em macrófagos, células endoteliais, células musculares lisas e fibroblastos e capazes de captar as LDL modificadas, seja por acetilação, oxidação, glicação, agregação ou outros mecanismos<sup>29</sup>, não estando sujeitos a qualquer tipo de retrocontrolo, se bem que, *in vitro*, possam ser estimulados ou inibidos por diversas citoquinas<sup>122</sup>. A função destes receptores é a de

captar, remover e lisar moléculas anormais que possam prejudicar a normal homeostase local; simplesmente, na presença de uma hiperlipidemia esse objectivo é ultrapassado, acumulando-se partículas lipoproteicas a uma velocidade superior à capacidade de metabolização do macrófago, levando à formação de *foam-cells* e ao perpetuar das reacções inflamatórias que terminam na formação da placa de ateroma. A importância dos receptores *scavenger*, cuja existência nas placas de ateroma foi já demonstrada<sup>128</sup>, é retratada pela aterosclerose espontânea acelerada, com deposição dramática de lípidos intracelulares, nos doentes com hipercolesterolemia familiar homozigótica, em que se verifica uma ausência total de receptores funcionantes das LDL<sup>129</sup>. A estimulação destes receptores nas células endoteliais induz a expressão de mediadores da função vascular, como é o caso da endotelina<sup>127</sup>.

Um outro tipo de receptor foi entretanto identificado, o *LDL receptor-related protein* (LRP), recentemente reconhecido como sendo o receptor da  $\alpha$ 2-macroglobulina<sup>130</sup>, o qual, entre outras moléculas, fixaria as lipoproteínas ricas em apoE e a lipoproteína(a)<sup>122,131</sup>. Este receptor encontrar-se-ia em maior concentração no tecido aterosclerótico, quer nos macrófagos quer nas células musculares lisas, podendo desempenhar uma função importante na aterogénese<sup>122,132</sup>. Têm sido encontrados outros receptores macrofágicos capazes de ligar as LDL oxidadas, cujo desempenho na aterogénese é ainda desconhecido, como o Fc $\gamma$  RII-B2<sup>133</sup> e o CD 36<sup>134</sup>, também conhecido como glicoproteína IV ou IIIb, este último capaz de interagir com concentrações de LDL oxidadas inferiores às necessárias para estimular os receptores *scavenger*. Outros tipos de receptores encontram-se em investigação<sup>135,136</sup>.

No entanto, paradoxalmente, altas concentrações de LDL são incapazes de converter macrófagos, *in vitro*, em células espumosas, sugerindo que são as LDL modificadas, não as nativas, que estão envolvidas na etiopatogénese desta doença<sup>29,31,137,138,139</sup>, corporizando a teoria oxidativa da aterosclerose.

Efectivamente, nos indivíduos normolipidémicos as LDL são fundamentalmente de densidade intermédia (1,027-1,035 g/ml), apresentando uma conformação óptima para a ligação aos respectivos receptores, maior resistência à oxidação e maior capacidade de aceitação de ésteres de colesterol, jogando um papel importante no transporte reverso de colesterol mediado pelos receptores das LDL<sup>140</sup>. No entanto, nos doentes coronários<sup>141,142,143</sup> ou com patologia arterial periférica<sup>144</sup> as LDL terão uma maior susceptibilidade intrínseca à oxidação e uma maior aterogenicidade, o que poderá ser devido a factores dietéticos<sup>141</sup> e/ou genéticos<sup>145</sup>.

Em análise multivariante o nível de autoanticorpos anti-LDL oxidadas discriminou melhor entre doentes com doença arterial periférica e controlos do que qualquer outro parâmetro lipídico<sup>146</sup>. Em indivíduos com LDL oxidadas verificou-se uma maior progressão das placas ateroscleróticas

carotídeas e femurais<sup>147</sup>. No estudo REGRESS, a resistência das LDL à oxidação correlacionou-se inversamente com a progressão da aterosclerose coronária<sup>148</sup>. Num outro estudo angiográfico, os níveis de anticorpos anti-LDL oxidadas foram semelhantes em doentes com coronariopatia significativa e controlos<sup>149</sup>.

A evidência mais convincente do papel da oxidação das lipoproteínas na patogénese da aterosclerose talvez advinha da capacidade do probucol, um potente medicamento lipofílico antioxidante, em contrariar o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas<sup>150,151</sup> (independentemente da acção hipocolesterolemizante<sup>29</sup>), em promover a regressão de xantomas, lesões vasculares ateromatosas<sup>152</sup> e xantelasmas<sup>77</sup> e em restaurar a função endotelial<sup>153</sup>.

Alguns estudos epidemiológicos e experimentais confirmam a relação inversa entre o consumo de substâncias antioxidantes e as manifestações da doença aterosclerótica<sup>154,155,156,157,158,159,160,161</sup>, outros demonstram um efeito protector na vasculopatia dos transplantes<sup>162</sup>, mas noutros a terapêutica antioxidante não parece ser suficiente para impedir o desenvolvimento da doença aterosclerótica<sup>163,164,165,166</sup>, sobretudo para colesterolemias elevadas, que parecem ultrapassar a capacidade protectora da terapêutica antioxidante<sup>160</sup>. De qualquer modo, todos os estudos que investigaram a aterogenicidade de gorduras oxidadas, de hidroperóxidos lipídicos e de radicais livres concordam com a sua aterogenicidade<sup>115,167,168</sup>. A aparente discrepância entre a positividade dos estudos epidemiológicos sobre o valor da dieta rica em antioxidantes e os decepcionantes resultados de alguns estudos com suplementação de vitaminas antioxidantes, poderá residir na existência de outras substâncias protectoras nos frutos e vegetais<sup>169</sup>, mas também no facto destes estudos se iniciarem numa fase provavelmente já demasiado adiantada da doença aterosclerótica. É interessante que, na ausência de agentes redutores como o ubiquinol-10, o ascorbato ou a bilirrubina, o radical  $\alpha$ -tocoferoxil pode iniciar a peroxidação das LDL<sup>170</sup>. São imprescindíveis mais ensaios clínicos com terapêutica antioxidante para esclarecer o potencial antiaterogénico da sua suplementação farmacológica<sup>171</sup>. Até à data, os ensaios terapêuticos randomizados mostraram um provável benefício da vitamina E, mas nenhum do  $\beta$  caroteno<sup>172</sup>.

A presença de LDL oxidadas nas lesões ateroscleróticas humanas e animais foi já demonstrada<sup>139,173,174,175,176</sup> e, apesar de ainda não se conhecerem com exactidão os mecanismos que podem levar à oxidação das LDL *in vivo*<sup>137,139,177</sup>, são múltiplos os exemplos experimentais da validade da contribuição da oxidação das lipoproteínas para a aterogénese. Ao contrário das LDL nativas, as LDL oxidadas, verdadeiras angiotoxinas<sup>178</sup>, são citotóxicas e induzem apoptose em culturas de fibroblastos, macrófagos e células musculares lisas e endoteliais<sup>29,179,180</sup>, são quimiotácticas para os monócitos e estimulam a libertação de M-CSF e outras

citoquinas pelos macrófagos e células espumosas<sup>181,182</sup>, induzem a expressão do gene do PDGF-A nas células musculares lisas humanas<sup>183</sup>, provocam um significativo e proporcional aumento da ligação dos monócitos às células endoteliais humanas<sup>184</sup>, são incorporadas pelos monócitos/macrófagos três a dez vezes mais rapidamente que as LDL nativas<sup>185</sup> e são imunogénicas, podendo estimular uma resposta imune humoral (com a produção de anticorpos e a formação de complexos antígeno-anticorpo)<sup>139,173</sup> e uma resposta imune celular (com libertação de citoquinas e proliferação de linfócitos T)<sup>177,186</sup>. Produtos como a lisofosfatidilcolina, esteróis oxidados ou fosfolípidos modificados podem libertar-se das LDL e desencadear diversos efeitos tóxicos e biológicos na parede arterial, nomeadamente no endotélio, incluindo a activação da cascata da coagulação<sup>177</sup> e a diminuição profunda do relaxamento mediado pelo óxido nítrico, o que poderia contribuir para o vasospasmo que se encontra associado à presença de factores de risco de aterosclerose, mesmo na ausência de lesões significativas<sup>187</sup>. Por sua vez, o EDRF inactivado por radicais superóxido<sup>188</sup> leva à formação de peroxinitrito, que pode oxidar as LDL<sup>189</sup>.

Muitos destes efeitos serão mediados por LDL “minimamente modificadas”, as *minimally modified LDL*, capazes de agir como agentes pró-inflamatórios<sup>138</sup> antes que se verifiquem alterações suficientes para estimular os receptores *scavenger*, que teriam, assim, um papel protector<sup>177</sup>. Efectivamente, enquanto as LDL ligeiramente oxidadas são reconhecidas pelos receptores B/E, as LDL mais extensamente oxidadas só são reconhecidas pelos receptores *scavenger*<sup>190</sup>. A peroxidação ligeira dos ácidos gordos poli-insaturados e fosfolípidos das LDL confere a estas lipoproteínas uma potente actividade biorreguladora que inclui muitos dos acontecimentos próprios, já descritos, de uma lesão aterosclerótica em evolução, nomeadamente a secreção de MCP-1 pelas células endoteliais e células musculares lisas<sup>29,191,192,193</sup>, a indução da adesão monocitária, mas não de neutrófilos<sup>31</sup>, às células endoteliais, a estimulação da síntese de factores de crescimento pelas células endoteliais<sup>191</sup> e a indução da activação e agregação pla-

quetares<sup>194</sup>.

É pouco provável que quantidades significativas de LDL sejam oxidadas no plasma devido à presença de grande quantidade de antioxidantes<sup>195</sup>, se bem que existam pequenas quantidades de LDL oxidadas em circulação<sup>29</sup>. O significado patofisiológico destas partículas é discutível, na medida em que LDL quimicamente modificadas são rapidamente interceptadas pelo sistema retículo-endotelial de órgãos ricos em macrófagos, como o fígado, o baço e a medula óssea<sup>196</sup>, mas não pelas células endoteliais de artérias, veias e capilares de outros órgãos, nomeadamente as coronárias e a aorta<sup>29,197</sup>. De qualquer modo, LDL oxidadas circulantes podem acumular-se nas placas ateroscleróticas<sup>196</sup>. Provavelmente, a modificação das LDL com maior significado patológico, pelo menos em termos quantitativos, acontecerá essencialmente a nível da íntima vascular. Aí elas permanecem durante um tempo prolongado e são expostas a células capazes de promover a sua oxidação, num meio onde as defesas antioxidantes são menores do que na circulação<sup>139</sup>, o que estaria de acordo com a teoria da resposta à retenção<sup>38</sup>. Esta modificação ocorre com alteração das propriedades físico-químicas das LDL, particularmente da sua carga negativa global<sup>198</sup>. No plasma as LDL contêm substâncias lipofílicas antioxidantes que as protegem da oxidação, principalmente  $\alpha$ -tocoferol (cerca de sete moléculas por partícula LDL), e, em menor quantidade,  $\beta$ -carotenos e ubiquinol-10, entre outras<sup>177,199</sup>. As células endoteliais e musculares lisas, os macrófagos/monócitos, os fibroblastos e as plaquetas activadas podem oxidar as LDL em cultura de tecidos<sup>29,56,200</sup>. A acumulação intracelular das LDL oxidadas pode ser explicada, pelo menos em parte, pela sua resistência à hidrólise pelas proteases lisossomais<sup>126</sup>.

Para além da oxidação das lipoproteínas, a circulação de substâncias oxidantes pode aumentar a adesividade dos monócitos ao endotélio, um mecanismo inibido pela vitamina C<sup>201</sup>, e perturbar directamente a função endotelial, verificando-se que a vitamina C, em doses fisiológicas, pode reverter a espasmodicidade arterial dos doentes com DCI<sup>202</sup>.

## Bibliografia

- Henry P D, Chen C-II. Inflammatory mechanisms of atheroma formation. Influence of fluid mechanics and lipid-derived inflammatory mediators. *Am J Hypertens* 1993; 6: 328S-334S
- Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis. A perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801-809.
- Nachman R L. Thrombosis and atherogenesis: molecular connections. *Blood* 1992; 79: 1897-1906
- Visser M R, Vercellotti G M, McCarthy J B, Goodman J L, Herbst T J, Furcht L T, Jacob H S. Herpes simplex virus inhibits endothelial cell attachment and migration to extracellular matrix proteins. *Am J Pathol* 1989; 134: 223-230.
- Koenig W, Sund M, Fröhlich M, Fischer H-G, Löwel H, Döring A, Hutchinson W, Pepys M. C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men. Results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation* 1999; 99: 237-242.
- Liuzzo G, Biasucci L, Gallimore R, Grillo R, Rebuzzi A, Pepys M, Maseri A. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1994; 331: 417-424.
- Biasucci L, Liuzzo G, Grillo R, Caligiuri G, Rebuzzi A, Buffon A, Summaria F, Ginnetti F, Fadda G, Maseri A. Elevated levels of C-Reactive protein at discharge in patients with unstable angina predict recurrent instability. *Circulation* 1999; 99: 855-860.
- Anzai T, Yoshikawa T, Shiraki H, Asakura Y, Akaishi M, Mitamura H, Ogawa S. C-reactive protein as a predictor of infarct expansion and cardiac rupture after a first Q-wave acute myocardial infarction.



- Circulation 1997; 96: 778-784.
9. Ridker P, Rifai N, Pfeffer M, Sacks F, Moye L, Goldman S, Flaker G, Braunwald E. Inflammation, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. *Circulation* 1998; 98: 839-844.
  10. Bierman E L. Atherosclerosis and other forms of arteriosclerosis". Em: "Harrison's principles of internal medicine, McGraw-Hill, New York 1991; 12th ed.; 992-1001.
  11. Holman RL, McGill H C Jr, Strong J P, Geer J C. The natural history of atherosclerosis: the early aortic lesions as seen in New Orleans in the middle of the 20th century. *Am J Pathol*, 1958; 34: 209-229
  12. Rodrigues M F, Mendonça M C, Moreira A, Costa J P. Lesões macroscópicas de aterosclerose em jovens. *O Médico* 1989; 121: 138-141.
  13. Anônimo. Relationship of atherosclerosis in young men to serum lipoprotein cholesterol concentrations and smoking. A preliminary report from the pathological determinants of atherosclerosis in youth (PDAY) research group. *JAMA* 1990; 264: 3018-3024.
  14. Berliner J A, Gerrity R G. Pathology of atherosclerosis". Em: Lusis A J, Rotter J I, Sparkes R S, (eds.): "Molecular genetics of coronary artery disease. Candidate Genes and processes in atherosclerosis, Monogr Hum Genet, Karger, Basel 1992; 14: 1-17.
  15. Mathur K S, Kashyap S K, Kumar V. Correlation of the extent and severity of atherosclerosis in the coronary and cerebral arteries. *Circulation* 1963; 27: 929-934.
  16. Smith E B. Fibrinogen, fibrin, and fibrin degradation products in relation to atherosclerosis. *Clin Haematol* 1986; 15: 357-370.
  17. Bobryshev Y V, Lord R S, Warren B A. Calcified deposit formation in intimal thickenings of the human aorta. *Atherosclerosis* 1995; 118: 9-21.
  18. Guyton J R, Klemp K F. Development of the atherosclerotic core region. Chemical and ultrastructural analysis of microdissected atherosclerotic lesions from human aorta. *Arterioscl Thromb* 1994; 14: 1305-1314.
  19. McGill H C Jr. Fatty streaks in the coronary arteries and aorta. *Lab Invest* 1968; 18: 560-564.
  20. Moosy J. Pathology of cerebral atherosclerosis. *Stroke* 1993; 24 (suppl 1): 1 22-1 23.
  21. Bianciardi G, Simoes C, Resi L, Tanganelli P, Weber G. WHO-ISFC PBDAY Study, I. Distribution of lipid and raised atherosclerotic lesions in the aortas of young people (5-34) of various ethnic origins. Xth International Symposium on Atherosclerosis' Abstracts, *Atherosclerosis* 1994; 109 (1,2): 101.
  22. Freedman D S, Newman W P III, Tracy R E, Voors A E, Srinivasan S R, Webber L S, Restrepo C, Strong J P, Berenson G S. Black-white differences in aortic fatty streaks in adolescence and early adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Circulation* 1988; 77: 856-864.
  23. Stebbens W E. The lipid hypothesis of atherogenesis. R G Landes Company, Austin, 1993, 185 pp
  24. Schwartz C J, Valente A J, Sprague E A. A modern view of atherogenesis. *Am J Cardiol* 1993; 71: 9B-14B.
  25. Virchow R. Phlogose und thrombose in gefasssystem, gesammelte abhanlungen zur wisseschäftlichen medizien. Frankfurt-am-Main, Germany: Meidinger Sohn, 1856: 458.
  26. Sary H C. Macrophages, macrophage foam cells, and eccentric intimal thickening in the coronary artery intima of young children. *Atherosclerosis* 1987; 64: 91-108.
  27. Simionescu N, Vasile E, Lupu F, Popescu G, Simionescu M. Prelesional events in atherogenesis: accumulation of extracellular cholesterol-rich liposomes in the arterial intima and cardiac valves of the hyperlipidaemic rabbit. *Am J Pathol* 1986; 123: 109-125.
  28. Feldman D L, Hoff H, Gerrity R G. Immunohistochemical localization of apoprotein B in aortas from hyperlipidemic swine: preferential accumulation in lesion-prone areas. *Arch Pathol Lab Med* 1984; 108: 817-822.
  29. Haberland M E, Steinbrecher U P. Modified low-density lipoproteins: diversity and biological relevance in atherogenesis. Em: Lusis A J, Rotter J I, Sparkes R S, (eds.): *Molecular genetics of coronary artery disease. Candidate Genes and processes in atherosclerosis, Monogr Hum Genet, Karger, Basel 1992; 14: 35-61.*
  30. Thompson W D, Smith E B. Atherosclerosis and the coagulation system. *J Pathol* 1989; 159: 97-106.
  31. Navab M, Berliner J, Watson A, Hama S, Territo M, Lusis A, Shih D, Lenten B, Frank J, Demer L, Edwards P, Fogelman A. The yin and yang of oxidation in the development of the fatty streak. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 831-842.
  32. Smith E. Fibrinogen und Atherosklerose. *Wien Klin Wochenschr* 1993; 105: 417-424.
  33. Chen Y-L, Jan K-M, Lin H-S, Chien S. Ultrastructural studies on macromolecular permeability in relation to endothelial cell turnover. *Atherosclerosis* 1995; 118: 89-104.
  34. Kao C, Chen J, Kuo J, Yang V. Visualization of the transport pathways of low density lipoproteins across the endothelial cells in the branched regions of rat arteries. *Atherosclerosis*, 1995; 116: 27-41
  35. Nielson L B. Transfer of low density lipoprotein into the arterial wall and risk of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1996; 123: 1-15.
  36. Radhakrishnamurthy B, Srinivasan S R, Vijayagopal P, Berenson G S. Arterial wall proteoglycans; biological properties related to pathogenesis of atherosclerosis. *Eur Heart J* 1990; 11 (suppl E): 148-157.
  37. Davies M J, Woolf N, Rowles P M, Pepper J. Morphology of the endothelium over atherosclerotic plaques in human coronary arteries. *Br Heart J* 1988; 60: 459-464.
  38. Williams K J, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 551-561.
  39. Williams K, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of atherogenesis reinforced. *Curr Op Lipidol* 1998; 9: 471-474.
  40. Bondjers G, Camejo G, Fager G, Camejo E H, Lusting F, Olsson U, Wiklund O. Binding of apolipoprotein B and PDGF to arterial proteoglycans. 62nd EAS Congress Abstracts, 1993, p. 6.
  41. Camejo G, Hurt-Camejo E, Olsson U, Rosegeren B, Fager G, López F, Bondjers G. Interactions of proteoglycans and lipoproteins. Xth International Symposium on Atherosclerosis' Abstracts, *Atherosclerosis* 1994; 109 (1,2): 170.
  42. Srinivasan S R, Xu J-H, Vijayagopal P, Radhakrishnamurthy B, Berenson G S. Low-density lipoprotein binding affinity of arterial chondroitin sulfate proteoglycan modulates cholesteryl ester accumulation in macrophages. Xth International Symposium on Atherosclerosis' Abstracts, *Atherosclerosis* 1994; 109 (1,2): 97.
  43. Cardoso L E, Mourão P A. Glycosaminoglycan fractions from human arteries presenting diverse susceptibilities to atherosclerosis have different binding affinities to plasma LDL. *Arterioscl Thromb* 1994; 14: 115-124.
  44. Waickus C M. Oxidized LDL, atherogenesis and antioxidants. *Am Fam Physician* 1993; 48: 718-720.
  45. Navab M, Hama S Y, Nguyen T B, Fogelman A M. Monocyte adhesion and transmigration in atherosclerosis. *Coronary Artery Dis* 1994; 5: 198-204.
  46. Badimon J J, Fuster V, Chesebro J H, Badimon L. Coronary atherosclerosis. A multifactorial disease. *Circulation* 1993; 87 (suppl II): II 3- II 16.
  47. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis-an update. *N Engl J Med* 1986; 314: 488-500.
  48. Schwartz C J, Valente A J. The monocyte-macrophage: introduction and overview. Xth International Symposium on Atherosclerosis' Abstracts, *Atherosclerosis* 1994; 109 (1,2): 330.
  49. Wada T, Kodaira K, Fujishiro K, Maie K, Tsukiyama E, Fukumoto T, Uchida T, Yamazaki S. Correlation of ultrasound-measured common carotid artery stiffness with pathological findings.

- Arterioscl Thromb 1994; 14: 479-482.
50. Ip J H, Fuster V, Badimon L, Badimon J, Taubman M B, Chesebro J H. Syndromes of accelerated atherosclerosis: role of vascular injury and smooth muscle cell proliferation. *J Am Coll Cardiol* 1990; 15: 1667-1687.
  51. Toborek M, Hennig B. Vitamin E attenuates induction of elastase-like activity by tumor necrosis factor- $\alpha$ , cholestan-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol and linoleic acid in cultured endothelial cells. *Clin Chim Acta* 1993; 215: 201-211.
  52. Amaro A, Gude F, González-Juanatey J R, Iglesias C, Fernández-Vázquez F, Varela-Duran J, Castellanos C, Gil M. Activity of leucocyte elastase in women with coronary artery disease documented using angiography. *J Cardiovasc Risk* 1995; 2: 149-153.
  53. Shah P. Inflammation, metalloproteinases, and increased proteolysis. An emerging pathophysiological paradigm in aortic aneurysm. *Circulation* 1997; 96: 2115-2117.
  54. Libby P, Hansson G K. Biology of disease. Involvement of the immune system in human atherogenesis: current knowledge and unanswered questions. *Lab Invest* 1991; 64: 5-15.
  55. Stemme S, Hansson G K. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Coronary Artery Dis* 1994; 5: 216-222.
  56. Navab M, Imes S S, Hama S Y, Hough G P, Ross L A, Bork R W, Valente A J, Berliner J A, Drinkwater D C, Laks H, Fogelman A M. Monocyte transmigration induced by modification of low density lipoprotein in cocultures of human aortic wall cells is due to induction of monocyte chemotactic protein 1 synthesis and is abolished by high density lipoprotein. *J Clin Invest* 1991; 88: 2039-2046.
  57. Van der Wal A, Das P K, Tigges A J, Becker A E. Adhesion molecules on the endothelium and mononuclear cells in human atherosclerotic lesions. *Am J Pathol* 1992; 141: 1427-1433.
  58. Libby P, Salomen R N, Payne D D, Schoen F J, Pober J S. Functions of vascular wall cells related to the development of transplantation-associated coronary arteriosclerosis. *Transplantation Proc* 1989; 21: 3677-3684.
  59. Territo M C, Berliner J A, Navab M. Cellular Interactions of the arterial wall. Em: Lusis A J, Rotter J I, Sparkes R S, (eds.): *Molecular genetics of coronary artery disease. Candidate Genes and processes in atherosclerosis*, Monogr Hum Genet, Karger, Basel 1992; 14: 18-34.
  60. Carlos T, Kovach N, Schwartz B, Rosa M, Newman B, Wayner E, Benjamin C, Osborn L, Lobb R, Harlan J. Human monocytes bind to two cytokine-induced adhesive ligands on cultured human endothelial cells: endothelial leukocyte adhesion molecule-1 and vascular adhesion molecule-1. *Blood* 1991; 77: 2266-2271.
  61. Osborn L, Hession C, Tizard R, Vassallo C, Luhowskyj S, Chi-Rosso G, Lobb R. Direct expression cloning of vascular cell adhesion molecule 1, a cytokine-induced endothelial protein that binds to lymphocytes. *Cell* 1989; 59: 1203-1211.
  62. Cybulsky M I, Gimbrone M A Jr. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherosclerosis. *Science* 1991; 251: 788-791.
  63. Li H, Cybulsky M, Gimbrone M Jr, Libby P. An atherogenic diet rapidly induces VCAM-1, a cytokine-regulatable mononuclear leukocyte adhesion molecule, in rabbit aortic endothelium. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 197-204.
  64. Wood K M, Cadogan M D, Ramshaw A L, Parums D V. The distribution of adhesion molecules in human atherosclerosis. *Histopathology* 1993; 22: 437-444.
  65. Hackman A, Abe Y, Insull W, Pownall H, Smith L, Dunn K, Gotto A, Ballantyne C. Levels of soluble cell adhesion molecules in patients with dyslipidemia. *Circulation* 1996; 93: 1334-1338.
  66. Nakai K, Itoh C, Kawazoe K, Miura Y, Sotoyanagi H, Hotta K, Itoh T, Kamata J, Hiramori K. Concentration of soluble vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) correlated with expression of VCAM-1 mRNA in the human atherosclerotic aorta. *Coronary Artery Dis* 1995; 6: 497-502.
  67. Katsuda S, Coltrera M D, Ross R, Gown A M. Human Atherosclerosis. IV. Immunocytochemical analysis of cell activation and proliferation in lesions of young adults. *Am J Pathol* 1993; 142: 1787-1793.
  68. Anitschkow N, Chalator S. Über experimentelle cholesterinase und ihre bedeutung für die entstehung einiger pathologischer prozesse. *Zentralbl Allg Pathol Path Anat* 1913; 24: 1-9.
  69. Libby P, Galis Z, Shin W S, Liao J K. Cytokines as modulators of atherosclerosis. 62nd EAS Congress Abstracts, 1993, pág 101.
  70. Davies P F, Olesen S P, Clapham D E, Morrel E M, Schoen F J. Endothelial communication. State of the art lecture. *Hypertension* 1988; 11: 563-572.
  71. Roth M. The vascular nervous skeleton: a disregarded factor of vascular pathology. *Atherosclerosis* 1994; 108: 1-3.
  72. Davies M. Reactive oxygen species, metalloproteinases, and plaque stability. *Circulation* 1998; 97: 2382-2383.
  73. Rosenfeld M E, Pestel E. Cellularity of atherosclerotic lesions. *Coronary Artery Dis* 1994; 5: 189-197.
  74. Benditt E P, Benditt J M. Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973; 70: 1753.
  75. Sobel B E. Increased plasminogen activator inhibitor-1 and vasculopathy. A reconcilable paradox. *Circulation* 1999; 99: 2496-2498.
  76. Robenek H, Pataki M. Endocytosis of oxidized LDL and reversibility of migration inhibition in macrophage-derived foam cells in vitro. 62nd EAS Congress Abstracts 1993, p83.
  77. Thompson G R. A handbook of hyperlipidaemia. Current Science Ltd, London, 1990.
  78. Falk E. Coronary thrombosis: pathogenesis and clinical implications. *Am J Cardiol* 1991; 68: 28B-35B.
  79. Fuster V, Badimon L, Badimon J J, Chesebro J H. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (first of two parts). *N Engl J Med* 1992; 326: 242-250.
  80. Van Aken P J, Emeis J J. Organization of experimentally induced arterial thrombosis in rats from two weeks until ten months: the development of an arteriosclerotic lesion and the occurrence of rethrombosis. *Artery* 1983; 11: 384-399.
  81. Davies M J, Thomas A C. Plaque fissuring - the cause of acute myocardial infarction, sudden ischaemic death, and crescendo angina. *Br Heart J* 1985; 53: 363-373.
  82. Buja L M, Willerson J T. Clinicopathologic correlates of acute ischemic heart disease syndromes. *Am J Cardiol* 1981; 47: 343-356.
  83. Davies M J, Woolf N, Robertson W B. Pathology of acute myocardial infarction with particular reference to occlusive coronary thrombi. *Br Heart J* 1976; 38: 659-664.
  84. Rokitsansky C. A manual of pathological anatomy. London: Sydenham Society 1852; vol. IV: 265-275.
  85. Davies M J, Bland M J, Hangartner W R, Angelini A, Thomas A C. Factors influencing the presence or absence of acute coronary thrombi in sudden ischemic death. *Eur Heart J* 1989; 10: 203-208.
  86. Velican C, Velican D. The precursors of coronary atherosclerotic plaques in subjects up to 40 years old. *Atherosclerosis* 1980; 37: 33-46.
  87. Davies M J, Thomas A. Thrombosis and acute coronary-artery lesions in sudden cardiac ischemic death. *N Engl J Med* 1984; 310: 1137-1140.
  88. Folkman J. Clinical applications of research on angiogenesis. *N Engl J Med* 1995; 333: 1757-1763.
  89. Wilcox J. Thrombotic mechanisms in atherosclerosis. *Coronary Artery Dis* 1994; 5: 223-229.
  90. Isner J. Cancer and atherogenesis. The broad mandate of angiogenesis. *Circulation* 1999; 99: 1653-1655.
  91. Falk E. Plaque rupture with severe pre-existing stenosis precipitating coronary thrombosis. Characteristics of coronary atherosclerotic plaques underlying fatal occlusive thrombi. *Br Heart*

- J 1983; 50: 127-134.
92. Hunt B J. The relation between abnormal hemostatic function and the progression of coronary disease. *Curr Op Cardiol* 1990; 5: 758-765.
  93. Hatton M W, Moar S L, Richardson M. Deendothelialization in vivo initiates a thrombogenic reaction at the rabbit aorta surface. Correlation of uptake of fibrinogen and antithrombin III with thrombin generation by the exposed subendothelium. *Am J Pathol* 1989; 135: 499-508.
  94. Lupu F, Bergonzelli G E, Heim D A, Cousin E, Genton C Y, Bachmann F, Kruthof E K O. Localization and production of plasminogen activator inhibitor-1 in human healthy and atherosclerotic arteries. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1090-1100.
  95. Prins M H, Hirsh J. A critical review of the relationship between impaired fibrinolysis and myocardial infarction. *Am Heart J* 1991; 122: 545-551.
  96. Padró T, Emeis J J, Steins M, Schmid K W, Kienast J. Quantification of plasminogen activators and their inhibitors in the aortic vessel wall in relation to the presence and severity of atherosclerotic disease. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 893-902.
  97. Naito M, Hayashi T, Kuzuya M, Funaki C, Asai K, Kuzuya F. Effects of fibrinogen and fibrin on the migration of vascular smooth muscle cells in vitro. *Atherosclerosis* 1990; 83: 9-14.
  98. Grandaliano G, Valente A J, Abboud H E. A novel biologic activity of thrombin: stimulation of monocyte chemotactic protein production. *J Exp Med* 1994; 179: 1737-1741.
  99. Shavit R, Hruska K, Kahn A, Wilner G D. Thrombin chemotactic stimulation of HL-60 cells; studies on thrombin responsiveness as a function of differentiation. *J Cell Physiol* 1987; 131: 255-261.
  100. Loscalzo J. The relation between atherosclerosis and thrombosis. *Circulation* 1992; 86 (suppl III): 95-99.
  101. Harlan J M, Thompson P J, Ross R R, Pope D F B. Alpha-thrombin induces release of platelet derived growth factor-like molecule(s) by cultured human endothelial cells. *J Cell Biol* 1986; 103: 1129-1133.
  102. Shultz P J, Knauss T C, Mene P, Abboud H E. Mitogenic signals for thrombin in mesangial cells: regulation of phospholipase C and PDGF genes. *Am J Physiol* 1989; 257: F366-F374.
  103. Weiss R H, Maduri M. The mitogenic effect of thrombin in vascular smooth muscle cells is largely due to basic fibroblast growth factor. *J Biol Chem* 1993; 268: 5724-5727.
  104. Fishel R S, Thourani V, Eisenberg S J, Shai S Y, Corson M A, Nabel E G, Bernstein K E, Berk B C. Fibroblast growth factor stimulates angiotensin converting enzyme expression in vascular smooth muscle cells. Possible mediator of the response to vascular injury. *J Clin Invest* 1995; 95: 377-387.
  105. Chesebro J H, Webster M W I, Smith H C, Frye R L, Holmes D R, Reeder G S, Bresnahan D R, Nishimura R A, Clements I P, Bardsley W T, Grill D E, Fuster V. Antiplatelet therapy in coronary disease progression: reduced infarction and new lesion formation. *Circulation* 1989; 80 (suppl II); II-266, abstract.
  106. Martin J F, Bath P M, Burr M L. Influence of platelet size on outcome after myocardial infarction. *Lancet* 1991; 338: 1409-1411.
  107. McGill D A, Ardlie N G. Abnormal platelet reactivity in men with premature coronary heart disease. *Coronary Artery Dis* 1994; 5: 889-900.
  108. Thaulow E, Erikssen J, Sandvik L, Stormorken H, Cohn P F. Blood platelet count and function are related to total and cardiovascular death in apparently healthy men. *Circulation* 1991; 84: 613-617.
  109. Trip M D, Cats V M, van Capelle F J L, Vreken J. Platelet hyperreactivity and prognosis in survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1990; 322: 1549-1554.
  110. Willingen G, Gorter G, Akkerman J-W. LDLs increase the exposure of fibrinogen binding sites on platelets and secretion of dense granules. *Arterioscl Thromb* 1994; 14: 41-46.
  111. Ross R, Harker L. Hyperlipidemia and atherosclerosis. *Science* 1976; 193: 1094-1100.
  112. Reidy M A. A reassessment of endothelial injury and arterial lesion formation. *Lab Invest* 1985; 53: 513-520.
  113. Tamagaki T, Sawada S, Imamura H, Tada Y, Yamasaki S, Toratani A, Sato T, Komatsu S, Akamatsu N, Yamagami M, Kobayashi K, Kato K, Yamamoto K, Shirai K, Yamada K, Higaki T, Nakagawa K, Tsuji H, Nakagawa M. Effects of high-density lipoproteins on intracellular pH and proliferation of human vascular endothelial cells. *Atherosclerosis* 1996; 123: 73-82.
  114. Schwartz S M, Reidy M A. Common mechanisms of proliferation of smooth muscle in atherosclerosis and hypertension. *Hum Pathol* 1987; 18: 240-247.
  115. Kozar R A, McKeone B J, Pownall H J. Free radical-induced alterations in endothelial cell function. *J Surg Res* 1994; 56: 32-36.
  116. Raji L. Hypertension, endothelium, and cardiovascular risk factors. *Am J Med* 1991; 90 (suppl 2A): 13-18.
  117. Heistad D D, Armstrong M L, Baumbach G L, Faraci F M. Sick vessel syndrome. Recovery of atherosclerotic and hypertensive vessels. *Hypertension* 1995; 26: 509-513.
  118. Nobuyoshi M, Tanaka M, Nosaka H, Kimura T, Yokoi H, Hamasaki N, Kim K, Shindo T, Kimura K. Progression of coronary atherosclerosis: is coronary spasm related to progression?. *J Am Coll Cardiol* 1991; 18: 904-910.
  119. Nobuyoshi M, Abe M, Nosaka H, Kimura T, Yokoi H, Hamasaki N, Shindo T, Kimura K, Nakamura T, Nakagawa Y, Shiode N, Sakamoto A, Kakura H, Iwasaki Y, Kim K, Kitaguchi S. Statistical analysis of clinical risk factors for coronary artery spasm: identification of the most important determinant. *Am Heart J* 1992; 124: 32-38.
  120. Fuster V, Badimon L, Badimon J J, Chesebro J H. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (2nd of two parts). *N Engl J Med* 1992; 326: 310-318.
  121. Casscells W, Eastman J D. Grand Round. Thrombus and unstable angina. *Lancet* 1993; 342: 1151-1155.
  122. Daugherty A. Lipoprotein receptors in arterial tissue: relation to the pathology of atherosclerosis. *Coronary Artery Dis* 1994; 5: 211-215.
  123. Goldstein J L, Brown M S, Anderson R G W, Russell D W, Schneider W J. Receptor-mediated endocytosis: concepts emerging from the LDL receptor system. *Annu Rev Cell Biol* 1985; 1: 1-39.
  124. Goldstein J L, Brown M S. Regulation of low density lipoprotein receptors: implications for pathogenesis and therapy of hypercholesterolemia and atherosclerosis. *Circulation* 1987; 76: 504-507.
  125. Tabas I, Weiland D, Tall A. Stimulation of cholesteryl ester storage in macrophagelike J774 cells by unmodified human low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 416-420.
  126. Sparrow C P, Parthasarathy S, Steinberg D. A macrophage receptor that recognizes oxidized low density lipoprotein but not acetylated low density lipoprotein. *J Biol Chem* 1989; 264: 2599-2604.
  127. Testa R, Bonfigli A, Pieri C, Marra M, Sirolla C, Manfrini S, Testa I. A significant relationship between plasminogen activator inhibitor type-1 and lipoprotein(a) in non-insulin-dependent diabetes mellitus without complications. *Int J Clin Lab Res* 1998; 28: 187-191.
  128. Geng Y-J, Nygren S, Hansson G K. Detection of scavenger receptor expression in atherosclerotic plaques and macrophage foam cells by specific antibodies. 62nd EAS Congress Abstracts 1993, pág. 63.
  129. Brown M S, Goldstein J L. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986; 232: 34-47.
  130. Kristensen T, Moestrup S K, Gliemann J, Bendtsen L, Sand O,

- Sottrup-Jensen L. Evidence that the newly cloned low-density-lipoprotein receptor related protein (LRP) is the alpha-2-macroglobulin receptor. *FEBS Lett* 1990; 276: 151-155.
131. Marz W, Beckmann A, Scharnagl H, Siekmeier R, Mondorf U, Held I, Schneider W, Preissner K, Curtiss L, Gross W et al. Heterogeneous lipoprotein(a) size isoforms differ by their interactions with the low density lipoprotein receptor and the low density lipoprotein receptor-related protein/alpha(2)-macroglobulin receptor. *Febs Lett* 1993; 325: 271-275.
  132. Luoma J, Hiltunen T, Särkioja T, Moestrup S K, Gliemann J, Kodama T, Nikkari T, Ylä-Herttuala S. Expression of  $\alpha$ 2-macroglobulin receptor/LDL receptor-related protein and scavenger receptor in human atherosclerotic lesions. *Xth International Symposium on Atherosclerosis' Abstracts, Atherosclerosis 1994*; 109 (1,2): 115.
  133. Stanton L W, White R T, Bryant C M, Protter A A, Endemann G. A macrophage Fc receptor for IgG is also a receptor for oxidized low density lipoproteins. *J Biol Chem* 1992; 267: 22446-22451.
  134. Endemann G, Stanton L W, Madden K S, Bryant C M, White R T, Protter A A. CD36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem* 1993; 268: 11811-11816.
  135. Bihain B E, Yen F T. The lipolysis stimulated receptor: a gene at last. *Curr Op Lipidol* 1998; 9: 221-224.
  136. Roach P D, Hirata F, Triantafyllidis C, Nestel P J. Rat lung expresses a LDL-binding protein which is distinct from the LDL receptor. *Xth International Symposium on Atherosclerosis' Abstracts, Atherosclerosis 1994*; 109 (1,2): 111.
  137. Heinecke J W. Cellular mechanisms for the oxidative modification of lipoproteins: implications for atherogenesis. *Coronary Artery Dis* 1994; 5: 205-210.
  138. Liao F, Berliner J A, Mehrabian M, Navab M, Demer L L, Lusis A J, Fogelman A M. Minimally modified low density lipoprotein is biologically active in vivo in mice. *J Clin Invest* 1991; 87: 2253-2257.
  139. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew T E, Khoo J C, Witztum J L. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989; 320: 915-924.
  140. Chapman M J, Prassl R, Laggner P, Lund-Katz S, Phillips M C, Flament C, Goulinet S, Nigon F, Rouis M, Laplaud P M, Guérin M, Dolphin P, Bruckert E. LDL subfractions: properties and functions. *Xth International Symposium on Atherosclerosis' Abstracts, Atherosclerosis 1994*; 109 (1,2): 350-351.
  141. Bunce T, Bruckdorfer K R, Rice-Evans C, Timmis A D, Winterton S J, Balcon R, Davies S W. LDL from patients with coronary heart disease are more susceptible to oxidation. *62nd EAS Congress Abstracts 1993*, pág 13.
  142. Colquhoun D M, Kroon P A, Will P M, Hicks B J, Davidson M. Susceptibility of LDL to ion-dependent oxidation and extent of coronary atherosclerosis. *Xth International Symposium on Atherosclerosis' Abstracts, Atherosclerosis 1994*; 109 (1,2): 51.
  143. Mezzetti A, Lapenna D, Pierdomenico S D, Porreca E, Calafiore A M, Riario-Sforza G, Imbataro T, Cuccurullo F. Systemic oxidative stress status in patients with ischemic heart disease. *Xth International Symposium on Atherosclerosis' Abstracts, Atherosclerosis 1994*; 109 (1,2): 55-56.
  144. Grieve G, O'Neal D, Nuckey T, Lewicki J, Matthews P G, Sikaris K, Best J. Negative correlation of LDL oxidative resistance with peripheral vascular disease. *Xth International Symposium on Atherosclerosis' Abstracts, Atherosclerosis 1994*; 109 (1,2): 50.
  145. Krauss R, Lusis A, Rotter J. Genetic and metabolic influences on LDL subclasses. *Xth International Symposium on Atherosclerosis' Abstracts, Atherosclerosis 1994*; 109 (1,2): 351.
  146. Bergmark C, Wu R, Faire U, Lefvert A K, Swedenborg J. Patients with early-onset peripheral vascular disease have increased levels of autoantibodies against oxidized LDL. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 441-445.
  147. Andrews B, Burnand K, Paganga G, Browse N, Rice-Evans C, Somerville K, Leake D, Taub N. Oxidizability of low density lipoproteins in patients with carotid or femoral artery atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1995; 112: 77-84.
  148. Rijke Y, Jukema J, Zwinderman A, Voegelzang C, Berkel Th, Boven A, Laarse A. Oxidation resistance of low-density lipoprotein is related to progression of coronary atherosclerosis in men with stable angina pectoris. *66th EAS Congress' Abstracts 1996*, p37.
  149. Vijver L, Steyger R, Poppel G, Boer J, Kruijssen D, Seidell J, Princen H. Autoantibodies against MDL-LDL in subjects with severe and minor atherosclerosis and healthy population controls. *Atherosclerosis* 1996; 122: 245-253.
  150. Chait A, Chang M, Sasahara M, Raines E, Ross R. Oxidative modification of lipoproteins and their treatment in primates. *Xth International Symposium on Atherosclerosis' Abstracts, Atherosclerosis 1994*; 109 (1,2): 84-85.
  151. Kouzuma R, Tasaki H, Komura T, Nakashima Y, Kuroiwa A. Combined treatment with probucol and diltiazem regresses atherosclerosis induced by 1% cholesterol diet in rabbit aorta. *Xth International Symposium on Atherosclerosis' Abstracts, Atherosclerosis 1994*; 109 (1,2): 93.
  152. Yamamoto A, Hara H, Takaichi S, Wakasugi J I, Tomikawa M. The effect of probucol on macrophages, leading to regression of xanthomas and atheromatous vascular lesions. *Am J Cardiol* 1988; 62: 31B-36B.
  153. Anderson T J, Meredith I T, Yeung A C, Frei B, Selwyn A P, Ganz P. The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Engl J Med* 1995; 332: 488-493.
  154. Gaziano J, Manson J, Branch L, Colditz G, Willett W, Buring J. A prospective study of carotenoids in fruits and vegetables and decreased cardiovascular mortality in the elderly. *Ann Epidemiol* 1995; 5: 255-260.
  155. Gey K F, Moser U K, Jordan P, Stähelin H B, Eichholzer M, Lüdin E. Increased risk of cardiovascular disease at suboptimal plasma concentrations of essential antioxidants: an epidemiological update with special attention to carotene and vitamin C. *Am J Clin Nutr* 1993; 57 (suppl): 787S-797S.
  156. Hennig B, McClain C J, Diana J N. Function of vitamin E and Zinc in maintaining endothelial integrity. Implications in atherosclerosis. *Annals N York Acad Sc* 1993; 686: 99-111.
  157. Hertog M, Feskens E, Hollman P, Katan M B, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 1993; 342: 1007-1011.
  158. Luoma P V, Näyhä S, Sikkilä K, Hassi J. High serum alpha-tocopherol, albumin, selenium and cholesterol, and low mortality from coronary heart disease in northern Finland. *J Int Med* 1995; 237: 49-54.
  159. Pandey D, Shekelle R, Selwyn B, Tangney C, Stamler J. Dietary vitamin C and beta-carotene and risk of death in middle-aged men. The Western Electric Study. *Am J Epidemiol* 1995; 142: 1269-1278.
  160. Parker R A, Sabrah T, Cap M, Gill B T. Relation of vascular oxidative stress, alpha-tocopherol, and hypercholesterolemia to early atherosclerosis in hamsters. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 349-358.
  161. Steinberg D. Antioxidant vitamins and coronary heart disease. *N Engl J Med* 1993; 328: 1487-1489.
  162. Land W, Schneeberger H, Schleibner S, Illner W-D, Abendroth D, Rutili G, Arfors K E, Messmer K. The beneficial effect of human recombinant superoxide dismutase on acute and chronic rejection events in recipients of cadaveric renal transplants. *Transplant* 1994; 57: 211-217.
  163. Huttunen J K, Albanes D, Heinonen O P, Taylor P R, Virtamo J, Edwards B K, Rautalahti M, Haapakoski J, Pietinen P, Palmgren J, Greenwald P. The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study, a controlled trial with antioxidant vitamins:

- results for cancer and ischemic heart disease. Xth International Symposium on Atherosclerosis' Abstracts, Atherosclerosis 1994; 109 (1,2): 181.
164. Johansson J, Olsson A, Bergstrand L, Schäfer-Elinder L, Nilsson S, Erikson U, Molgaard J, Holme I, Walldius G. Lowering of HDL2b by probucol partly explains the failure of the drug to affect femoral atherosclerosis in subjects with hypercholesterolemia. A probucol quantitative regression swedish trial (PQRST) report. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 1049-1056.
  165. Kleinvelde H A, Hak-Lemmers H L, Hectors M P, Fouw N J, Demacker P N, Stalenhoef A F. Vitamin E and fatty acid intervention does not attenuate the progression of atherosclerosis in watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 290-297.
  166. Rapola J M, Virtamo J, Haukka J K, Heinonen O, Albanes D, Taylor P, Huttunen J. Effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of angina pectoris. *JAMA* 1996; 275: 693-698.
  167. Gordon T et al. Menopause and coronary heart disease: the Framingham Study. *Ann Intern Med* 1978; 89: 157-161.
  168. Niki E, Minamisawa, Oikawa M, Komura E. Membrane damage from lipid oxidation induced by free radicals and cigarette smoke. *Ann N York Acad Sc* 1993; (686): 29-38.
  169. Greenberg E, Sporn M. Antioxidant vitamins, cancer, and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 1996; 334: 1189-1190.
  170. Thomas S, Neuzil J, Stocker R. Cosupplementation with coenzyme Q prevents the prooxidant effect of  $\alpha$ -tocopherol and increases the resistance of LDL to transition metal-dependent oxidation initiation. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 687-696.
  171. Maxwell S R J. Can anti-oxidants prevent ischaemic heart disease?. *J Clin Pharm Therap* 1993; 18: 85-95.
  172. Diaz M, Frei B, Vita J, Keaney J. Antioxidants and atherosclerotic heart disease. *N Engl J Med* 1997; 337: 408-416.
  173. Boyd H C, Gown A M, Wolfbauer G, Chait A. Direct evidence for a protein recognized by a monoclonal antibody against oxidatively modified LDL in atherosclerotic lesions from a Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit. *Am J Pathol* 1989; 135: 815-825.
  174. Haberland M E, Fong D, Cheng L. Malondialdehyde-altered protein occurs in atheroma of watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Science* 1988; 241: 215-218.
  175. Witztum J L. Role of oxidised low density lipoprotein in atherogenesis. *Br Heart J* 1993; 69 (suppl): S12-S18.
  176. Yla-Herttuala S, Palinsky W, Rosenfeld M E, Parthasarathy S, Carew T E, Butler S, Witztum J L, Steinberg D. Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J Clin Invest* 1989; 84: 1086-1095.
  177. Witztum J L. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet* 1994; 344: 793-795.
  178. Kummerow F A. Nutrition imbalance and angiotoxins as dietary risk factors in coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 1979; 32: 58-83.
  179. Morel D W, Hessler J R, Chisolm G M. Low density lipoprotein cytotoxicity induced by free radical peroxidation of lipid. *J Lipid Res* 1983; 24: 1070-1076.
  180. Norata G, Roma P, Catapano A. Oxidized LDL induce apoptosis in human endothelial cells. XIth International Symposium on Atherosclerosis' Abstracts, Atherosclerosis 1997; 134 (1,2): 245.
  181. Oiknine J, Aviram M. Oxidation of cellular lipid leads to macrophage activation. 62nd EAS Congress Abstracts 1993, pág 16.
  182. Steinberg D. Antioxidants and atherosclerosis: a current assessment. *Circulation* 1991; 84: 1420-1425.
  183. Zwijsen R M L, Japenga S C, Heijnen A M P, van den Bos R C, Koeman J H. Oxidized LDL induces PDGF-A gene expression in human smooth muscle cells. 62nd EAS Congress Abstracts 1993, pág 139.
  184. Maier J A M, Barengi L, Massardi M L, Pagani F, Statuto M, Bradamante S, Ragnotti G. HDL prevents oxidized LDL induction of monocyte endothelial interactions. 62nd EAS Congress Abstracts 1993, pág 58.
  185. Steinberg D, Witztum J L. Lipoproteins and atherogenesis. Current concepts" *JAMA* 1990; 264: 3047-3052.
  186. Stemme S, Faber B, Holm J, Hansson G K. Evidence for a local, cell-mediated autoimmune response to oxidized LDL in the human atherosclerotic plaque. 62nd EAS Congress Abstracts 1993, pág 131.
  187. Vita J A, Treasure C B, Nabel E C, McLenachan J M, Fish R D, Yeung A C, Vekshtein V I, Selwyn A P, Ganz P. Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. *Circulation* 1990; 81: 491-497.
  188. Gryglewski R J, Palmer R M J, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature* 1986; 320: 454-456.
  189. Hogg N, Darley-Usmar V M, Graham A, Moncada S. Peroxynitrite and atherosclerosis. *Biochemical Society Transactions* 1992; 21: 358-362.
  190. Penn M S, Chisolm G. Oxidized lipoproteins, altered cell function and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1994; 108 (suppl): S21-S29.
  191. Berliner J A, Territo M C, Sevanian A, Ramin S, Kim J A, Bamshad B, Esterson M, Fogelman A M. Minimally modified low density lipoprotein stimulates monocyte endothelial interactions. *J Clin Invest* 1990; 85: 1260-1266.
  192. Maclsaac A I, Thomas J D, Topol E J. Toward the quiescent coronary plaque. *JACC* 1993; 22: 1228-1241.
  193. Rajavashisth T B, Andalibi A, Territo M C, Berliner J A, Navab M, Fogelman A M, Lusis A J. Induction of endothelial cell expression of granulocyte and monocyte-macrophage chemotactic factors by modified low density lipoproteins. *Nature* 1990; 344: 254-257.
  194. Weidtmann A, Scheilte R, Hrboticky N, Pietsch A, Lorenz R, Siess W. Mildly oxidized LDL induces platelet aggregation through activation of phospholipase A2. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 1131-1138.
  195. Witztum J L. Role of oxidised low density lipoprotein in atherogenesis. *Br Heart J* 1993; 69 (suppl): S12-S18.
  196. Iuliano L, Signore A, Vallabajosula S, Colavita A, Camastra C, Ronga G, Alessandri C, Sbarigia E, Fiorani P, Violi F. Preparation and biodistribution of 99mtechnetium labelled oxidized LDL in man" *Atherosclerosis* 1996; 126: 131-141.
  197. Pitas R E, Boyles J, Mahley R W, Bissell D M. Uptake of chemically modified low density lipoproteins in vivo is mediated by specific endothelial cells. *J Cell Biol* 1985; 100: 103-117.
  198. Pech M A, Myara I, Moatti N. Effects of smoking on LDL modifications by endothelial cells. 62nd EAS Congress Abstracts 1993, pág 59.
  199. Esterbauer H, Wäg G, Puhl H. Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. *Br Med Bull* 1993; 49: 566-576.
  200. Blache D, Rodriguez C, Davignon J. Platelet-induced oxidative LDL modification. Xth International Symposium on Atherosclerosis Abstracts, Atherosclerosis 1994; 109 (1,2): 42.
  201. Weber C, Erl W, Weber K, Weber P C. Increased adhesiveness of isolated monocytes to endothelium id prevented by vitamin C intake in smokers. *Circulation* 1996; 93: 1488-1492.
  202. Levine G N, Frei B, Koulouris S N, Gerhard M D, Keaney J F, Vita J A. Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1996; 93: 1107-1113.