



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

VI. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2025eko maiatzaren 28, 29 eta 30a
Bilbo, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)



Aitortu-PartekatuBerdin 4.0

ZIENTZIAK ETA NATURA ZIENTZIAK

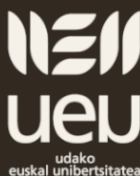
**HDL berreraikien erabilera plasma
lipoproteinen dinamikak
aztertzeko**

*Aitor Ordeñana-Manso,
Telmo Santamaría-Zamorano,
Beñat Larrañaga-Monasterio,
Endika Cabrera-Antón,
Kepa B. Uribe, Asier Benito-Vicente,
Unai Galicia-García,
Asier Larrea-Sebal, Cesar Martin
eta Shifa Jebari-Benslaiman*

171-178 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.vi.05.21>

ANTOLATZAILEA



BABESLEAK



EUSKO JAURLARITZA
GOBIERNO VASCO



LAGUNTZAILEAK



HDL berreraikien erabilera plasma lipoproteinen dinamikak aztertzeko

Aitor Ordeñana-Manso^{1,2}, Telmo Santamaría-Zamorano^{1,2}, Beñat Larrañaga-Monasterio^{1,2}, Endika Cabrera-Antón^{1,2}, Kepa B. Uribe^{1,2}, Asier Benito-Vicente^{1,2}, Unai Galicia-García^{1,2}, Asier Larrea-Sebal^{1,2}, Cesar Martín^{1,2} eta Shifa Jebari-Benslaiman^{1,2}

1 Biofisika Institutua (UPV/EHU, CSIC), 48940 Leioa

2 Biokimika eta Biologia Molekularra Saila, UPV/EHU, 48940 Leioa

shifa.jebari@ehu.eus

aordenana002@ikasle.ehu.eus

Laburpena

Gaixotasun kardiobaskularrak dira heriotza-kausa nagusia gaur egun, eta HDL partikulek kolesterolaren kanporaketan funtsezko rola dute. HDL partikulen imitatzeko sortutako rHDL nanopartikulak terapia potentzial gisa aztertzen ari dira. Lan honetan, DPPCz osatutako rHDL partikulak sintetizatu eta giza plasmarekin inkubatu dira, proteina eta lipidoen eskuratzea aztertzeko. Fluoreszentzia-markaketa eta kromatografia sekuentzialaren bidez isolatu dira, eta proteomikako emaitzek erakutsi dute HDL naturalean ohikoak diren apolipoproteinak bereganatzen dituztela. Honek adierazten du rHDLek HDL partikulak imitatzeko ahalmena dutela eta terapia kardiobaskular berrietarako bidea zabal dezaketela.

Hitz gakoak: apolipoproteina, rHDL, kromatografia, DPPC.

Abstract

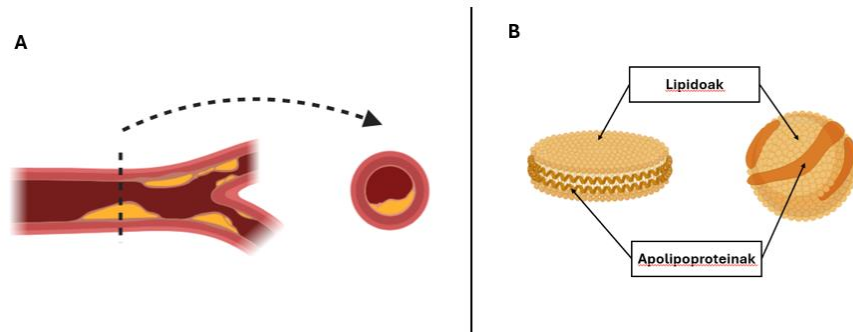
Cardiovascular diseases are currently the leading cause of death, and HDL particles play a fundamental role in cholesterol efflux. Reconstituted HDL (rHDL) nanoparticles, designed to mimic HDL particles, are being investigated as potential therapeutic agents. In this study, DPPC-based rHDL particles were synthesized and incubated with human plasma to analyze their acquisition of proteins and lipids. They were isolated using fluorescent labelling and sequential chromatography, and proteomic results showed that they acquire apolipoproteins commonly found in natural HDL. This indicates that rHDLs have the capacity to mimic HDL particles and could open new avenues for cardiovascular therapies.

Keywords: apolipoprotein, rHDL, chromatography, DPPC.

1. Sarrera eta motibazioa

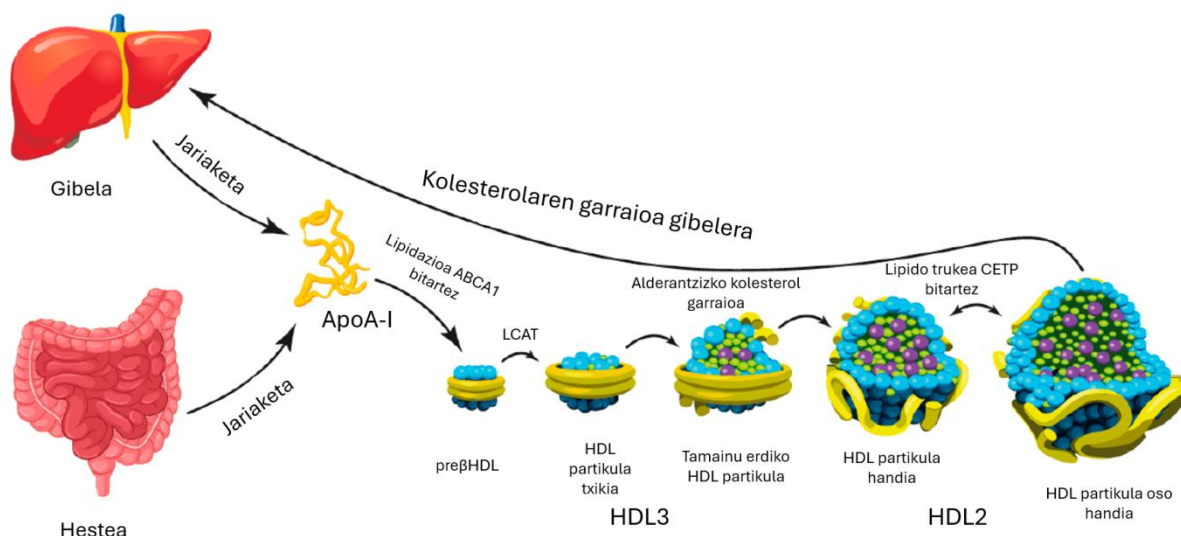
Munduko Osasun Erakundearen arabera, gaur egun, gaixotasun kardiobaskularrak munduko heriotza-kausa nagusia dira. Izan ere, 2019an 17,9 milioi pertsona hil ziren gaixotasun kardiobaskularrengatik, munduko heriotzen % 32a. Gaixotasun kardiobaskularren eragileetako bat aterosklerosia da (Moore et al., 2013). Aterosklerosiaren garapenean, ateroma plaka deitzen den egitura bat eratzen da odol-hodietan, gehiegizko kolesterol pilaketa eta hantura-erantzunaz bereizten den egitura (Moore et al., 2013) (1A. irudia). Kolesterol maila altua jarraituz gero, ateroma plaka tamainaz handitu eta odol-hodia blokeatzeko probabilitatea handituko litzateke, infartua eragin daitekeelarik. Gorputzak kolesterol metaketa horri aurre egiteko dentsitate altuko lipoproteinak ditu (HDL, ingelesez, *High Density Lipoprotein*), proteina eta lipidoz osatutako partikula naturalak (1.B irudia). Horiek kolesterola ehun periferikoetatik gibelera garraiatzen dute gero, kanporatua izan dadin (Phillips, 2014). Beraz, HDLak gorputzeko kolesterol garbitzaileak dira eta horregatik, kolesterol ona moduan ezagunagoak dira (Phillips, 2014).

1. irudia: A. aterosklerosia duen pertsona baten arteriaren irudi eskematikoa. Ateroma plakaren luzetarako eta zeharkako mozketak. Kolore horiz, kolesterol pilaketa adierazten da. **B. lipoproteinen irudi eskematikoa.** Lipoproteinak lipido desberdinez eta apolipoproteinak deitzen diren proteinaz osatutako partikula naturalak dira. Ezkerraldean HDL jaioberrien itxura tipikoa adierazten duen lipoproteina bat dago eta eskumaldean HDL heldu baten egitura esferiko tipikoa. *BioRenderrekin sortutako irudia.*



HDL partikulen biogenesirako, apolipoproteina A-I (ApoA-I) izeneko proteina behar da. proteina hau bai gibellean zein hestean sintetizatu eta odolera jariatzen da. Behin odolean, ApoA-I ehun periferikoetako kolesterola eta lipidoak hartzen hasiko da eta horrela HDL jaioberriak sortuko dira. HDL jaioberriak edo pre β HDLak itxura diskoidalak duten nanopartikulak dira (1.B. irudia). Horiek beste lipido batzuk hartzean tamainaz handitu eta itxura esferikoagoa hartuko dute, HDL helduak eratu arte (1.B. irudia). HDL helduak gibelera itzuliko dira bertan kolesterola transferitzeko. HDL jaioberri eta helduen artean, hainbat azpipopulazio daude (2. irudia), nagusienak: pre β HDL, HDL2 eta HDL3 dira (B. Uribe et al., 2021; Lappegård et al., 2021). pre β HDLak ApoA-I eta lipido oso gutxirekin osatutako HDL partikulak dira, HDL3ak tamaina txikiko HDL partikulak dira, HDL2ak tamaina handiko HDL partikulak dira. Lipido desberdinak beragantzeaz gain, HDL azpipopulazio hauek odoleko beste lipoproteinekin elkarrekiten dute eta lipidoak elkartrukatzeaz gain, proteinak ere elkartrukatu ditzakete. Eta beraz, gibelera iristen diren HDL helduek ApoA-I proteinaz gain, beste batzuk izango ditu, ApoA-II eta ApoE, besteak beste (B. Uribe et al., 2021).

2. irudia: HDL partikulen biogenesiaren laburpen eskematikoa. ApoA-I gibeletik eta hestetik jariatzen da eta ehun periferikoetako zelulekin elkarrekiten hasten da. Zehazki, ABCA1 (ingelesez, *ATP binding cassette A1*) garraiatzaileak kolesterola transferitzen dio ApoA-I proteinari, pre β HDL-ak sortuz. Odoleko LCAT (ingelesez, *lecitin:cholesterol acyltransferase*) eta CETP (ingelesez, *cholesteryl ester transport protein*) entzimek pre β HDL-en tamaina handiagotzen dute lipidoak modifikatuz eta beste batzuk transferituz. HDL3ak HDL2 bihurtu eta azkenik, HDL partikula helduak gibelera bidaiatzen dute. Lappegård, et al., (2021)-etik moldatutako irudia.



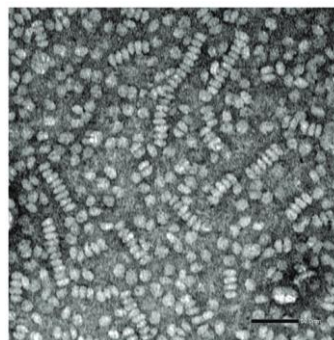
Duela urte batzuk, HDL-kolesterol (HDL-C) maila eta gaixotasun kardiobaskularrak pairatzeko arriskua alderantziz proportzionalak zirela pentsatzen zen; hau da, HDL-C maila altua izateak, gaixotasun kardiobaskularrak izatea ekiditen zuela pentsatzen zen. Hala ere, azken urteetan lortutako emaitzek printzipio hori kontraesaten dute (Lappegård et al., 2021; von Eckardstein et al., 2023). Eta bertatik ondorioztatu zen, kantitatea baino HDL horien konposizioa zela garrantzitsua, hau da azpipopulazio bakoitzaren presentzia odolean. Izan ere, HDL2 eta HDL3 partikulek babes maila ezberdinak dituzte, gaixotasun kardiobaskular ezberdinekin erlazionatu baitira hainbat ikerketetan (Lappegård et al., 2021; von Eckardstein et al., 2023). Hori dela eta, HDL partikula mota bakoitzak odolean duen jokaera ezagutzeak interes nabarmena hartu du.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

HDL partikulen jokaera eta azpipopulazioen garrantzia dela eta, kolesterol kanporaketa laguntzeko HDLak imitatzen dituzten nanopartikulak ekoiztea hainbat laborategien helburua bihurtu da (Zhen et al., 2024). Partikula horiek HDL berreraikiak moduan ezagutzen dira (rHDL, ingelesez, *reconstituted HDL*). rHDLak, kolesterol garbiketa bultzatzeko sintetizatzen dira eta sortutako konposizio batzuk entsegu pre-kliniko eta klinikoetan probatu dira, gaixotasun kardiobaskularrak tratatzeko helburuarekin (Gibson et al., 2021, 2022; Jebari-Benslaiman et al., 2020; Jebari-Benslaiman et al., 2022; Nicholls et al., 2018; Nissen et al., 2003; Tardif et al., 2014).

Gure laborategian, rHDL konposizio desberdinak probatu izan ditugu eta horien artean, efektiboenak aukeratu ditugu hurrengo analisisietarako (Jebari-Benslaiman et al., 2020). rHDL horiek ApoA-1 proteinaz eta DPPC (ingelesez, *1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine*) fosfolipidoz eratutako nanopartikulak dira (3. irudia). rHDL konposizio horren efektibitatea aurreko lanetan azaldu dugu (IkerGazte 2021 eta IkerGazte 2023 edizioetan). Baina horrez gain, rHDLek odoleko beste lipoproteinekiko duten interakzioa aztertu nahi da, partikula hauen jokaera deskribatzeko.

3. irudia: rHDL nanopartikulen mikroskopia elektronikoazko irudia. Irudian DPPC fosfolipidoz osatutako itxura diskoidaleko nanopartikulak, edo rHDLak, ageri dira. Irudia mikroskopia elektroniko baten bidez lortu da. Nanoapartikula bakoitzaren diametroa 10 nm-takoa da, HDL naturalen antzekoa. Eskala lerroa 50 nm.



Proiektu honen helburua, DPPC rHDLak odol plasmarekin inkubatzekoan bereganatuko zituzten proteina eta lipidoak identifikatzea zen. Testuinguru horretan, DPPC rHDLak giza plasmarekin, inkubatu ziren. Giza plasman lipoproteina naturalak daude eta rHDL partikulek beste lipoproteinetatik proteinak eta lipidoak bereganatuko zituztela espero zen. Inkubazioaren ostean, hainbat tekniken bidez rHDLak purifikatu ziren. Hau da, plasmaren beste osagaietatik bereizi eta berreskuratutako laginen konposizioa aztertu zen. Zehazki, rHDL partikulek plasma inkubazioetan eskuratutako proteinak identifikatu ziren.

3. Ikerketaren muina

3.1 rHDL-en sorrera

Laborategian ondo finkatutako rHDLak sintetizatzeko protokolo baten bidez (Jebari-Benslaïman et al., 2020), DPPC eta ApoA-I apolipoproteinazko rHDLak ekoiztu ziren. rHDLak behin sortuta, purifikatu eta haien sintesia egokia izan dela konfirmatzeko, hainbat teknika biofisiko erabili ziren. Teknika horiei esker, nanopartikulak nanodisko itxura zutela eta ApoA-I egoera egokian lotu zutela frogatu zen (3. irudia).

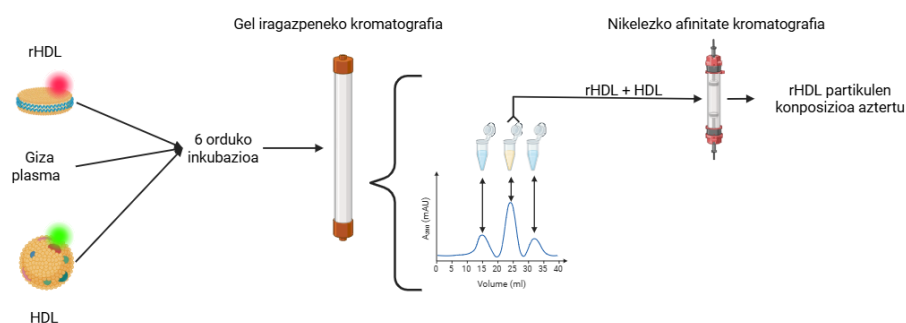
3.2 rHDL partikulen eta HDL partikulen banaketa plasmako beste osagaietatik

rHDLak, giza plasmarekin inkubatu ziren, rHDL eta plasmaren arteko apolipoproteinen eta lipidoen arteko elkartrukea baimentzeko. Giza plasman zelulak ez diren bestelako konposatuak daude, hala nola, lipoproteinak; eta, esan bezala, lan honen helburua, rHDLak odol plasmarekin inkubatzeko bereganatuko zituzten proteina eta lipidoak identifikatzea zen. Beraz, rHDL sintetikoak giza plasman dauden lipoproteina partikuletatik bereizi behar ziren, rHDL partikulen konposizioa aztertu ahal izateko.

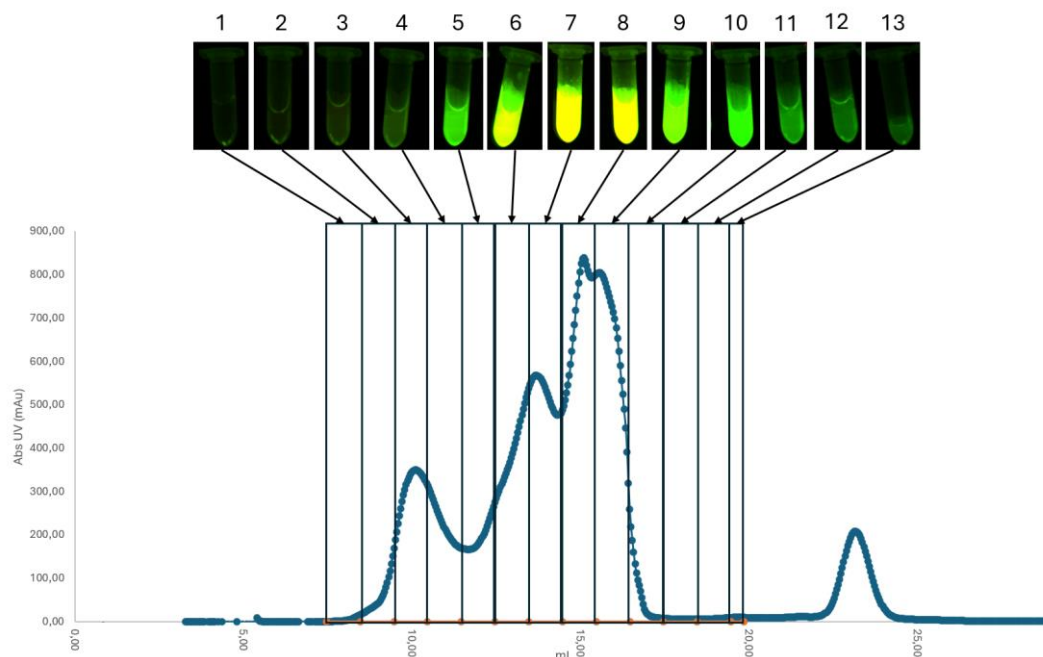
Horretarako, markaketa fluoreszentea erabili zen. Hau da, rHDL sintetikoak markatzaile fluoreszente gorri batekin markatu ziren, DiI deitzen dena (rHDL-DiI). Bestalde, kontrol moduan, purifikatutako HDL naturalak, kolore berde fluoreszenteaz markatu ziren, FITC markatzaileaz (HDL-FITC). Horri esker, fluoreszentzia gorria eta berdeari esker, nanopartikulak identifikatu zitekeen.

rHDL-DiI eta HDL-FITC partikulak plasmarekin inkubatu ziren 6 orduz (4. irudia). Denbora horretan rHDL partikulak plasman dauden beste osagaiekin interakzionatzeko aukera dute, lipidoak eta proteinak elkartrukatzeko, alegia. Horren ostean, rHDLak plasmaren beste osagaietatik bereizteko gel-iragazpeneko kromatografia bidez banatu ziren. Kromatografia mota honetan, soluzio batean dauden konposatuak tamainaren arabera bereizten dira. Horretarako, lagina zutabe kromatografiko batean sartzen dira eta bertatik osagaiak banan-banan jasotzen dira (4. irudia). Bereizte teknika hauetan kromatograma deitzen den grafikoa lortu ohi da (5. irudia). Grafiko horretan agertzen den tontor bakoitza plasman zegoen osagai bati dagokio: rHDL edo beste lipoproteinen bat adibidez. Gure rHDLak fluoreszentsiaz markatu zirenez, zutabetik tontor bakoitzari dagokion laginaren fluoreszentzia aztertu zen. Hau da, frakzio bakoitzaren fluoreszentzia, eta analisi horretatik, ondorioztatu zen 6, 7 eta 8. frakzioetan rHDL-DiI partikulak zeudela. Horrez gain, HDL-FITC partikulak antzeko tamaina dutenez, lagin berdinetan agertu ziren (6, 7 eta 8). Horregatik, lagin horiek kolore horia adierazten zuten (fluoreszentzia gorria eta berdearen batuketa) (5. irudia).

4. irudia: proiektuaren eskema esperimental. rHDLak eta HDLak giza plasmarekin nahastu eta 6 orduz inkubatu ziren; ondoren, gel iragazpeneko kromatografiaren bitartez, inkubaziotik lortutako laginaren osagaiak jaso ziren, frakzioa desberdinetan. Frakzio bakoitzaren fluoreszentzia aztertu eta rHDL eta HDLak zituzten frakzioak batu ziren. Jarraian, lagin horietatik nikelezko afinitate kromatografiaren bitartez rHDLak purifikatu ziren. Azkenik, purifikatutako rHDL partikulen proteina konposizioa aztertu zen. *BioRenderrekin sortutako irudia.*

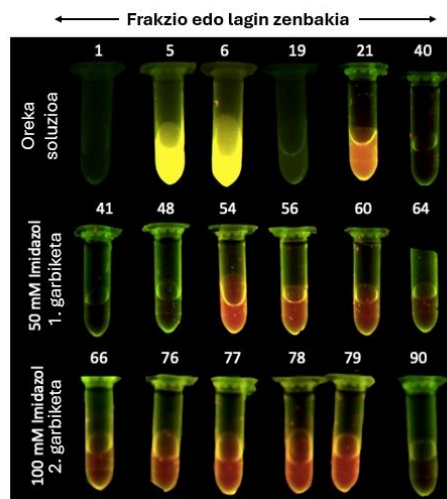


5. irudia: plasmarekin inkubatutako rHDL partikulen purifikazioa gel iragazpeneko kromatografia bidez. Beheko grafikoa kromatogramari dagokio. Kurba urdinak absorbantzia adierazten du. Tontor bakoitza plasmaren osagai bati dagokio. Kromatografiaren laginak jaso ziren, 13 frakzio guztira. 6, 7 eta 8. frakzioek fluoreszentzia horia erakusten dute, hau da rHDL partikuletako fluoreszentzia gorria, eta HDL partikuletako fluoreszentzia berdea aldi berean. Frakzio horiek jaso eta batu ziren hurrengo pausurako.



3 lagin horiek nahastu eta rHDLak HDLetatik bereizteko beste kromatografia bat egin zen. Kasu honetan nikelzko afinitate kromatografia bat egin zen (4. irudia). rHDL partikulen ApoA-I proteinak histidina isats bat du (histidina aminoazido bat da). Eta histidina, zutabe kromatografikoan dagoen nikelera afinitate handiz lotzen da. Beraz, kromatografia mota honetan nikelera lotzen diren konposatuak harrapatuta geratzen dira, kasu honetan rHDLak. Beraz, lagina zutabeaz sartzean, HDL naturalak ez dira itsatsiko ez baitute histidina isatsik. Eta HDL naturalak hasieran erabilitako oreka soluzioarekin batera kanporatu ziren (6. irudia). Gero, rHDLak zutabetik askatzeko, imidazol errektiboa erabili zen. Izan ere, imidazolak nikelera atxikitutako partikulak askatzen ditu. Imidazolekin bi garbiketa egin ziren; lehena, 50 mM imidazol zuen eta bigarrena 100 mM. Hiru soluzioekin lortutako frakzio guztien fluoreszentzia aztertu zen HDL eta rHDLak identifikatzeko. Izan ere, markatzaile fluoreszenteak oraindik daude rHDL eta HDL partikulei loturik (6.irudia).

6. irudia: rHDLen purifikazioa nikelzko afinitate kromatografiaren bidez. rHDL eta HDL fluoreszenteak zituzten laginak, nikelzko kromatografia batean sartu ziren. Oreka soluzioarekin, nikel zutabeari lotu ez ziren konposatuak askatu ziren. Eta imidazola gehitu zenean, nikelari lotutako partikulak askatzen hasi ziren. Kasu honetan rHDLak, histidina isatsa dela eta nikelera atxikitzen dira. Baina imidazola gehituzerakoan askatzen hasten dira (54 eta 79. laginen bitartean rHDLak askatzen dira fluoreszentzia gorria dutenak). Irudian jasotako frakzio bereizgarrienak soilik adierazten dira, ulermena errazteko.



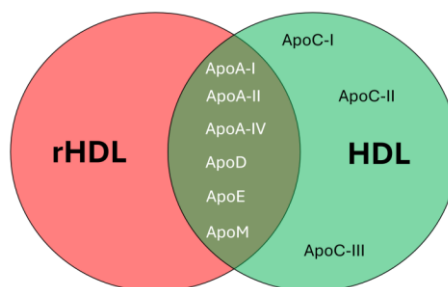
6. irudian ikusi daitekenez, berdez markaturiko HDLak eta gorritz markaturiko rHDLak, denbora desberdinetan askatzen dira zutabetik. HDLak ez dira nikelera atxikitzen eta beraz, oreka soluzioarekin batera askatu ziren. Baina, irudian ikusi daitekenez, oreka soluzioarekin batera jasotzen diren laginen fluoreszentzia horia da, berdea izan beharrean. Horrek adierazten du rHDLak ere HDLekin batera askatzen direla neurri batean. Horren azalpena zutabearen atxikipen efizientzian egon daiteke. Hala ere, rHDL gehiengoa, imidazola duen garbiketa soluzioarekin askatzen dira (50 mM eta 100 mM). Lehen garbiketa soluzioarekin (50 mM), 54 eta 60 frakzioen artean askatu ziren. Eta imidazol kontzentrazioa handitzean (100 mM), rHDL gehiago askatu ziren, 66 eta 79 frakzioen artean.

Afinitatezko kromatografia burutu ostean, lehen garbiketa soluzioarekin jasotako frakzioetatik fluoreszentzia gorria gehien igortzen zutenak batu, eta haien proteina edukiera aztertu zen. Oreka soluzioaren eta bigarren garbiketa soluzioko frakzio gorriak oraindik ez dira aztertu.

3.3 Proteomika aurretiazko datuek rHDLek plasmako apolipoproteinak bereganatzen zituztela adierazi zuten.

Plasmarekin inkubatu ostean purifikatutako rHDL partikulen eta HDL naturalen proteina konposizioak aztertu ziren. Horretarako partikula bakoitzaren laginak proteomika zerbitzura bidali ziren (SGIker, EHU). Proteomika analisi batean, lagin baten proteina konposizioa identifikatu eta kuantifikatu daiteke. 7. irudian adierazten den bezala, apolipoproteina C familia izan ezik, apolipoproteina A, D, E eta M aurkitu ziren bai rHDL zein HDL laginetan. rHDLak sintetizatzerako orduan ApoA-I soilik erabili zen. Baina, proteomika emaitzek adierazi zuten, rHDLek plasmarekin inkubatzeko ApoA-II, ApoA-IV, ApoD, ApoE eta ApoM proteinak bereganatu zituen. Gainera, rHDL partikulek lortutako apolipoproteinak giza HDL partikula naturaletan aurkitu ohi dira. Beraz, rHDLak pre β HDLak bezala, plasmako lipoproteinekin elkarrekiteko eta proteinak bereganatzeko gai dira.

7. irudia: rHDLak plasmarekin inkubatu ondoren, HDL partikuletan aurkitu daitezkeen ohiko apolipoproteinak eskuratu zituzten. Irudiko apolipoproteina guztiak proteomika analisiaren bidez identifikatutako apolipoproteinak dira, zuriz idatzitako apolipoproteinak, rHDL eta HDL partikula mota bietan identifikatutako apolipoproteinak dira. Beltzez idatzitako apolipoproteinak, HDL partikuletan soilik aurkitutako apolipoproteinak dira.



4. Ondorioak

Gure emaitzek erakusten dute berreraikitako HDL nanopartikulek (rHDL), giza plasmarekin inkubatu ondoren, HDL-etan egon ohi diren apolipoproteinak eskuratu ditzaketela. Zehazki, rHDL-ek hainbat apolipoproteina bereganatu zituzten, hala nola ApoA-II, ApoE eta ApoM, HDL endogenoen funtzio antiaterogenoekin lotuak. Honek iradokitzen du rHDL-ek HDL naturalen portaera zirkulatzailea neurri batean imitatu dezaketela.

Markaketa fluoreszentea eta kromatografia sekuentzialaren konbinazioak rHDL partikulen isolamendu eta karakterizazio eraginkorra ahalbidetu zuen, ondoren proteomika azterketak egin ahal izateko. Oro har, gure datuek rHDL-ak HDL naturalen dinamikak aztertzekeko eredu funtzionala eta praktikoa dela adierazi zuten.

5. Etorkizunerako planteatzeko den norabidea

Hurrengo urratsa, proteomika analisia sakontzea izango litzateke. Horrez gain, rHDL-en lipido konposizioa aztertu nahi da, plasman elkartrukaturako lipidoak identifikatzeko. Horrez gain, mikroskopia elektroniko bidezko irudiak eskuratu nahi dira. Bestalde, rHDL-ak eskuraturako apolipoproteinen jatorria ezagutzeko, rHDL-ak lipoproteina espezifikoekin inkubatu nahi da eta banan-banan proteina transferentzia hori nondik datorren identifikatu.

6. Erreferentziak

- B. Uribe, K., Benito-Vicente, A., Martin, C., Blanco-Vaca, F., & Rotllan, N. (2021). (r)HDL in theranostics: how do we apply HDL's biology for precision medicine in atherosclerosis management? *Biomaterials Science*, 9(9), 3185–3208. <https://doi.org/10.1039/D0BM01838D>
- Gibson, C. M., Kastelein, J. J. P., Phillips, A. T., Aylward, P. E., Yee, M. K., Tendera, M., Nicholls, S. J., Pocock, S., Goodman, S. G., Alexander, J. H., Lincoff, A. M., Bode, C., Duffy, D., Heise, M., Berman, G., Mears, S. J., Tricoci, P., Deckelbaum, L. I., Steg, P. G., ... Mehran, R. (2021). Rationale and design of ApoA-I Event Reducing in Ischemic Syndromes II (AEGIS-II): A phase 3, multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group study to investigate the efficacy and safety of CSL112 in subjects after acute myocardial infarction. *American Heart Journal*, 231, 121–127. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2020.10.052>
- Gibson, C. M., Kazmi, S. H. A., Korjian, S., Chi, G., Phillips, A. T., Montazerin, S. M., Duffy, D., Zheng, B., Heise, M., Liss, C., Deckelbaum, L. I., Wright, S. D., & Gille, A. (2022). CSL112 (Apolipoprotein A-I [Human]) Strongly Enhances Plasma ApoA-I and Cholesterol Efflux Capacity in Post-Acute Myocardial Infarction Patients: A PK/PD Substudy of the AEGIS-I Trial. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 27. <https://doi.org/10.1177/10742484221121507>
- Jebari-Benslaïman, S., Uribe, K. B., Benito-Vicente, A., Galicia-García, U., Larrea-Sebal, A., Alloza, I., Vandenbroeck, K., Ostolaza, H., & Martín, C. (2020). Cholesterol Efflux Efficiency of Reconstituted HDL

- Is Affected by Nanoparticle Lipid Composition. *Biomedicines*, 8(10), 373. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8100373>
- Jebari-Benslaiman, S., Uribe, K. B., Benito-Vicente, A., Galicia-Garcia, U., Larrea-Sebal, A., Santin, I., Alloza, I., Vandenbroeck, K., Ostolaza, H., & Martín, C. (2022). Boosting Cholesterol Efflux from Foam Cells by Sequential Administration of rHDL to Deliver MicroRNA and to Remove Cholesterol in a Triple-Cell 2D Atherosclerosis Model. *Small*, 18(13). <https://doi.org/10.1002/sml.202105915>
- Lappegård, K. T., Kjellmo, C. A., & Hovland, A. (2021). High-Density Lipoprotein Subfractions: Much Ado about Nothing or Clinically Important? *Biomedicines*, 9(7), 836. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9070836>
- Moore, K. J., Sheedy, F. J., & Fisher, E. A. (2013). Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance. *Nature Reviews Immunology*, 13(10), 709–721. <https://doi.org/10.1038/nri3520>
- Nicholls, S. J., Puri, R., Ballantyne, C. M., Jukema, J. W., Kastelein, J. J. P., Koenig, W., Wright, R. S., Kallend, D., Wijngaard, P., Borgman, M., Wolski, K., & Nissen, S. E. (2018). Effect of Infusion of High-Density Lipoprotein Mimetic Containing Recombinant Apolipoprotein A-I Milano on Coronary Disease in Patients With an Acute Coronary Syndrome in the MILANO-PILOT Trial. *JAMA Cardiology*, 3(9), 806. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2018.2112>
- Nissen, S. E., Tsunoda, T., Tuzcu, E. M., Schoenhagen, P., Cooper, C. J., Yasin, M., Eaton, G. M., Lauer, M. A., Sheldon, W. S., Grines, C. L., Halpern, S., Crowe, T., Blankenship, J. C., & Kerensky, R. (2003). Effect of Recombinant ApoA-I Milano on Coronary Atherosclerosis in Patients With Acute Coronary Syndromes. *JAMA*, 290(17), 2292. <https://doi.org/10.1001/jama.290.17.2292>
- Phillips, M. C. (2014). Molecular Mechanisms of Cellular Cholesterol Efflux. *Journal of Biological Chemistry*, 289(35), 24020–24029. <https://doi.org/10.1074/jbc.R114.583658>
- Tardif, J.-C., Ballantyne, C. M., Barter, P., Dasseux, J.-L., Fayad, Z. A., Guertin, M.-C., Kastelein, J. J. P., Keyserling, C., Klepp, H., Koenig, W., L'Allier, P. L., Lesperance, J., Luscher, T. F., Paolini, J. F., Tawakol, A., Waters, D. D., Pfeffer, M., Brown, V., Rouleau, J., ... Weinstein, D. (2014). Effects of the high-density lipoprotein mimetic agent CER-001 on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: a randomized trial. *European Heart Journal*, 35(46), 3277–3286. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehu171>
- von Eckardstein, A., Nordestgaard, B. G., Remaley, A. T., & Catapano, A. L. (2023). High-density lipoprotein revisited: biological functions and clinical relevance. *European Heart Journal*, 44(16), 1394–1407. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac605>
- Zhen, J., Li, X., Yu, H., & Du, B. (2024). High-density lipoprotein mimetic nano-therapeutics targeting monocytes and macrophages for improved cardiovascular care: a comprehensive review. *Journal of Nanobiotechnology*, 22(1), 263. <https://doi.org/10.1186/s12951-024-02529-x>

7. Eskerrak eta oharrak

Ikerketa hau Eusko Jaurlaritzaren 2021eko Talde Kontsolidatuek (449IT1720-22) eta Zientzia, Berrikuntza eta Unibertsitate Ministerioaren Ezagutza Sortzeko Proiektuak (PID2022-136788OB-I00) finantziatu zuten. T. S-Z., B. L-M. eta E. C-A. Ikasiker (2024-2025) dirulaguntzak jaso zituzten, A. O-M, aldiz, JAE Intro (CSIC 24-25) dirulaguntza.