

Interés terapéutico de las estatinas en el tratamiento de la aterosclerosis

Therapeutical interest of statins in the treatment of atherosclerosis

ÁLVAREZ DE SOTOMAYOR, M.; HERRERA, M. D.; PÉREZ-GUERRERO, C. Y MARHUENDA, E.

Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/ Prof. García-González s7n. 41012 Sevilla. España. E-mail: aldeso@fafar.us.es

RESUMEN

Los inhibidores de la HMG-Co A reductasa o estatinas, son fármacos muy utilizados en el tratamiento de la hipercolesterolemia, ya que consiguen disminuir la concentración plasmática de lipoproteína de baja densidad (LDL) regulando la síntesis endógena de colesterol y por tanto, de receptores para LDL.

Recientemente se ha comprobado como el tratamiento prolongado con estos fármacos disminuyen la mortalidad y morbilidad cardiovascular. Este fenómeno puede explicarse por los efectos beneficiosos directos de las estatinas en el desarrollo de la placa de ateroma. Las estatinas disminuyen la proliferación y migración de células de musculatura lisa vascular e inducen apoptosis de estas células. También previenen la oxidación de LDL y la formación de células espumosas, reducen la respuesta inflamatoria asociada a la aterosclerosis, normalizan los fenómenos de coagulación y fibrinólisis y por último mejoran significativamente la función endotelial. Todas estas propiedades parecen estar mediadas por compuestos isoprenoides intermediarios de la ruta metabólica de la HMG-Co A reductasa, y son independientes de la concentración de colesterol en el medio.

Por tanto, las estatinas también podrían ser utilizadas en enfermedades asociadas a disfunción endotelial independientemente de las cifras analíticas de LDL, tal y como sucede en la hipertensión.

PALABRAS CLAVE: Estatinas. HMG-Co A reductasa. Aterosclerosis. Óxido nítrico. LDL. Endotelio.

ABSTRACT

HMG-Co A reductase inhibitors or statins, are widely used drugs in the treatment of hypercholesterolemia. They lower plasmatic concentration of low density lipoprotein (LDL) by regulating cholesterol synthesis and consequently synthesis of LDL receptors.

Chronic treatment with these drugs has recently shown to be able to reduce cardiovascular-related morbidity and mortality. This fact could be explained by a direct benefic effect of statins in development of atherosclerotic plaque. Statins reduce vascular smooth muscle cell proliferation and migration, as well as they induce apoptosis of these cells. They also prevent LDL oxidation and foam cell formation, reducing inflammatory response associated to atherosclerosis, normalising coagulation and fibronolysis and improving endothelial function. All these properties seem to be mediated by intermediary isoprenoid compounds from HMG-Co A reductase metabolic pathway and do not depend of cholesterol concentration in the medium.

Thus, statins could also be used in the treatment of some diseases associated to endothelial disfunction, independently of analytical LDL values, like hypertension.

KEY WORDS: Statins. HMG-Co A reductase. Atherosclerosis. Nitric oxide. LDL Endothelium.

INTRODUCCIÓN

La aterosclerosis es la principal causa de mortalidad y morbilidad en la sociedad occidental, originando infartos de miocardio y cerebrales, aneurisma aórtico y vasculopatía periférica.

Es causa del 50% de la mortalidad total en Estados Unidos y Europa Occidental, en contraste con el cancer que origina aproximadamente el 23% del total de muertes (WHO 1994).

Investigaciones clínicas demuestran que las lesiones ateroscleróticas, de manera similar a lo que sucede en animales de experimentación, pueden revertir clínicamente si se trata de forma agresiva la hipercolesterolemia, por ejemplo, con inhibidores de la HMG-CoA reductasa. Sin embargo no se demuestra completamente hasta 1994, fecha en la que la publicación del estudio 4S (Scandinavian Simvastatin Survival Study), pone por primera vez de manifiesto que un tratamiento hipocolesterolémico aumenta la supervivencia. En éste, se ve como el tratamiento con simvastatina a largo plazo puede prevenir el 42% de las muertes por enfermedad coronaria y el 33% de los infartos esperados. En el estudio

comparativo con otros fármacos hipolipemiantes se comprueba que los inhibidores de la HMG-CoA reductasa son más caros que los fibratos, pero más efectivos y mejor tolerados. Por otro lado, las resinas tienen un coste muy elevado por causa de las dosis tan altas que son necesarias (Scandinavian Simvastatin Survival Study Group 1994).

Otra de las ventajas de las estatinas frente al resto de los fármacos hipocolesterolémicos, es que afectan a procesos implicados en la aterosclerosis, como la respuesta inflamatoria, la fibrinólisis y coagulación, la proliferación celular y la función endotelial. Estos efectos son en general independientes de sus propiedades hipocolesterolémicas.

INTRODUCCIÓN A LA FISIOPATOLOGÍA DE LA ATROSCLEROSIS

Ateroma y aterosclerosis derivan del griego, *athere*, que significa adherir, *oma*, que significa masa y *skleros*, que quiere decir duro. Estos términos, describen muy bien la naturaleza de las lesiones que caracterizan esta patología degenerativa de los vasos sanguíneos. La aterosclerosis se define como la combinación entre diversos grados de alteraciones arteriales en su capa íntima por acumulación local de lípidos, de los constituyentes sanguíneos y de tejido fibroso, acompañado por alteraciones de la capa media de la pared vascular.

Dos de los factores más relacionados con la aparición de aterosclerosis son, hiperlipidemia e hipertensión arterial. Así pues, esta patología raramente afecta a sujetos cuyo colesterol sérico está por debajo de los 4 mmol/L, ni tampoco afecta a las venas, a menos que se las exponga a unos niveles de presión sanguínea similares a los arteriales. Otros determinantes de la aterosclerosis son la edad y el sexo, ya que también influyen respectivamente sobre la concentración de colesterol en plasma y sobre la relación de LDL (lipoproteína de baja densidad «low density lipoprotein») y HDL (lipoproteína de alta densidad «high density lipoprotein»).

Las partículas de HDL poseen la capacidad de captar colesterol libre de otras lipoproteínas y de diversos tejidos, incluyendo la pared arterial. Este colesterol es esterificado por acción de la lecitina-acil transferasa (LCAT) y transportado al torrente sanguíneo a través de los vasos linfáticos. Por tanto, el flujo de coleste-

rol hacia fuera y hacia dentro de la pared arterial se ve influido por la proporción entre LDL y HDL en el fluido intersticial. Los factores hemodinámicos ayudan a determinar la localización de la aterosclerosis en determinadas zonas.

El tabaquismo es el tercero de los factores de riesgo en importancia, probablemente ejerce sus principales efectos sobre el componente trombotogénico de la aterosclerosis, por un aumento en los niveles de fibrinógeno.

Engrosamiento de la capa íntima e inicio de la aterosclerosis

La lesión característica de la aterosclerosis es la placa fibrosa, que consiste en una cápsula de células musculares y tejido fibroso cubierta por una capa de endotelio y una zona central que contiene material lipídico (Fig. 1). Se considera que esta lesión surge como respuesta a una serie de agentes nocivos y se admite que existen varios mecanismos patogénicos que contribuyen a la formación de las placas (Ross 1986; Steinberg 1987), es la llamada hipótesis sobre la respuesta a la agresión.

Esta hipótesis, está basada en las primeras teorías de Vichow y fue formulada por Ross y colaboradores a mediados de los 70 y posteriormente revisada (Ross 1986). Postula, que los estímulos mecánicos, químicos, tóxicos, víricos o inmunológicos producen una lesión endotelial, a

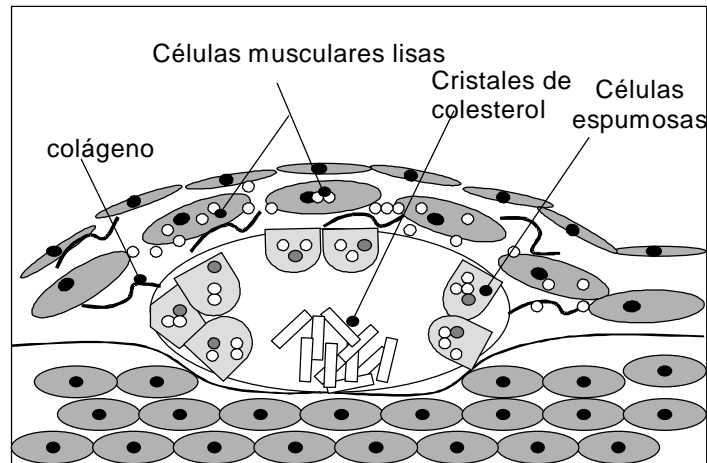


FIGURA 1.- Diagrama que representa una placa de ateroma, en la que se observa la cápsula externa formada por colágeno y células musculares lisas y la zona central, que contiene células espumosas y cristales de colesterol extracelulares.

la que sigue la elaboración de factores que conducen a la migración y proliferación de células de músculo liso hacia la capa íntima y a la secreción de componentes de tejido conjuntivo, como el colágeno, los proteoglicanos y el tejido elástico. La repetición o cronicidad de la lesión, da lugar a la aparición de la placa ateromatosa típica. La hipercolesterolemia acentúa considerablemente las lesiones al aumentar la infiltración de lípidos, teniendo en este estadio la apariencia de una línea grasa.

Importancia de las LDL oxidadas en el desarrollo de la aterosclerosis

Estudios *in vitro* han demostrado que las lipoproteínas LDL, y en particular, sus derivados oxidados, son lesivos para el endotelio y juegan un papel importante en la patogénesis de la aterosclerosis y disfunción endotelial (Steinberg 1991; Steinberg 1995).

Se ha comprobado el papel etiológico del incremento de LDL en la aterosclerosis, ya que favorecen la formación de células espumosas, característica histológica de esta enfermedad. Aunque los monocitos poseen receptores para LDL, éstos sufren una autorregulación tan pronto como aumenta el contenido de colesterol en la célula; de manera que no es posible convertir los monocitos en células espumosas exponiéndolos simplemente a LDL nativa *in vitro*. Sin embargo, la LDL, puede sufrir un proceso de oxidación tanto

en células endoteliales, musculares lisas, como en macrófagos, resultando una lipoproteína llamada LDL oxidada (LDLox) que contiene modificaciones en la apolipoproteína B-100 y en el anillo de lisina, así como lisofosfatidilcolina en lugar de fosfatidilcolina (Parthasarathy et al. 1985) (Fig. 2).

La oxidación de las LDL parece ser que se lleva a cabo en la pared arterial, y más concretamente en las que presentan un principio de lesión aterosclerótica, ya que contienen altos niveles de iones de hierro y cobre (Cox y Cohen 1996). A pesar de que se han enunciado varias hipótesis sobre el mecanismo de esta oxidación, éste no está todavía aclarado. Se han implicado en esta reacción al radical superóxido a través de la formación de peroxinitrito (Christien et al. 1994) y a la actividad fosfolipasa D de los macrófagos que hace las LDL más sensibles a la acción oxidante de los cationes metálicos (Aviram y Mahor 1994).

Esta LDLox, es captada por el receptor scavenger de los macrófagos, acumulando estas células colesterol esterificado y convirtiéndose entonces en células espumosas. Además, se forman complejos inmunológicos entre LDLox y anticuerpos anti-LDLox y se produce una disminución en la síntesis de NO endotelial (favoreciéndose la vasoconstricción y la agregación plaquetaria). La LDLox también es capaz de favorecer la síntesis de factores de crecimiento y moléculas de adhesión que atraen elementos circulantes hacia la pared vascular (Holvoet y Co-

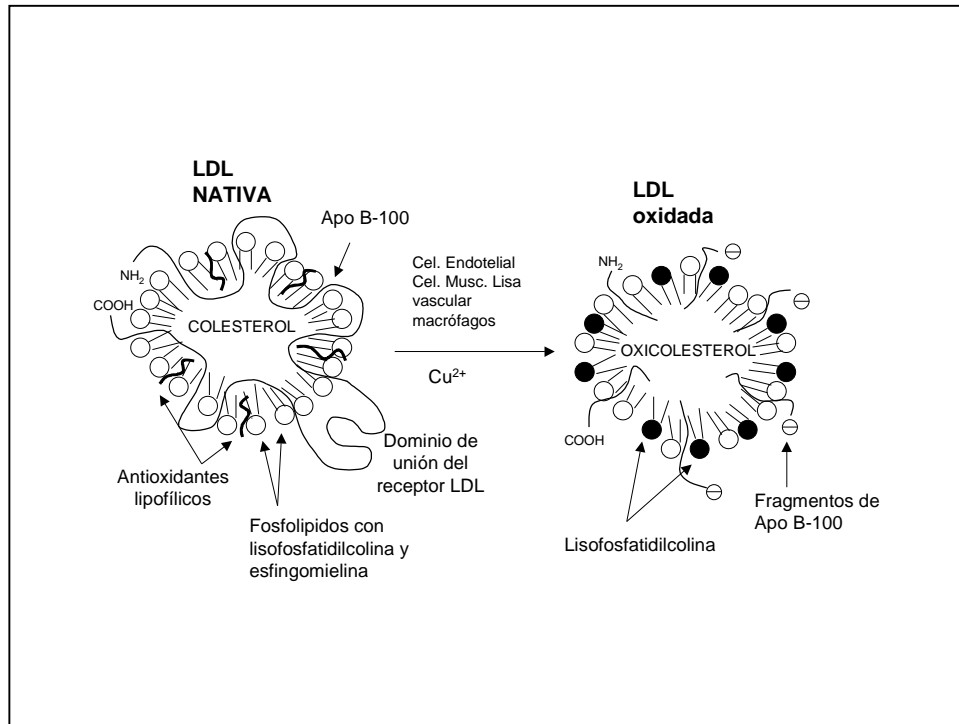


FIGURA 2.- Representación esquemática de la conversión de la LDL nativa en LDL oxidada y los cambios físicoquímicos que acompañan dicha oxidación.

hen 1994), incrementándose la síntesis de citoquinas o moléculas inflamatorias (Bui et al. 1996). Por último, la LDLox ejerce una acción quimiotáctica sobre monocitos, atrayendo más monocitos a la placa ateromatosa. Todos estos eventos contribuyen al desarrollo de la lesión (Fig. 3).

Disfunción vasomotora asociada a la aterosclerosis

En pacientes con aterosclerosis, se ha observado la aparición de disfunción vasomotora, asociada principalmente a daño en el endotelio. Así, se comprobó, que mientras la infusión de acetilcolina produce vasodilatación arteriolar en individuos sanos, en pacientes con aterosclerosis, se produjo una respuesta contráctil (Ludmer et al. 1986). De hecho, se sugiere que esta disfunción vasomotora es anterior a la aparición de la lesión aterosclerótica y está directamente relacionada con el incremento de los niveles de LDLox en plasma (Celermajer et al. 1992). Esta disfunción aparece también en lechos vasculares que no desarrollan lesiones ateroscleróticas (Selke et al. 1991; Anderson et al. 1995a). Tras una terapia que disminuyó la concentración plasmática

de lípidos sin reducir la placa ateromatosa, comenzó a observarse una normalización de la función vasomotora (Treasure et al. 1995; Anderson et al. 1995b); esta mejora también se pudo ver en pacientes que habían estado sometidos a un tratamiento con antioxidantes durante un largo periodo de tiempo (Stewart-Lee et al. 1994; Keaney et al. 1994) lo cual evitaría el incremento de LDLox que aparece en la hipercolesterolemia.

Recientemente se ha comprobado que las LDLox no sólo están implicadas en el origen de los cambios morfológicos que dan lugar a la aterosclerosis, sino que también se encuentran involucradas en muchas alteraciones de la actividad vasomotora que acompañan a esta enfermedad. Al exponer arterias aisladas a concentraciones patológicamente relevantes de LDLox, se observó que la respuesta a distintos agonistas con acción mediada por el endotelio vascular, como acetilcolina, serotonina y trombina, se veía seriamente afectada (Tanner et al. 1991; Simon et al. 1990). Este efecto aparecía cuando los vasos sanguíneos eran expuestos a LDLox, pero nunca en presencia de LDL nativa. Las relajaciones más afectadas por LDLox, son aquellas que están mediadas fundamentalmente por la formación de

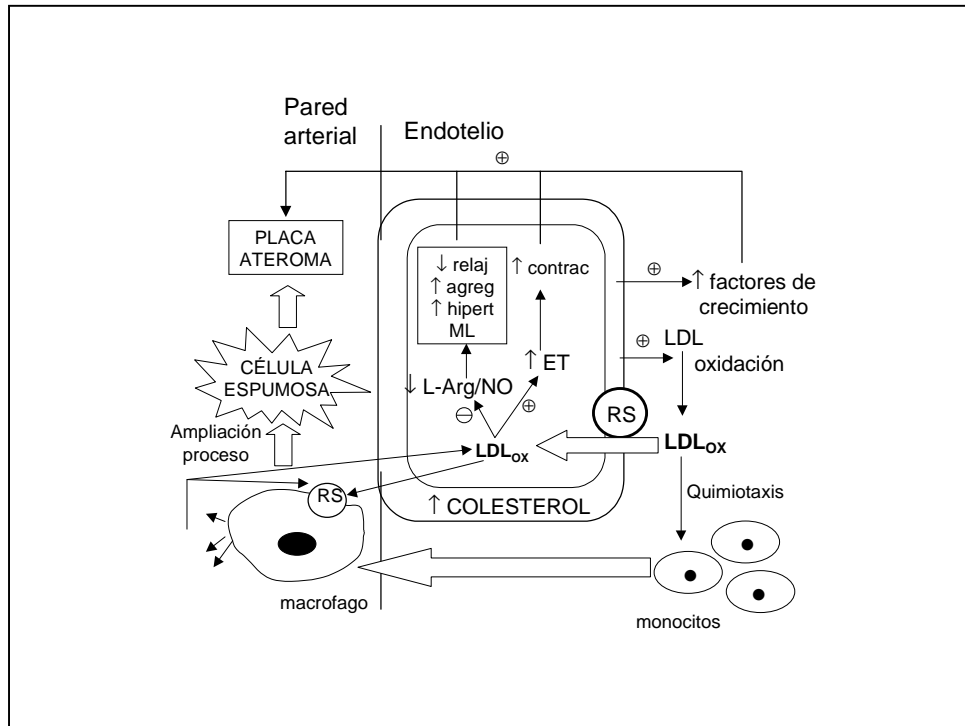


FIGURA 3.- Esquema del papel principal de la lipoproteína de baja densidad oxidada (LDLox) en la formación de la placa de ateroma y su implicación en la disfunción endotelial asociada a la aterosclerosis. La oxidación de la lipoproteínas de baja densidad (LDL) se ve favorecida por el aumento de colesterol en las células endoteliales. Las LDLox, se unen al receptor «scavenger» (RS) y se incorporan a la célula endotelial interfiriendo negativamente con la síntesis de óxido nítrico (NO) a partir de L-Arginina (L-Arg). Las LDLox también son un factor quimiotáctico para los monocitos, que pasan a la pared arterial, ya los macrófagos, favorecen la formación de células espumosas al unir LDLox a su RS y amplifican el proceso ya que sintetizan gran cantidad de LDLox.

NO. Para explicar este hecho, se han sugerido varios mecanismos:

- Inactivación directa del NO liberado por interacción con LDLox (Chin et al. 1992).
- Disminución de la bioactividad del NO liberado (Myers et al. 1994).
- Disminución de los niveles de ARN mensajero de NO sintasa, y como consecuencia, menor cantidad de NO sintasa proteína (Hirata et al. 1995b).

A pesar de no estar aún completamente esclarecido el mecanismo por el cual LDLox es capaz de afectar a las relajaciones mediadas por NO, se cree que están involucrados tanto efectos crónicos como agudos de esta lipoproteína (Fig. 4).

Las lipoproteínas LDLox, podrían también estimular la liberación de factores constrictores por parte del endotelio. Se ha comprobado, que la estimulación con LDLox favorece la expresi-

ón de ARN mensajero de endotelina-1 y su posterior liberación (Boulanger et al. 1992).

Pero las LDLox no solamente tienen efecto sobre las células endoteliales, son también capaces de provocar contracción en arteria femoral de conejo independientemente de la presencia de endotelio (Galle et al. 1990), sugiriendo este hecho, una interacción directa con la musculatura lisa vascular.

Este patrón de comportamiento observado en vasos incubados en presencia de LDLox, es el mismo que aparece en los vasos de animales y humanos con aterosclerosis. Así, en arterias ateroscleróticas, se ha comprobado que existe mayor sensibilidad a estímulos contráctiles debidos tanto a un efecto directo sobre la movilización de Ca^{2+} en la célula muscular lisa (Miwa et al. 1994; Cox y Tulenko 1995) como a una disminución en la síntesis y liberación de NO (Lamping et al. 1994; Golino et al. 1991).

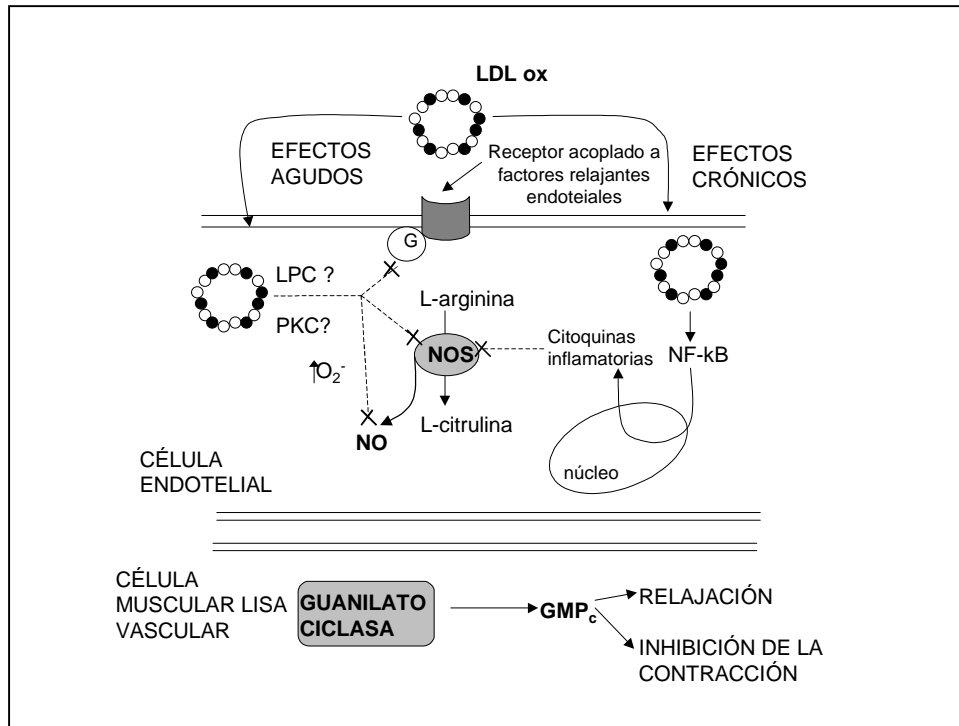


FIGURA 4.- Mecanismo potencial agudo y crónico de la disfunción endotelial producida por las LDL oxidadas. PKC: proteína quinasa C, LPC: lisofosfatidilcolina, O₂⁻: anión superóxido, NOS: óxido nítrico sintasa endotelial, NO: óxido nítrico y GMPc: guanosin monofosfato cíclico.

IMPORTANCIA TERAPÉUTICA DE LAS ESTATINAS

Los inhibidores de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa, o estatinas, se encuentran entre los agentes hipocolesterolémicos más utilizados actualmente, ya que han demostrado su eficacia para reducir el colesterol sérico sin efectos colaterales importantes.

Desde que en 1994 aparece publicado el estudio 4S (Scandinavian Simvastatin Survival Study Group 1994), que demuestra que un tratamiento hipocolesterolémico prolongado reduce la morbilidad y mortalidad por causa cardiovascular, han aparecido numerosas evidencias de que las estatinas son capaces de intervenir en los fenómenos que acompañan a la aterosclerosis, ayudando a explicar las observaciones clínicas de dicho estudio. Los beneficios del tratamiento con inhibidores de la HMG-CoA reductasa, no podían ser explicados por la regresión de la lesión ateromatosa ni por la simple disminución de los niveles plasmáticos de LDL, ya que cuando se conseguía por otros medios dietéticos o farmacológicos, el aumento de la supervivencia a accidentes cardiovasculares no era significativo (Holme 1993). Es más, tras la administración

prolongada de estatinas, se comprobó una mejor respuesta coronaria a la acetilcolina, un marcador de la función endotelial habitualmente utilizado (Treasure et al. 1995; Anderson et al. 1995b; Hayoz et al. 1995) que persistió más allá de la disminución de los niveles de LDL (O'Driscoll et al. 1997), así como una disminución del número de ataques isquémicos (Andrews et al. 1997)

Se ha comprobado un efecto beneficioso directo de las estatinas en algunos de los procesos implicados en el desarrollo de la aterosclerosis, como la proliferación de las células de la musculatura lisa vascular y la infiltración de macrófagos. Así mismo, existen evidencias de mejoras de la función endotelial tanto en patologías y modelos experimentales aterogénicos como no aterogénicos.

Disminución de la concentración plasmática de LDL: mecanismo de acción de las estatinas.

El hígado es el sitio principal de síntesis de lipoproteínas y de catabolismo de las LDL. Más

de las tres cuartas partes del depósito total de colesterol es origen endógeno y de él, dos tercios se producen en el hígado a partir del mevalonato (Fig. 5). En esta vía metabólica, la reacción determinante está catalizada por la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa. Por analogía estructural con el sustrato de esta reacción, las estatinas, son eficaces inhibidores competitivos y reversibles de dicha enzima. En consecuencia, estos fármacos reducen la biosíntesis intracelular hepática de colesterol y disminuyen su depósito celular (Alberts 1988).

Puesto que la cantidad intracelular de colesterol guarda una relación inversa con la velocidad de síntesis de receptores celulares para las LDL, cuando se reduce la concentración intracelular de colesterol, provoca la estimulación de la síntesis de receptores de LDL y su expresión en la superficie de los hepatocitos (Goldstein y Brown 1990). Estos receptores cumplen la función de captar no sólo a las LDL, sino también a sus precursores, VLDL y sus remanentes VLDL cuya hidrólisis producen LDL. Cuantas más VLDL y remanentes sean captados, menor número de LDL se formará; por tanto, el aumento de receptores LDL inducido por las estatinas, va a conseguir

por un mecanismo indirecto, el aumento del catabolismo de las VLDL y sus remanentes, reduciendo el número de moléculas que se convertirán en LDL. Esta acción sobre las VLDL, explica porqué las estatinas también son capaces de reducir, aunque de una manera más inconsistente y en menor grado, las concentraciones plasmáticas de triglicéridos (Brown y Goldstein 1986).

Importancia biológica de la vía del mevalonato

El hígado es el órgano diana por excelencia de las estatinas, pero la enzima HMG-CoA reductasa, se encuentra también localizada en células extrahepáticas. Es más, mediante esta vía metabólica, además de colesterol, se sintetizan una serie de compuestos importantes en biología celular (Fig. 5). Entre ellos se encuentra el isopentil-pirofosfato, precursor de la isopentiladennina, que interviene en la síntesis de ARN de transferencia (Goldstein y Brown 1990).

Otro producto de la vía del mevalonato es el farnesilpirofosfato, que da lugar al geranilgeranilpirofosfato, implicado en la síntesis de ubiquinona o coenzima Q10, antioxidante en-

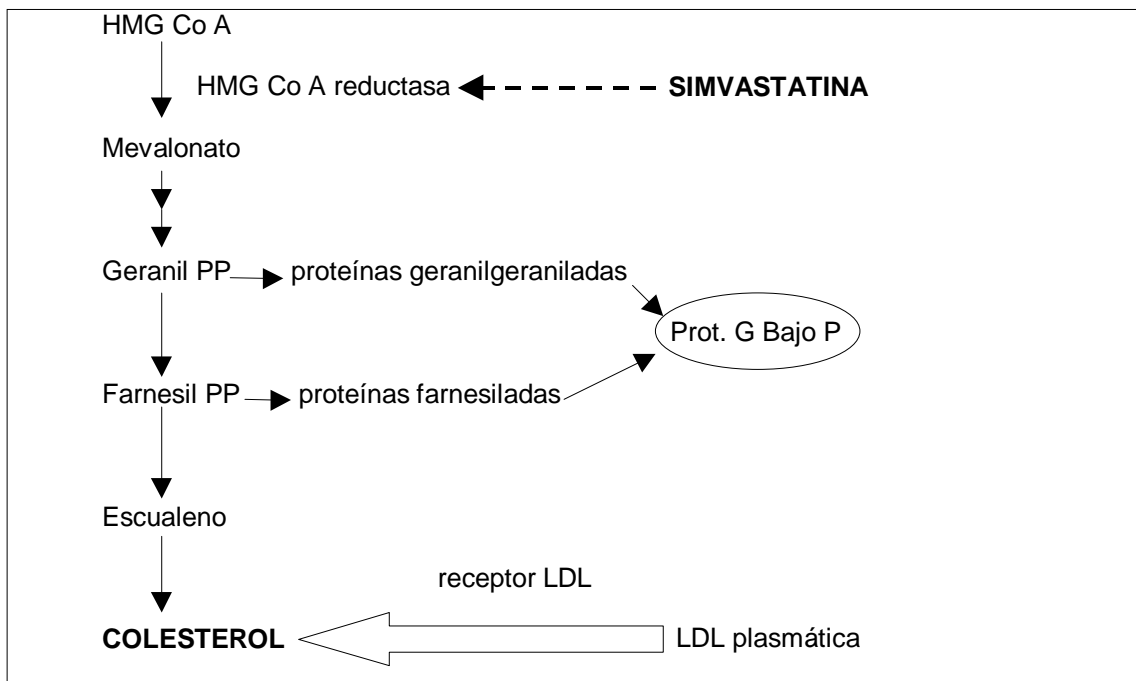


FIGURA 5.- Vía metabólica del mevalonato en las células animales. A partir de este compuesto y por acción de 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa, se sintetiza de manera endógena colesterol. A su vez, el colesterol también puede provenir del ingerido en la dieta, que es transportado por las LDL e incorporado a la célula a través del receptor de LDL.

dógeno que interviene en la cadena de transporte electrónico mitocondrial (Granler et al. 1994). El geranilgeranilpirofosfato se utiliza también en la modificación postraducciona de proteínas celulares preniladas, como las proteínas G de pequeño peso molecular (proteínas Rho), entre las que se encuentran proteínas necesarias para la transducción de la señal desde múltiples receptores celulares importantes en la fisiología vascular, como los receptores de trombina, endotelina y angiotensina II (Sinensky y Lutz 1992).

El farnesilpirofosfato es a su vez responsable de la prenilación de las proteínas p21-Ras, cruciales en la señalización celular a partir de los receptores tirosina kinasa de los factores de crecimiento, como es el derivado de plaquetas (PDGF). Por último, el geranilgeranilpirofosfato también es el precursor del dolicol, un isoprenoide de cadena larga utilizado como lanzadera en el proceso de glucosilación de proteínas (Granler et al. 1994).

A través del agotamiento de isoprenoides, las estatinas podrían tener, por tanto, una variedad de efectos celulares, que no estarían relacionados con su efecto hipocolesterolémico, ni con el agotamiento de esteroides, ya que el aporte de éstos, necesario para la síntesis de hormonas, vitamina D y ácidos biliares, se consigue mediante el colesterol ingerido con la dieta.

Efecto antiaterosclerótico directo de las estatinas

En la génesis de la lesión aterosclerótica intervienen activamente las células de la musculatura lisa vascular que proliferan para formar la placa de ateroma. También, las células espumosas, provenientes de los macrófagos que migraron a la pared vascular y posteriormente se transformaron por acción de la LDLox, así como las plaquetas, relacionadas con los fenómenos trombóticos que acompañan a la aterosclerosis.

A continuación se analizan los efectos de las estatinas sobre estos procesos.

Efecto antiproliferativo sobre las células de musculatura lisa vascular

La proliferación de las células de la musculatura lisa vascular es uno de los principales procesos implicados en el desarrollo de la aterosclerosis, de manera que todos los factores que

afectan a la proliferación, controlan a su vez el desarrollo de la lesión aterosclerótica. En este proceso, se requieren varios productos derivados de la vía metabólica del mevalonato. Uno de ellos es el mismo colesterol, que proviene tanto de la síntesis endógena, como del aporte exógeno; encontrándose ambas vías activadas en las células en crecimiento (Ross 1991). Por otro lado los isoprenoides derivados del mevalonato, están implicados en la regulación de la síntesis de ADN, y por tanto en la regulación del crecimiento celular (Habenicht et al. 1980).

Es lógico pensar que la inhibición de la HMG-CoA reductasa, y por tanto el agotamiento de productos derivados del mevalonato, sea capaz de intervenir en la proliferación celular. El tratamiento con fármacos de este grupo, como son simvastatina y fluvastatina, consiguió inhibir la proliferación de miocitos de aorta (Corsini et al. 1991; Corsini et al. 1993). Este efecto es revertido totalmente por la presencia de mevalonato, y parcialmente por geraniol, farnesol y geranilgeraniol, todos ellos metabolitos intermediarios en la síntesis biológica del colesterol (Corsini et al. 1993). Del mismo modo, el tratamiento con estos fármacos logra inhibir la migración (Corsini et al. 1995), así como la hipertrofia de las células de la musculatura lisa vascular (Nishio et al. 1998). Estas propiedades de las estatinas es independiente de su capacidad hipolipemiente (Corsini et al. 1995).

Parece ser que los isoprenoides juegan un papel fundamental en los procesos de proliferación y migración de estas células, ya que el aporte de colesterol necesario para la síntesis de las membranas de nuevas células se obtiene por vía exógena (Raiteri et al. 1997). De los diferentes derivados de la vía del mevalonato, podrían estar implicados tanto el dolicol y sus derivados glicosilados (Doyle et al. 1993) como las proteínas preniladas (Casey et al. 1994; Raiteri et al. 1997).

Otro de los mecanismos de señalización celular afectado por la inhibición de la HMG-CoA reductasa, y más concretamente por simvastatina, es la concentración de Ca^{2+} intracelular. En este sentido, se ha comprobado que la incubación de células de musculatura lisa vascular con simvastatina fue capaz de disminuir la liberación de Ca^{2+} en respuesta a vasopresina (Ng et al. 1994) y angiotensina II (Escobales et al. 1996), agonistas que provocan la estimulación, tanto de la proliferación, como de la migración de células.

las de músculo liso vascular. Esta señal cálcica, está a su vez controlada por proteína G de bajo peso molecular que sufren el proceso de prenilación para su correcto funcionamiento (Goldstein y Brown 1990).

La respuesta mitogénica de las células de musculatura lisa vascular también está mediada por la proteína kinasa C (Nishizuka 1992). Existen datos que confirman que la inhibición de la HMG-CoA reductasa, es capaz de estimular la actividad proteína kinasa C, seguramente por la inhibición de la fosfatasa responsable de su defosforilación. Éste podría ser otro de los mecanismos implicados en la inhibición de la proliferación de células de musculatura lisa vascular (Latruffe et al. 1995).

En el desarrollo de la lesión ateromatosa, se ha implicado así mismo al proceso de apoptosis o muerte programada de las células, ya que este proceso podría de algún modo ayudar a controlar el número de células de musculatura lisa vascular en esta lesión de carácter proliferativo (Bochaton et al. 1995).

Recientemente se ha demostrado, que los inhibidores de la HMG-CoA reductasa, además de afectar a los procesos de migración y proliferación celular, son capaces de inducir la apoptosis de las células del músculo liso de la pared arterial en cultivo, relacionándose este efecto con la prenilación de proteínas Rho (Guijarro et al. 1998). Si las estatinas tuvieran este mismo efecto in vivo, su importancia clínica sería controvertida, ya que, por un lado, el incremento de apoptosis puede contribuir a atenuar el engrosamiento de la íntima en una aterosclerosis temprana (Libby y Ross 1996). Pero, por otro lado, podría agravar la inestabilidad de la placa de ateroma y favorecer la aparición de accidentes vasculares (Ross y Fuster 1996).

Efectos sobre neutrófilos, monocitos y macrófagos

Un punto clave en la patogénesis de la aterosclerosis, lo constituye la transformación de los macrófagos en células espumosas. Cuando los monocitos son atraídos al lugar de la lesión endotelial (origen de la posterior lesión ateromatosa), migran a los tejidos y se convierten en macrófagos, que al incorporar gran cantidad de LDLox, se transforman en células espumosas.

Se ha demostrado que tanto simvastatina, como lovastatina, son capaces de inhibir la oxidación

de LDL en monocitos, contribuyendo este efecto antioxidante a la disminución de la formación de células espumosas (Aviram et al. 1992; Giroux et al. 1993; Chen et al. 1997). Esta acción de las estatinas, al igual que otras anteriormente descritas es revertida por una adición suplementaria de mevalonato. El mecanismo por el cual se consigue la inhibición de la oxidación de LDL in vivo, no parece, sin embargo, ser independiente de la capacidad hipolipemiente de las estatinas, ya que al incrementar estos fármacos la síntesis de receptores de LDL, favorece la retirada de estas lipoproteínas del medio y así disminuye su oxidación (Hoffman et al. 1992). Pero este fenómeno también ocurre ex vivo; para explicarlo, se ha lanzado la teoría de que las estatinas se unirían a la fracción fosfolipídica de las LDL, protegiendo al core de la lipoproteína de la acción oxidante de radicales libres (Aviram et al. 1998).

Por otro lado, los inhibidores de la HMG-CoA, son capaces de inhibir la migración transendotelial de neutrófilos, así como de alterar la capacidad quimiotáctica de los monocitos (Duzendorfer et al. 1997). Este tipo de respuesta inmunológica se ha visto implicada en patologías isquémicas, como la angina de pecho (Mehta et al. 1989), que son una de las consecuencias de la aterosclerosis. Esta inhibición en la respuesta inmunitaria, puede contribuir a la disminución de la mortalidad y morbilidad por causa cardiovascular observada en pacientes tratados con simvastatina.

Así mismo, el tratamiento con atorvastatina, puede reducir la respuesta inflamatoria asociada a la lesión aterosclerótica al disminuir tanto la activación del NF-(B, como la expresión de la proteína quimiotáctica de monocitos (MCP-1) en células musculares lisas en cultivo, pudiendo contribuir estos efectos a la estabilización de la placa de ateroma y por tanto a la disminución de manifestaciones isquémicas (Bustos et al. 1998).

Otro de los efectos observados tras un tratamiento con estatinas, concretamente simvastatina y atorvastatina, fue una regulación aterógrada o «downregulation» de la NO sintasa inducible (Alfón et al. 1999). La expresión de esta enzima inducible ha sido asociada al desarrollo de procesos ateroscleróticos, probablemente provocando un aumento de estrés oxidativo (Böger et al. 1996).

Efectos sobre la agregación plaquetaria y fibrinólisis

La hipercolesterolemia se asocia normalmente a trastornos que favorecen la coagulación, así como a un aumento de la reactividad de las plaquetas y a un incremento de los niveles de tromboxano B2 (DiMinno et al. 1986). Desde hace tiempo se sabe que en pacientes hipercolesterolémicos tratados con estatinas, estos parámetros se normalizan. Siempre se atribuyó este efecto a cambios en la composición lipídica de la membrana plaquetaria debidos a la disminución de las concentraciones plasmáticas de LDL (Davy et al. 1989; Schror et al. 1989). La modificación en la composición de la membrana de las plaquetas, podría alterar sus propiedades físico-químicas y hacerlas menos sensibles a los estímulos que desencadenan la coagulación (Le Quang Sang et al. 1995). Sin embargo, otros tratamientos hipolipemiantes, con diferente mecanismo de acción (colestiramina o fibratos), no comparten estas propiedades (Schror 1990).

Aunque el mecanismo sigue sin estar completamente claro, hay indicios que nos hacen presumir que los cambios físico-químicos de la membrana citoplasmática, no son la única explicación de esta mejora de la coagulación y que posiblemente, haya otros procesos implicados. Más recientemente se ha comprobado que el tratamiento con lovastatina, consiguió reducir los niveles séricos de fibrinógeno (Mayer et al. 1992) y simvastatina ha sido capaz de disminuir *in vivo* la producción de tromboxanos A2 y B2 (Notarbartolo et al. 1995). Por último, podemos destacar que la inhibición de la HMG-CoA reductasa incrementa la actividad fibrinolítica de las células endoteliales aumentando la actividad del factor activador del plasminógeno tisular. Este efecto parece ser debido a que se impide la modificación por geranilgeranilación de proteínas Rho y como consecuencia, se favorece la rotura de filamentos de actina (Essig et al. 1998).

Protección de las estatinas frente a la disfunción endotelial

Uno de los beneficios que aparece más temprano tras el tratamiento con estatinas, es la mejora de la función endotelial (Treasure et al. 1995; Anderson et al. 1995b). Aunque en un principio este efecto beneficioso se atribuyera a la dismi-

nución de concentraciones plasmáticas de LDL, pronto se comenzó a estudiar si la inhibición de la HMG-CoA reductasa a nivel endotelial, ejercía efectos adicionales.

De hecho, se sabía que la inhibición de la geranilgeranilación, reacción en la que está directamente implicado uno de los metabolitos intermediarios de la vía de la HMG-CoA reductasa, era capaz de producir la superinducción de la NO sintasa inducible en células de musculatura lisa vascular (Finder et al. 1997). En los últimos años, han aparecido evidencias de que también la HMG-CoA reductasa está implicada en la regulación de la expresión y actividad de la NO sintasa endotelial constitutiva, contribuyendo este fenómeno a la restauración de la función endotelial.

Recientemente se ha comprobado que la incubación de células endoteliales con estatinas, favorece la expresión de la NO sintasa endotelial constitutiva y previene la desregulación que sobre ella provocan las LDL oxidadas (Laufs et al. 1998a). Este hecho, que es independiente de las concentraciones de colesterol presentes en el medio en el que se encontraban las células, parece estar mediado por un aumento de la estabilidad del ARN mensajero de NO sintasa endotelial. En esta acción de las estatinas, se han implicado a las proteínas Rho, que regulan negativamente la expresión de la NO sintasa endotelial constitutiva. Estas proteínas necesitan ser modificadas por geranilgeranilación, para unirse a la membrana plasmática y realizar su función inhibitoria de la expresión de la NO sintasa endotelial (Fig. 6) (Laufs y Liao 1998b).

Una de las consecuencias más interesantes, es que incluso en condiciones en las que no existen altas concentraciones de LDLox, las estatinas son capaces de afectar a la expresión de la NO sintasa, como ocurre en situaciones hipóxicas (Laufs et al. 1997), protegiendo de este modo la función endotelial en patologías isquémicas (Endres et al. 1998). De hecho, más recientemente se ha comprobado que tanto simvastatina como pravastatina son capaces de activar directamente la NO sintasa endotelial y producir NO (Kaesemeyer et al. 1999).

El NO no es el único factor endotelial cuya expresión está regulada por la vía de la HMG-CoA reductasa, también la expresión de la endotelina está mediada por esta vía, de manera que el tratamiento con atorvastatina y simvastatina

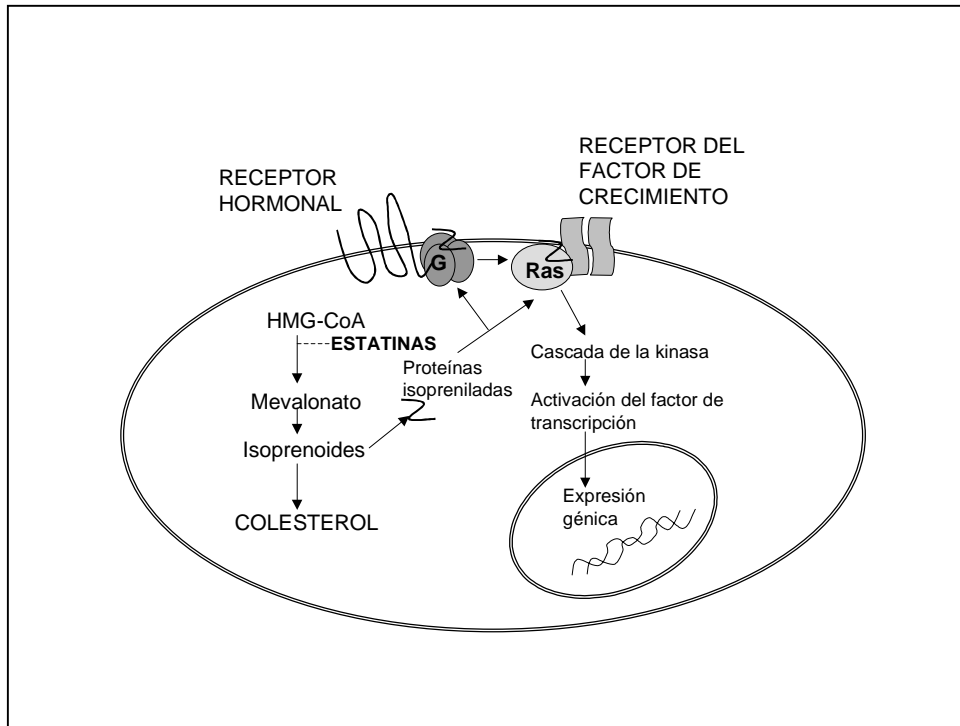


FIGURA 6.- Representación esquemática de los efectos de los inhibidores de la HMG-CoA reductasa en la prenilación de proteínas y la señalización celular. El agotamiento de los isoprenoides celulares se traduce en la inhibición de la isprenilación de las proteínas G pequeñas, que intervienen en la señalización celular a partir de varios receptores hormonales, como la endotelina-1, la angiotensina II y la trombina. De igual forma, se ve también afectada la transducción de la señal a partir de los receptores tirosina kinasa de los factores de crecimiento como es el factor de crecimiento derivado de plaquetas. Por consiguiente, se inhibe la cascada de señalización que se traduce en la activación de varios factores de transcripción y se modula la expresión génica.

fue capaz de inhibir la expresión de ARN mensajero de pre-pro-endotelina-1, y por tanto disminuyó la síntesis de endotelina, péptido endotelial con propiedades vasoconstrictoras y proliferativas (Hernández-Perera et al. 1998).

Efectos de estatinas sobre la presión arterial

El hecho de que las estatinas afecten a la función endotelial independientemente de su capacidad hipolipemiente, puede tener gran importancia en el control de la presión arterial, ya que en la hipertensión también existe una disfunción endotelial que podría ser corregida por la administración de estatinas. Del mismo modo, ya hay muchos pacientes hipertensos que están sometidos a un tratamiento hipolipemiente «agresivo» con inhibidores de la HMG-CoA reductasa, debido a que hipercolesterolemia e hipertensión son dos patologías que se asocian con gran frecuencia.

En ratas genéticamente hipertensas (SHR) sometidas a tratamiento con simvastatina a dosis

análogas a las empleadas para el tratamiento hipocolesterolémico, se observó una clara mejora de la función endotelial sin que existiera disminución significativa de los valores de presión arterial (Álvarez de Sotomayor et al. 1999).

Empleando dosis mayores de inhibidores de HMG-CoA, existen datos experimentales en los que estos fármacos afectan a la presión arterial. Se sabe que el tratamiento con lovastatina, fue capaz de prevenir la aparición de hipertensión en ratas SHR (Jiang y Roman 1997), y que pravastatina disminuyó los valores de presión arterial en ratas Dahl sensibles a la sal (Wilson et al. 1998). Este efecto estaba acompañado de una reducción del daño glomerular y de la hipertrofia renal. Es importante destacar que los efectos observados fueron parecidos a pesar de tratarse de dos modelos experimentales distintos de hipertensión arterial. Así mismo, se ha observado que lovastatina tiene un efecto hipotensor en ratas SHR una vez que la hipertensión ya estaba instaurada (Bravo et al. 1998).

Existe otro mecanismo por el cual las estatinas pudieran ser capaces de afectar a los valores ten-

sionales; éste es la reducción de la actividad de la enzima convertidora de la angiotensina en plasma, probablemente a través de la disminución de la peroxidación lipídica (Mitani et al. 1996).

Hay que destacar también el efecto relajante de simvastatina sobre aorta y arterias mesentéricas aisladas de rata (datos no publicados) y la modulación por parte del endotelio de la acción simvastatina sobre anillos de aorta (Pérez-Guerrero et al.

2000). En este sentido, en nuestro laboratorio hemos comprobado como simvastatina es capaz de mejorar notablemente la función endotelial en patologías en las que no existía hipercolesterolemia, así como provocaba una relajación dependiente de endotelio en arterias de animales sanos, pudiendo suponer este descubrimiento una nueva aplicación terapéutica de estos fármacos en enfermedades como la hipertensión arterial.

CONCLUSIONES

Tras la revisión de los múltiples efectos de las estatinas en los procesos fisiopatológicos que provocan la aparición y desarrollo de la placa de ateroma, podemos concluir que la disminución de la mortalidad y morbilidad cardiovascular, sea probablemente debida a una combinación de todos estos efectos directos, más que a una simple disminución de la concentración plasmática.

En primer lugar, se ha comprobado como el tratamiento con estatinas mejora claramente la disfunción endotelial, que según la teoría de respuesta a la agresión es el desencadenante de la formación de la placa de ateroma y la responsable de la oxidación de las LDL. De manera que las estatinas podrían ser consideradas como un magnífico tratamiento preventivo de la aterosclerosis, ya que no solo evita el incremento de los niveles sanguíneos de LDL, sino que previene la disfunción endotelial. Pero no solo puede ser considerado preventivo, sino que son capaces de mejorar el estado de un endotelio ya dis-

funcional, y además afectan a los elementos formes de la placa de ateroma (recordemos que disminuyen la proliferación de células de musculatura lisa vascular y previenen la formación de células espumosas).

Pero lo más llamativo al revisar las acciones de las estatinas, es que muchos de sus efectos beneficiosos son independientes de la concentración de colesterol. Este hecho abre puertas por un lado a la terapéutica, ya que las estatinas podrían ser un tratamiento adecuado en algunas patologías en la que exista disfunción endotelial independiente de la hipercolesterolemia. Por otro lado tiene gran importancia en la biología molecular, ya que se pone de manifiesto la importancia de la ruta metabólica del mevalonato en el control de muchos de los fenómenos que acompañan a la aterosclerosis, y surge el interés por el diseño de moléculas que inhiban más selectivamente la síntesis de determinados isoprenoides.

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts A.W. (1998). HMG-Co A reductase inhibitors-the development. *Atherosclerosis Rev.*, 18: 123-131.
- Alfón J., Guash J.F., Berrozpe M., Badimón L. (1999). Nitric oxide synthase II (NOS II) gene expression correlates with atherosclerotic intimal thickening. Preventive effects if HMG-Co A reductase inhibitors. *Atherosclerosis.*, 145: 325-331.
- Álvarez de Sotomayor M., Pérez-Guerrero C., Herrera M.D., Marhuenda E. (1999). Effects of chronic treatment with simvastatin on endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats. *Journal of hypertension.*, 17: 769-776.
- Anderson T.J., Gerhard M.D., Meredith I.T., Charbonneau F., Delagrangé D., Greager M.A., Selwyn A.P., Ganz P. (1995a). Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Am J Cardiol.*, 75: 71B-75B.
- Anderson T.J., Meredith I.T., Yeung A., Frei B., Selwyn A.P., Ganz P. (1995b). The effect of cholesterol lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Eng J Med.*, 332: 488-493.
- Andrews T.C., Raby K., Barry J., Naimi C.L., Allred E., Ganz P., Selwyn A.P. (1997). Effects of cholesterol reduction on myocardial ischemia in patients with coronary disease. *Circulation.*, 95: 324-328.
- Aviram M., Dankner G., Cogan U., Hochgraf E., Brook J.G. (1992). Lovastatin inhibits low-density lipoprotein oxidation and alters its fluidity and uptake by macrophages: in vitro and in vivo studies. *Metabolism.*, 41: 229-235.
- Aviram M., Maor I. (1994). Phospholipase D-modified low density lipoprotein is taken up by macrophages at increased rate. A possible role for phosphatidic acid. *J Clin Invest.*, 91: 1942-1952.
- Aviram M., Hussein O., Rosenblat M., Schlezinger S., Hayek T., Keidar S. (1998). Interactions of platelets, macrophages and lipoproteins in hypercholesterolemia: antiatherogenic effects of HMG-Co A reductase inhibitor therapy. *J Cardiovasc Pharmacol.*, 31: 39-45.

- Bochaton Piallat M.L., Gabbiani F., Redard M., Desmoulière A., Gabbiani G. (1995). Apoptosis participates in cellularity regulation during rat aortic intimal thickening. *Am J Pathol.*, 146: 1059-1064.
- Böger R.H., Bode-Böger S.M., Frölich J.C. (1996). The L-arginine-nitric oxide pathway: role in the atherosclerosis and therapeutic implications. *Atherosclerosis.*, 127: 1-11.
- Boulanger C.M., Tanner F.C., Bea M.L., Hahn A.W.A., Werner A., Lüsher T.C. (1992). Oxidized low density lipoprotein induce mRNA expression and release of endothelin from human and porcine endothelium. *Circ Res.*, 70: 1191-1197.
- Bravo L., Herrera M.D., Marhuenda E., Pérez-Guerrero C. (1998). Cardiovascular effects of lovastatin in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Gen Pharmacol.*, 30: 331-336.
- Brown M.S., Goldstein J.L. (1986). A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science.*, 232: 34-47.
- Bui M.N., Sack M.N., Moutsatos G. et al. (1996). Autoantibody titers to oxidized low density lipoprotein in patients with coronary atherosclerosis. *Am Heart J.*, 131: 663-667.
- Bustos C., Hernández-Presa M.A., Ortego M., Tuñón J., Ortega L., Pérez F., Díaz C., Hernández G., Egido J. (1998). HMG-Co A reductase inhibition by atorvastatin reduces neointimal inflammation in a rabbit model of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol.*, 32: 2057-2064.
- Casey P.J., Moomaw J.F., Zhang F.L., Higgins J.B., Thissen J.A. (1994). Prenylation and G protein signalling. En: Bardin W. (eds.). *Recent progress in hormone research*, vol 49. Academic Press Inc. San Diego (U.S.A.), pp 215-233.
- Celermajer D.S., Sorensen K.E., Gooch V.M., Spiegelhalter D.J., Miller O.I., Sullivan I.D., Lloyd J.K., Deanfield J.E. (1992). Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet.*, 340: 1111-1115.
- Chen L., Haugth W.H., Yang B., Saldeen T.G.P., Paathasarathy S., Mehta J.L. (1997). Preservation of endogenous antioxidant activity and inhibition of lipid peroxidation as common mechanism of antiatherosclerotic effects of vitamin E, lovastatin and amlodipina. *J Am Coll Cardiol.*, 30: 569-575.
- Chin J.H., Azhar S., Hoffman B.B. (1992). Inactivation of endothelial dependent relaxing factor by oxidized lipoproteins. *J Clin Invest.*, 89: 10-18.
- Christien S., Thomas S.R., Garner B., Stocker R. (1994). Inhibition by interferon- γ of human mononuclear cell-mediated low density lipoprotein oxidation. Participation of typtophan metabolism along the kynurenine pathway. *J Clin Invest.*, 93: 2149-2158.
- Corsini A., Raiteri M., Soma M., Fumagalli R., Paoletti R. (1991). Simvastatin but not pravastatin inhibits the proliferation of rat aorta myocytes. *Pharmacol Res.*, 23: 173-180.
- Corsini A., Mazzotti M., Raiteri M., Soma M.R., Gabbiani G., Fumagalli R., Paoletti R. (1993). Relationship between mevalonate pathway and arterial myocyte proliferation: in vitro studies with inhibitors of HMG-CoA reductase. *Atherosclerosis.*, 101: 117-125.
- Corsini A., Raiteri M., Soma M.R., Bernini F., Fumagalli R., Paoletti R. (1995). Pathogenesis of atherosclerosis and the role of 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A reductase inhibitors. *Am J Cardiol.*, 76: 21A-28A.
- Cox D.A., Cohen M.L. (1996). Effects of oxidized low-density lipoprotein on vascular contraction and relaxation: clinical and pharmacological implications in atherosclerosis. *Pharmacol Rev.*, 48: 3-19.
- Cox R.H., Tulenko T.N. (1995). Altered contractile and ion channel function in rabbit portal vein with dietary atherosclerosis. *Am J Physiol.*, 268: H2522-H2530.
- Davy G., Averna M., Novo S., Barbagallo C.M., Mogavero A., Notarbartolo A., Strano A. (1989). Effects of synvinolin on platelet aggregation and thromboxane B2 synthesis in type IIa hypercholesterolec patients. *Atherosclerosis.*, 79: 79-83.
- DiMinno G., Silver M.J., Cerbonne A.M., Rainone A., Postiglione A., Mancini M. (1986). Increased fibrinogen binding to platelets from patients with familiar hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis.*, 6: 203-211.
- Doyle J.W., Ward-Bailey P.F., Kandutsch A.A. (1993). Effects of growth factors on cell cycle arrest in dolichyl phosphate-depleted cultures. *J Cell Physiol.*, 155: 171-178.
- Duzendorfer S., Rothbucher D., Schatzberger P., Reinisch N., Kähler C.M., Wiedermann C.J. (1997). Mevalonate-dependent inhibition of transendothelial migration and chemotaxis of human peripheral blood neutrophils by pravastatin. *Circ Res.*, 81: 963-969.
- Endres M., Laufs U., Huang Z., Nakamura T., Huang P., Moskowitz M.A., Liao J.K. (1998). Stroke protection by 3-hydroxy-3-methylglutaryl (HMG)-Co A reductase inhibitors mediated by endothelial nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad USA.*, 95: 8880-8885.
- Escobales N., Castro M., Altieri P.I., Sanabria P. (1996). Simvastatin releases Ca²⁺ from a thapsigargin-sensitive pool and inhibits InsP₃-dependent Ca²⁺ mobilization in vascular smooth muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol.*, 27: 383-391.
- Essig M., Nguyen G., Prié D., Escoubet B., Sraer J.D., Friedlander G. (1998). 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzymen A reductase inhibitors increase fibrinolytic activity in rat aortic endothelial cells. Role of geranylgeranylation and Rho proteins. *Circ Res.*, 83: 683-690.
- Finder J.D., Litz J.L., Blaskovich M.A., McGuire T.F., Qian Y., Hamilton A.D., Davies P., Sebtis S.M. (1997). Inhibition of protein geranylgeranylation causes superinduction of nitric oxide synthase-2 by interleukin-1 α in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem.*, 272: 13484-13488.
- Galle J., Bassenge E., Busse R. (1990). Oxidized low density lipoproteins potentiate vasoconstrictions to various agonists by direct interaction with vascular smooth muscle. *Circ Res.*, 66: 1287-1293.
- Giroux L.M., Davignon J., Naruszewicz M. (1993). Simvastatin inhibits the oxidation of low-density lipoproteins by activated human monocyte-derived macrophage. *Biochim Biophys Acta.*, 1165: 335-338.
- Goldstein J.L., Brown M.S. (1990). Regulation of mevalonate pathway. *Nature.*, 343:425-430.

- Golino P., Piscione F., Willerson J.T., Capelli-Bigazi M., Focaccio A., Villari B., Indolfi C., Russolillo E., Condorelli M., Chiariello M. (1991). Divergent effects of serotonin on coronary artery dimensions and blood flow in patients with coronary atherosclerosis and control patients. *N Eng J Med.*, 324: 641-648.
- Granler J., Ericsson J., Dallner G. (1994). Branch-point reactions in the biosynthesis of cholesterol, ubiquinone and prenylated proteins. *Biochem Biophys Acta.*, 1212: 259-277.
- Guijarro C., Blanco-Colio L.M., Ortego M., Alonso C., Ortiz A., Plaza J.J., Díaz C., Hernández G., Egido J. (1998). 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase and isoprenylation inhibitors induce apoptosis of vascular smooth muscle in cells in culture. *Circ Res.*, 83: 490-500.
- Habenicht A.J.R., Glomset J.A., Ross R. (1980). Relation of cholesterol and mevalonic acid to the cell cycle in smooth muscle and Swiss 3T3 cells stimulated to divide by platelet-derived growth factor. *J Biol Chem.*, 255: 5134-5140.
- Hayoz D., Weber D., Rutschmann B., Darioli R., Burnier M., Waeber B., Brunner H.R. (1995). Postischemic blood flow response in hypercholesterolemic patients. *Hypertension.*, 26: 497-502.
- Hernández-Perera O., Pérez-Sala D., Navarro-Antolin J., Sánchez-Pascuala R., Hernández G., Díaz C., Lamas S. (1998). Effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, on the expression of endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Clin Invest.*, 101: 2711-2719.
- Hirata K., Miki N., Kuroda Y., Sakoda T., Kawashima S., Yokohama M. (1995). Low concentration of oxidized low-density lipoprotein and lysophosphatidylcholine upregulate constitutive nitric oxide synthase mRNA expression in bovine aortic endothelial cells. *Circ Res.*, 76: 958-962.
- Hoffman R., Brook J.G., Aviram M. (1992). Hypolipidemic therapy reduces lipoprotein susceptibility to undergo lipid peroxidation: in vivo and ex vivo studies. *Atherosclerosis.*, 93: 105-113.
- Holme I. (1993). Relation of coronary heart disease incidence and total mortality to plasma cholesterol reduction in randomised trials: use of meta-analysis. *Br Heart J.*, 69 (suppl): S42-S47.
- Holvoet P., Collen D. (1994). Oxidized lipoproteins in atherosclerosis and thrombosis. *FASEB J.*, 8: 1279-1284.
- Jiang J., Roman R. (1997). Lovastatin prevents development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.*, 30: 968-974.
- Kaesemeyer W.H., Caidwell R.B., Huang J., Caldwell R.W. (1999). Pravastatin sodium activates endothelial nitric oxide synthase independent of its cholesterol-lowering actions. *J Am Coll Cardiol.*, 33: 234-241.
- Keaney J.F. Jr., Gaziano J.M., Xu A., Frei B., Curran-Celentano J., Shwaery G.T., Loscalzo J., Vita J.A. (1994). Low-dose (-tocopherol improves and high-dose (-tocopherol worsens endothelial vasodilator function in cholesterol fed rabbits. *J Clin Invest.*, 151: 431-437.
- Lamping K.G., Piegors D.J., Benzuly K.H., Armstrong M.L., Heistad D.D. (1994). Enhanced coronary vasoconstrictive response to serotonin subsides after removal of dietary cholesterol in atherosclerotic monkeys. *Atheroscler Thromb.*, 14: 951-957.
- Latruffe N., Boscoboinik D., Azzi A. (1995). Stimulation of protein kinase C activity by compactin in vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun.*, 217: 459-465.
- Laufs U., La Fata V., Liao J.K. Inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl (HMG)-Co A reductase blocks hypoxia-mediated down-regulation of endothelial nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 1997; 272 (50): 31725-31729.
- Laufs U., La Fata V., Plutzky J., Liao J.K. (1998a). Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation.*, 97: 1129-1135.
- Laufs U., Liao J.K. (1998b). Post-transcriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase mRNA stability by Rho GTPase. *J Biol Chem.*, 273: 24266-24271.
- Le Quang Sang K.H., Levenson J., Megnien J.L., Simon A., Devynck M.A. (1995). Platelet cytosolic Ca²⁺ and membrane dynamics in patients with hypercholesterolemia. Effects of pravastatin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 15: 759-764.
- Libby P., Ross R. (1996). Cytokines and growth regulatory molecules in atherosclerosis. En: Fuster V, Ross R, Topol EJ (eds). *Atherosclerosis and Coronary Artery Disease*. Lippincot-Raven Philadelphia, pp 585-594.
- Ludmer P.L., Selwyn A.P., Shook T.L., Wayne R.R., Mudge G.H., Alexander R.W., Ganz P. (1986). Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Eng J Med.*, 315: 1046-1051.
- Mayer J., Eller T., Brauer P. et al. (1992). Effects of long-term treatment with lovastatin on the clotting system and blood platelets. *Ann Hematol.*, 64: 196-201.
- Mehta J., Dinerman J.W., Mehta P., Saldeen T.G.P., Lawson D., Donnelly W.H., Wallin R. (1989). Neutrophil function in ischemic heart disease. *Circulation.*, 79: 549-556.
- Mitani H., Bandoh T., Ishikawa J., Kimura M., Totsuka T., Hayashi S. (1996). Inhibitory effects of fluvastatin, a new HMG CoA reductase inhibitor, on the increase in vascular ACE activity in cholesterol-fed rabbits. *Br J Pharmacol.*, 119: 1269-1275.
- Miwa Y., Hirata K., Matsuda Y. (1994). Augmented receptor-mediated Ca²⁺ mobilization causes supersensitivity of contractile responses to serotonin in atherosclerotic arteries. *Circ Res.*, 75: 1096-1102.
- Myers P., Wright T.F., Tanner M.A., Ostlund R.E.Jr. (1994). The effects of native LDL and oxidized LDL on EDRF bioactivity and nitric oxide production in vascular endothelium. *J Lab Clin Med.*, 124: 672-683.
- Ng L.L., Davies J.E., Wojcikiewicz R.J.H. (1994). 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A reductase inhibition modulates vasopressin-stimulated Ca²⁺ responses in rat A10 vascular smooth muscle cells. *Circ Res.*, 74: 173-181.
- Nishio E., Kanda Y., Watanabe Y. (1998). Alpha1-adrenoreceptor stimulation causes vascular smooth muscle cell hypertrophy: a possible role for isoprenoid intermediates. *Eur J Pharmacol.*, 347: 125-130.
- Nishizuka Y. (1992). Intracellular signalling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C. *Science.*, 258: 607-614.

- Notarbartolo A., Davi G., Averna M. et al. (1995). Inhibition of thromboxane biosynthesis and platelet function by simvastatin in type IIa hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 15: 247-251.
- O'Driscoll G., Green D., Taylor R.R. (1997). Simvastatin, an HMG-coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month. *Circulation.*, 95: 1126-1131.
- Parthasarathy S., Steinbrecher U.P., Barnett J., Witztum J.L., Steinberg D. (1985). Essential role of phospholipase A2 activity in endothelial cell-induced modification of low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 82: 3000-3004.
- Pérez-Guerrero C., Alvarez de Sotomayor M., Herrera M.D., Marhuenda E. (2000). Endothelium modulates contractile response to simvastatin in rat aorta. *Z Naturforsch (en prensa)*.
- Raiteri M., Arnaboldi L., McGeady P., Gelb M., Verri D., Tagliabue C., Quarato P., Ferraboshi P., Santaniello E., Paoletti R., Fumagalli R., Corsini A. (1997). Pharmacological control of the mevalonate pathway: effect on arterial smooth muscle cell proliferation. *J Phar Exp Ther.*, 281: 1144-1153.
- Ross R., Harker L. (1976). Hyperlipidemia and atherosclerosis. *Science.*, 193: 1094-1100.
- Ross R. (1986). The pathogenesis of atherosclerosis - an update. *N Eng J Med.*, 314: 488-500.
- Ross R. (1991). Polypeptide growth factors and atherosclerosis. *Trends Cardiovasc Med.*, 1: 277-280.
- Ross R., Fuster V. (1996). The pathogenesis of atherosclerosis. En: Fuster V, Ross R, Topol EJ eds. *Atherosclerosis and Coronary Artery Disease*. Lippincot-Raven. Philadelphia, pp: 441-460.
- Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. (1994). Randomised Trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet.*, 344: 1383-1389.
- Schrör K., Löbel P., Steinhagen-Thiessen E. (1989). Simvastatin reduces platelet thromboxane formation and restores normal platelet sensitivity against prostacyclin in type IIa hypercholesterolemia. *Eicosanoids.*, 2: 39-45.
- Schrör K. (1990). Platelet reactivity and arachidonic acid metabolism in type II hyperlipoproteinaemia and its modification by cholesterol lowering agents. *Eicosanoids.*, 3: 67-73.
- Selke F.W., Armstrong M.L., Harrison D.G. (1990). Endothelium-dependent vascular relaxation is abnormal in the coronary microcirculation of atherosclerotic primates. *Circulation.*, 81: 1586-1593.
- Simon B.C., Cunningham L.D., Cohen R.A. (1990). Oxidized low density lipoproteins cause contraction and inhibit endothelium-dependent relaxation in the pig coronary artery. *J Clin Invest.*, 83: 75-79.
- Sinensky M., Lutz R. (1992). The prenylation of proteins. *Bio Essays.*, 14: 25-31.
- Steinberg D. (1987). Lipoproteins and the pathogenesis of atherosclerosis. *Circulation.*, 76: 508-514.
- Steinberg D. (1991). Antioxidants and atherosclerosis: a current assessment. *Circulation.*, 84: 1420-1425.
- Steinberg D. (1995). Role of oxidized LDL and antioxidants in atherosclerosis. *Adv Exp Med Biol.*, 369: 39-48.
- Stewart-Lee L., Forster L.A., Nourooz-Zadeh J., Ferns G.A.A., Anggard E.E. (1994). Vitamin E protects against impairment of endothelium-mediated relaxations in cholesterol fed rabbits. *Atheroscler Thromb.*, 14: 494-499.
- Tanner F.C., Noll G., Boulanger C.M., Lüsher T.F. (1991). Oxidized low density lipoproteins inhibit relaxations of porcine coronary artery: role of scavenger receptor and endothelium-derived nitric oxide. *Circulation.*, 83: 2012-2020.
- Treasure C.B., Klein J.L., Weintraub W.S., Talley J.D., Stillabower M.E., Kosinski A.S., Zhang J., Boccuzzi S.J., Cedarholm J.C., Alexander R.W. (1995). Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary artery disease. *N Eng J Med.*, 332: 481-487.
- World Health Organisation. (1994). Lipid-lowering agents: where is the evidence of increasing survival?. *WHO Drug Information.*, 8: 204-206.
- Wilson T.M., Alonso-Galicia M., Roman R.J. (1998). Effects of lipid-lowering agents in the Dahl salt-sensitive rat. *Hypertension.*, 31: 225-231.