



Artículo de revisión

Efecto de las estatinas más allá del colesterol

Fabiola Huacuja Álvarez,* Manuel Gómez Duque,* Juan Carlos Ortiz Vargas,* Beatriz Soberanes Velázquez,*
Verónica Arévalo Moreno,* Enrique Morales Villegas,** Leticia Sánchez-Reyes,*** Guillermo Fanghanel****,*****

- * Estudiante del 3er. Año de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.
- ** Centro de Investigación Cardiometabólica, Aguascalientes, México.
- *** Unidad de Factores de Riesgo Cardiovascular, Servicio de Cardiología del Hospital General de México, O.D. Investigador Nacional del Sistema Nacional de Investigadores.
- **** Profesor Titular de Pre y Post-Grado de la Facultad de Medicina de la UNAM.

Correspondencia:
Dr. Guillermo Fanghanel Salmón
Bruselas 135 casa 1, Coyoacán
México 04100, D.F.
gfangh@yahoo.com

Fecha de recepción: 21-Noviembre-2005
Fecha de aceptación: 16-Febrero-2006

Resumen

Con el objetivo de presentar los adelantos en el conocimiento de los efectos de las estatinas no relacionados directamente con la disminución en los niveles de colesterol, se revisaron los principales portales de información científica médica de los últimos 10 años, como Medscape, PubMed, Google, Educomsa, Ovid, Edumed, Science Direct y Elsevier. En la actualidad las estatinas han revolucionado la terapia de las dislipidemias gracias a su poderoso efecto hipolipemiente, efecto que favorece una disminución en la mortalidad cardiovascular. La reducción de éstos es tan rápida y precoz que sugiere la existencia de efectos pleiotrópicos o no colesterol-dependientes relacionados con el tratamiento. Por su capacidad lipofílica, la mayoría de las estatinas traspasan la membrana celular inhibiendo la proliferación de la célula del músculo liso y la migración inducida por factores de crecimiento, lo que influye en procesos relacionados con la estabilidad de la placa y en la aterotrombosis. Mejoran la disfunción endotelial, por el aumento de la producción y disponibilidad del óxido nítrico (NO) en la célula endotelial y así interfieren en el proceso patológico de la aterosclerosis. Varios de estos efectos llamados pleiotrópicos de las estatinas son mediados por su capacidad para bloquear la síntesis de importantes intermediarios isoprenoides (farnesilo o geranilgeranilo), que sirven como anclas lipídicas para varias moléculas de señalización intracelular como son la vía de las GTPasas y proteínas Rho, aumentando la producción y disponibilidad del NO. Las estatinas se relacionan con la activación de un gen de expresión endotelial denominado KLF2 el cual favorece el bloqueo de otro factor denominado NFκB, lo que permite una inhibición proinflamatoria. Estos avances en el conocimiento de las acciones de la estatina, han permitido su utilización no sólo en los eventos cardiovasculares, sino también han demostrado un beneficio en otras patologías como en el VIH/SIDA, en la enfermedad de Alzheimer, la demencia senil, las enfermedades de la colágena y en la osteoporosis.

Palabras clave: Estatinas, efectos pleiotrópicos, inflamación vascular, aterotrombosis, disfunción endotelial.

Revista de Endocrinología y Nutrición 2006; 14(2): 73-88.

Abstract

With the objective of presenting the advances in the knowledge of the effects of the statins not related directly with the decrease of the cholesterol levels, it was made a revision of the main on line scientific medical data of the last 10 years, as Medscape, PubMed, Google, Educomsa, Ovid, Edumed, Science Direct and Elsevier. Nowadays the statins had modified the therapy of the dyslipidemias, due to the powerful hypolipemiant effect. Decreased incidence of the cardiovascular events occurs during the first year of statin therapy. The existence of pleiotropic effects beyond its cholesterol lowering actions has been proposed. Due to its lipophilic capacity, the majority of the statins traspas the cellular membrane and inhibit the proliferation of the smooth muscular cell and the migration induced by growing factors, what influence in the process related with the stability of the plaque and the atherothrombosis. Statin improve the endothelial stability, due to the increase production and availability of the nitric oxide (NO) in the endothelial cell. Several of these effects are possibly due to its capacity to limit the synthesis of important isoprenoids intermediaries (farnesil or geranylgeranil), that are used as lipidic ancles for several molecules of intercellular signalization like the GTPasas path and the Rho proteins, increasing the production and availability of the NO. The statins modify the expression endot-

helial KLF2 gene which inhibits NFκB, crucial mediator of the proinflammatory response. These advances in the knowledge of the actions of the statins, had allowed the use only of statin in VIH/AIDS, Alzheimer's disease, dementia senile, collagen disorders and osteoporosis.

Key words: Statins, pleiotropic effects, vascular inflammation, atherothrombosis, endothelial dysfunction.

Revista de Endocrinología y Nutrición 2006;14(2): 73-88.

1. GENERALIDADES DE LAS ESTATINAS

En 1976 Endo y cols.¹ aislaron a las estatinas a partir de un moho, *Penicillium citrinium*. La primera estatina estudiada en seres humanos fue el compactin cuyo nombre se cambió a mevastatina. Alberts y cols.² crearon la primera estatina (lovastatina), aislada de *Aspergillus terreus* y aprobada para uso en seres humanos. Las estatinas son inhibidores competitivos de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa), lo que bloquea un paso temprano de la biosíntesis del colesterol (*Cuadro I*). Atorvastatina es una de las más selectivas para actuar a nivel hepático y, para inhibir por más tiempo la HMG-CoA reductasa;³ se cree que esta propiedad es responsable de su mayor efecto sobre los niveles sanguíneos de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL) y de triglicéridos.⁴ A diferencia de pravastatina, las restantes estatinas se ligan extensamente a la albúmina y a otras proteínas del plasma.^{5,6} Se unen de manera covalente al sitio activo de la HMG-CoA reductasa, enzima implicada en la síntesis del ácido mevalónico, precursor metabólico del colesterol (*Figura 1*). Recientemente, se ha descrito que las estatinas no sólo compiten con el sustrato natural por el sitio activo de la enzima, además, alteran la conformación de esta última y limitan su actividad funcional, lo que aumenta su eficacia y su especificidad. El colesterol, y otros productos intermedios, llamados isoprenoides, ejercen una retroalimentación negativa sobre la expresión del gen que codifica la producción de la enzima reductasa.⁷

Efectos de las estatinas sobre el colesterol

Las estatinas reducen los niveles plasmáticos de colesterol total (60-65%) y de LDL (25-40%). También disminuyen los niveles de triglicéridos e incrementan (5-20%) las lipoproteínas de alta densidad (HDL). Se observan cambios en los niveles de lipoproteínas según las dosis de las estatinas (*Cuadro II*).

En la actualidad las estatinas han revolucionado la terapia de las dislipidemias, gracias al poderoso efecto hipolipemiente, lo que disminuye la mortalidad cardiovascular.^{8,9} Están indicadas en pacientes con hipercolesterolemia primaria, cuando ha sido insuficiente la respuesta a la dieta y a otras medidas no farmacológicas. También en pa-

cientes con hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia, cuando la hipercolesterolemia es la anomalía más importante, para retardar la progresión de la aterosclerosis coronaria en pacientes con hipercolesterolemia primaria, y en la prevención secundaria de eventos adversos cardíacos mayores (muerte cardíaca, infarto al miocardio no fatal y revascularización coronaria).¹⁰⁻¹²

Las reacciones adversas que se pueden presentar son: náusea, diarrea, dolor abdominal, estreñimiento, flatulencia, cefalea, urticaria; menos frecuentes son: la mialgia, miositis, rabdomiólisis y rara vez impotencia e insomnio. Están contraindicadas en hipersensibilidad al fármaco, hepatopatía activa, aumento persistente inexplicable de las transaminasas en suero, el embarazo y la lactancia.^{13,14}

Evidencias de efectos de las estatinas más allá del colesterol

En 1994 el Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S),^{15,16} demostró que el tratamiento con estatinas reduce la mortalidad total aun en sujetos con niveles basales de colesterol LDL considerados como "normales". El Regression Growth Evaluation Statin Study (REGRESS),¹⁷ también demostró que el efecto de la pravastatina sobre la lesión arterial y la incidencia de eventos clínicos no está influida por los niveles basales de colesterol LDL. En 1995 el estudio con pravastatina WOSCOPS,¹⁸ redujo eventos y muertes coronarias en forma muy precoz al tratar pacientes con elevación del colesterol muy moderados. Datos muy semejantes han sido reportados en el estudio CARE y el estudio LIPID.^{19,20} Estos estudios sugieren la hipótesis de la existencia de efectos no colesterol-dependiente asociados con las estatinas, sin dejar de reconocer que es el contenido lipídico el que favorece la trombosis y la liberación de distintos factores quimiotácticos y de crecimiento que influyen poderosamente sobre células tan esenciales en aterogénesis, como son, los macrófagos y las células musculares lisas. Estas células a su vez pueden modificar mediante oxidación a las LDL, lo que amplía el concepto de la aterosclerosis y lo sitúa en la pared de la arteria.²¹

En el año de 1994 se reporta en el estudio ACAPS,²² que el tratamiento con lovastatina modifica la respuesta vascular del endotelio y en el estudio AVERT^{23,24} compara el tratamiento farmacológico con atorvastatina 80 mg vs a la angioplastia, reportando que si bien la angioplastia

Cuadro I. Farmacocinética de las estatinas.

Parámetro	Fluvastatina	Pravastatina	Lovastatina	Simvastatina	Atorvastatina	Rosuvastatina
Absorción (%)	98	35	30	60-68	95-98	20
Prodroga	No	No	Sí	Sí	No	No
Principal vía metabólica	CYP2C9	Conjugación	CYP3A4	CYP3A4	CYP3A4	CYP2C9
Metabolitos activos	No	No	Sí	Sí	Sí	Sí
Vida media (h)	< 1	1-3	2-4	2-3	11-14	5
Unión a proteínas (%)	> 98	50	> 95	> 95	> 98	90
Solubilidad	Liposoluble	Hidrosoluble	Liposoluble	Liposoluble	Liposoluble	Liposoluble

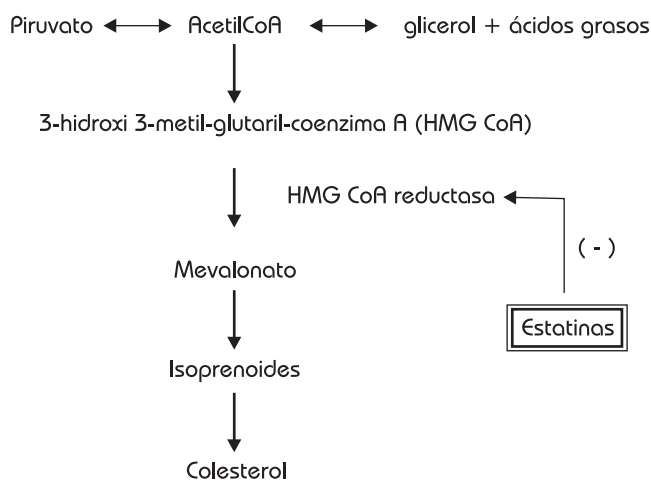


Figura 1. Inhibición de las estatinas de la enzima HMG-CoA reductasa, implicada en la síntesis de ácido mevalónico, precursora del metabolismo del colesterol.

disminuye la frecuencia de la angina inestable, el bajar el colesterol LDL a 77 mg/dL con atorvastatina mejora la función endotelial y disminuye el número de eventos cardíacos, que a la postre es lo que interesa al médico clínico. “Cuanto más bajo mejor” es la consabida frase que nos hace prever que la cifra de colesterol LDL de las futuras “recomendaciones” no sea sólo 70 mg, sino que pueda ser aún menor.²⁵⁻²⁷

Participación de las estatinas en el endotelio y la aterosclerosis

La hipótesis sobre el origen de la aterosclerosis más aceptada actualmente es la llamada respuesta a la agresión, donde se propone que el endotelio puede dañarse por varios mecanismos, tales como: infecciones virales, interacción con células de la sangre, radicales libres o la fuerza de estrés de fricción o deslizamiento. Todas estas acciones que originan la disfunción endotelial, van

a provocar que el endotelio responda liberando factores de crecimiento y una serie de sustancias vasoactivas (Cuadro III).

Entre los efectos de las estatinas, que van más allá de la reducción del colesterol, uno de gran importancia es su efecto sobre la célula muscular lisa. Se sabe que la penetración de las estatinas a la célula es diferente por su capacidad lipofílica de la mayoría de ellas, por ejemplo: atorvastatina, simvastatina y fluvastatina, pueden penetrar la membrana celular con efectos benéficos a nivel del núcleo, mientras que pravastatina no penetra a la célula.²⁸ En las experiencias con células en cultivo, se ha demostrado que las estatinas que tienen la capacidad de penetración a la célula, inhiben la proliferación de la célula muscular lisa y la migración inducida por el factor de crecimiento plaquetario, dos mecanismos fundamentales en la génesis de la placa ateromatosa. Está demostrado que la disminución del colesterol con estatinas mejora la función endotelial en las arterias coronarias de pacientes con aterosclerosis.²⁹⁻³¹ Sin embargo, este cambio en la función endotelial no se ha visto con simvastatina³⁰ aunque con esta estatina se ha observado mejoría de la relajación vascular mediada por óxido nítrico.³² Otros efectos interesantes con estatinas es la respuesta vasodilatadora y el aumento del flujo coronario, lo que disminuye la isquemia transitoria en pacientes con angina estable y aumenta la perfusión en el miocardio.^{33,34}

Todas estas evidencias demuestran que la terapia con estatinas influye en procesos relacionados con la estabilidad de la placa y en la trombosis, lo que contribuye a los beneficios clínicos asociados al tratamiento con estos fármacos que se extiende más allá de los efectos hipocolesterolemiantes de los mismos. Las propiedades antiaterogénicas de las estatinas incluyen el mantenimiento de la función endotelial, las acciones antiinflamatorias y sus efectos sobre la proliferación. Sin embargo, son necesarios más estudios que demuestren las distintas propiedades de cada una de ellas en estos aspectos.

Cuadro II. Cambios producidos por las diferentes estatinas sobre los niveles de las lipoproteínas plasmáticas.

Droga	Dosis diaria	Disminución de LDL con dosis bajas (%)	Disminución de LDL con dosis máximas (%)	Disminución de triglicéridos
Fluvastatina	20-80	17	36	5-10
Pravastatina	10-40	19	34	5-10
Lovastatina	20-80	30	48	5-10
Simvastatina	10-80	28	46	10-40
Rosuvastatina	10-40	42	56	10-40
Atorvastatina	10-80	38	54	15-40

Las estatinas y el óxido nítrico en la inflamación endotelial

Una de las principales sustancias vasoactivas liberadas por el endotelio vascular es el óxido nítrico (NO), el cual se forma mediante el paso metabólico de aminoácido L-arginina a L-citrulina a través de la actividad de la enzima óxido nítrico sintetasa (NOs),³⁵ que a su vez requiere de la participación de varios cofactores enzimáticos para producir su efecto. El NO, regula el tono vascular y la interacción de las células de la sangre con la pared del vaso, facilita la relajación del vaso, inhibe la migración y proliferación de las células del músculo liso vascular subyacente al endotelio, disminuye la agregación plaquetaria y el reclutamiento de leucocitos al interferir con la interacción endotelio/leucocitos mediante la disminución de la expresión de moléculas de adhesión; además inhibe la apoptosis de células endoteliales, disminuye el estrés oxidativo al aumentar la expresión de la superóxido dismutasa que reacciona e inactiva al ion superóxido y favorece la generación de proteínas de la matriz extracelular. De esta forma, agentes capaces de liberar NO, como son los vasodilatadores, las estatinas, los antioxidantes, inhiben la proliferación y la generación de colágeno por parte de las células de músculo liso vascular.³⁶ En cambio, las interleucinas (IL) 1, 6 y 8 y el factor estimulante de la formación de colonias de monocitos (MCP-1), compiten con el NO aumentando la expresión de las moléculas de adhesión, inducen proliferación y migración de la célula muscular lisa, activan la coagulación y reclutan células mononucleadas, tanto linfocitos como monocitos, al igual que el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF-alfa). Las alteraciones en la formación de NO por parte del endotelio vascular en conjunto con la oxidación de las LDL, constituyen la base de la disfunción endotelial y del desarrollo de la aterosclerosis^{37,38} (Figura 2).

El endotelio posee una isoforma de la NOs llamada NOs-endotelial (eNOs) que genera en forma fugaz cantidades pequeñas de NO. Esta génesis de NO es depen-

diente de Ca⁺⁺ y la actividad de la eNOs aumenta con agentes vasoactivos como la acetilcolina o la bradiquinina y con factores hemodinámicos como el estrés de rozamiento. El NO liberado por la actividad de esta enzima es el responsable de la vasorrelajación del endotelio dependiente a través de la producción de GMP cíclico (GMPc) en las células de músculo liso vascular. Aunque la isoforma eNOs se considera constitutiva, su expresión puede ser aumentada por estímulos fisiológicos y disminuida por la acción de citocinas, como el TNF-alfa y la IL-1 Beta, que disminuyen la expresión de la eNOs a través de desestabilizar el ácido ribonucleico mensajero (mRNA) de la eNOs.^{39,40}

El mecanismo principal mediante el cual las estatinas logran mejorar la función endotelial, es el aumento de la producción y disponibilidad del NO en la célula endotelial y así interferir con el proceso patológico de la aterosclerosis. Las LDL aumentan la expresión de la cavergolina-1,

Cuadro III. Regulación y función del endotelio.

- a) Regulación del tono muscular
 - Síntesis de compuestos vasoactivos: ON, EDHF, ET-1, PGI2
 - Presencia de ECA, producción de Ang II
 - Producción de PN tipo C
- b) Función trófica en capa íntima y media
 - Regula la producción de colágeno y MMPs, fibronectina, elastina, laminina, mucopolisacáridos, estimulación de células del músculo liso y factores de crecimiento
 - Controla la acción de TNF alfa, IL-1, IL-6 e IL-8
- c) Función metabólica
 - Favorece la acción de lipoprotein lipasa
- d) Función coagulante/anticoagulante
 - Síntesis de factores homeostáticos: ON, FT, heparina, sulfato, factor de Von Willebrand, trombosmodulina, trombina, proteína C y S PAI-1, prostaglandinas

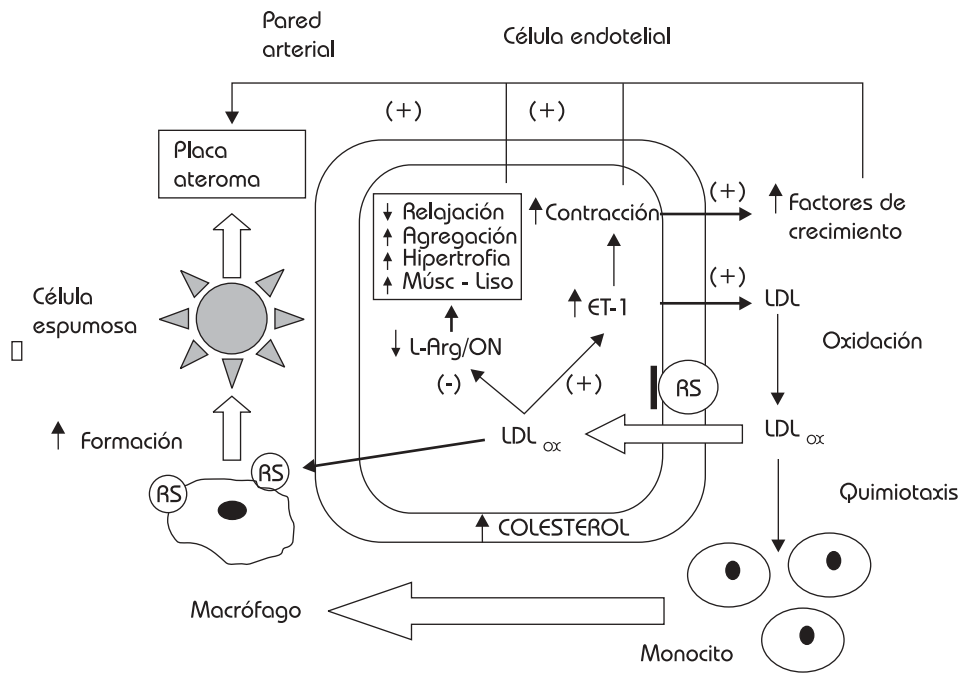


Figura 2. Esquema general de la participación de la lipoproteína de baja densidad oxidada (LDL_{ox}) en la formación de la placa aterosclerótica. RS: Receptor "Scavenger", ON: Óxido nítrico, Arg: Arginina, ET-1: Endotelina-1.

molécula que actúa como inhibidora de la eNOs. Se ha demostrado que estos fármacos además de disminuir a la cavergolina, aumentan otra molécula conocida como Hsp90 que actúa como chaperona molecular para facilitar la activación a largo plazo de la eNOs.⁴¹

Al interferir con la síntesis de colesterol, se reduce la producción de intermediarios isoprenoides (principalmente GGPP o geranylgeranyl pirofosfato) necesarios para la activación de la Rho cinasa, una guanosina tirofosfatasas (GTPasa).⁴² La célula endotelial participa en el proceso proinflamatorio promoviendo la formación de la placa aterosclerótica. Parte de este proceso está mediado por las GTPasas y las Rho/Rhocinasas.⁴³

Estatinas en la vía de las GTPasas, proteínas Rho y transducción de señales al citoesqueleto

La superfamilia Ras GTPasas pequeñas, tienen un rol esencial en la integración de las señales que las células reciben.⁴⁴⁻⁴⁶ Las GTPasas pequeñas son controladas por distintas clases de proteínas reguladoras. El ciclo de activación/inactivación inicia con la llegada de un estímulo externo al receptor localizado en la membrana plasmática, ante este estímulo se activa el factor intercambiador de nucleótidos de guanina conocidos como GEF (factor de intercambio de nucleótidos de guanina o guanine nucleotide exchange factors). Este factor se encarga de desplazar al inhibidor de la disociación de GDP (GDI) y libera el residuo isoprénico unido a la GTPasa pequeña denominado GGPP, que sirve para su anclaje a la mem-

brana plasmática y al mismo tiempo cataliza el intercambio de GDP por GTP en la GTPasa pequeña. La unión del GTP induce un cambio conformacional en la GTPasa pequeña, activándola y favoreciendo sus efectores proinflamatorios mediados principalmente por la proteína activadora 1 (Ap1) producto del gen jun u encogen, pertenece a la familia de proteínas ubicuas de unión a cajas GC (ricas en guaninas y citosinas) mediante dominios en forma de dedos de zinc presentes en muchos promotores celulares y virales (Figura 3). La GTPasa está implicada en la activación de la transcripción viral, tanto basal como dependiente de Tat, para actuar necesita interactuar con otros factores celulares como son la proteína específica 1 (Sp1) y el transportador del catión orgánico 1 (Oct1), lo que le permite actuar como factor de transcripción en la expresión génica.⁴⁷⁻⁴⁹ Las proteínas activadoras de las GTPasas, conocidas como GAP (*GTPase Activating Proteins*), da como resultado la hidrólisis intrínseca del GTP y así el retorno de la GTPasa pequeña a su estado inactivo ligado a GDP y a GDI. Las estatinas promueven la inhibición de la GGPP, no permitiendo el intercambio de GDP a GTP favoreciendo su efecto antiinflamatorio.⁵⁰⁻⁵³

Por otra parte, la GTPasa pequeña activada estimula la vía de las proteínas Rho que es parte de la superfamilia Ras. Esta superfamilia se divide según sus relaciones estructurales y funcionales en subfamilias: Ras, Rho, Rab, Sar1/Arf y Ran.⁵⁴ Los integrantes de la subfamilia Ras incluye a las isoformas Ras (H-, K- y N-ras), Ral y Rap. Sus funciones están involucradas en la regu-

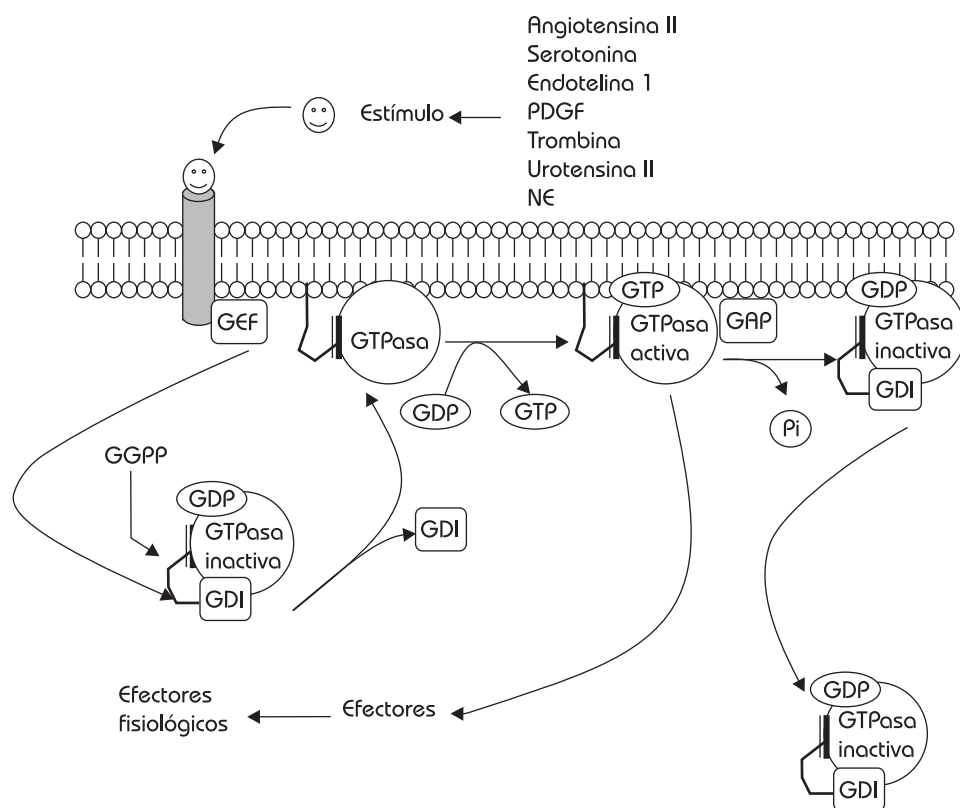


Figura 3. Vía de activación de las GTPasas. PDGF: Factor de crecimiento derivado de plaquetas, NE: Norepinefrina, GEF: Factor de intercambio de nucleótidos de guanina, GDP: Guanosin difosfato, GDI: Inhibidor de la disociación de GDP, GTP: Guanosin trifosfato, GAP: Proteínas activadoras de GTPasa, Pi: Fosfato inorgánico.

lación de la proliferación y diferenciación celular. Las isoformas clásicas de Ras también regulan la apoptosis. Todos estos efectos están probablemente mediados por la familia de las señales extracelulares activadoras de cinasas (ERK), una subfamilia de las denominadas proteincinasas activadas por mitógenos (MAPK) o por la fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K).⁵⁵ La subfamilia Rho se compone por las proteínas Rho (A, B, y C), Rac (1, 2 y 3) y Cdc42. Controlan la formación de las distintas estructuras que conforman el citoesqueleto.⁵⁶

Las funciones del citoesqueleto son integrar la motilidad celular y los cambios de forma de la célula durante el ciclo celular, participa en la organización del citoplasma para generar fuerzas mecánicas dentro de la célula en respuesta a diversas señales extracelulares, es esencial para algunas actividades contráctiles y controla las interacciones celulares, la adhesión molecular, y el transporte intracelular. Sus funciones son moduladas por las proteínas denominadas como Ras y la vía de las GTPasas-Rho, regulando la organización del citoesqueleto para la expresión génica y control de la progresión del ciclo celular y su proliferación.^{57,58}

La actividad de la miosina del músculo liso se regula no sólo por fluctuaciones en la concentración de calcio, sino también por otros mecanismos de señalización independientes de la concentración de calcio.⁵⁹ Tras la fosfo-

rilación de la serina-19 de la cadena ligera de miosina (MLC), ésta interactúa con la actina, dando lugar a la contracción muscular. La cinasa de la cadena ligera de miosina (MLCK) incrementa la fosforilación de la MLC, mientras que la fosfatasa de la cadena ligera de la miosina (MLCP) es la encargada de desfosforilarla, por lo que el nivel de fosforilación y por tanto, de contracción, resulta del balance de la actividad de ambas enzimas. Mientras que la actividad de MLCK depende de la concentración de calcio, la actividad de MLCP se regula por mecanismos independientes. Se han descrito dos vías de la inhibición de la MLCP posibles: la vía de la proteincinasa C (PKC) y de la proteína Rho cinasa.

La proteína Rho/Rho-cinasa es un nuevo mecanismo de la vasoconstricción, además de muchos otros efectos que más adelante se mencionarán. La RhoA es una proteína monomérica, que mediante la vía de las GTPasas realiza su activación, translocación a la membrana y función. Al activarse la RhoA ésta se une al dominio de unión a Rho (RBD) de la Rho cinasa, resultando en un cambio conformacional de esta última, que provoca la separación de la región cinasa y queda expuesto el sitio catalítico, permitiendo su activación como fosfotransferasa. Al activarse la Rho cinasa se fosforila la MLCP, con lo cual esta fosfatasa es inhibida y de esta manera, se favorece la contracción de las células musculares lisas vasculares⁶⁰ (Figura 4).

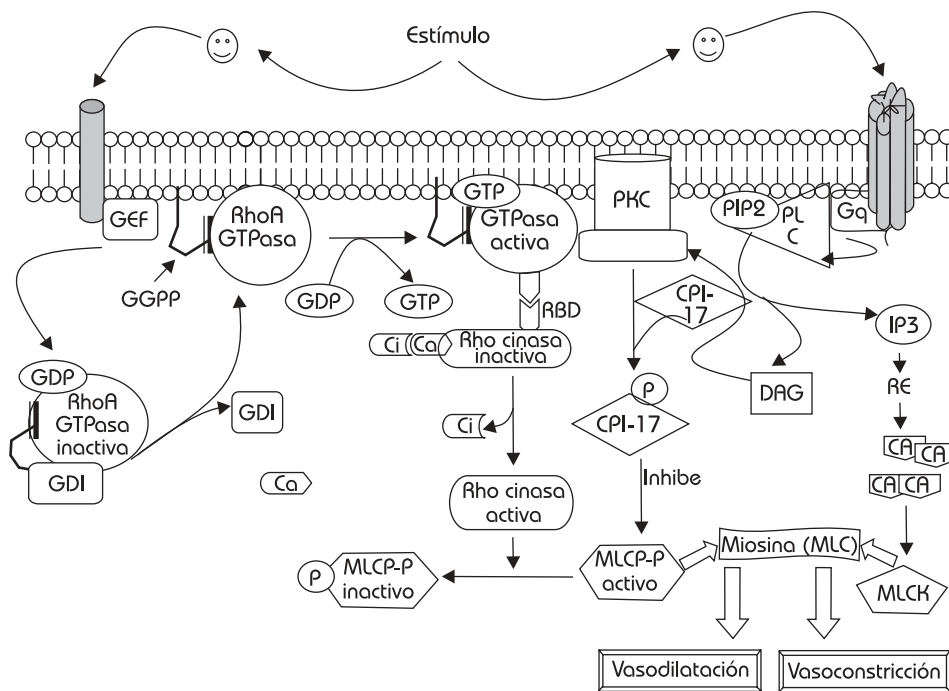


Figura 4. Vía de activación del RhoA. GEF: Factor de intercambio de nucleótidos de guanina, GDP: Guanosin difosfato, GDI: Inhibidor de la disociación de GDP, RhoA: Familia de gen homólogo de RAS miembro A, GTP: Guanosin trifosfato, MLC: Cadena ligera de la miosina, MLCP: Fosfatasa de la cadena ligera de la miosina, PKC: Proteincinasa C, Ca: Porción catalítica, Ci: Porción cinasa, RBD: Dominio de unión a Rho, CPI-17: Inhibidor de la proteincinasa-17, PIP2: Fosfoinositol difosfatos, Gq: Proteína Gq, DAG: Diacilglicerol, IP3: Inositol trifosfato, RE: Retículo endoplásmico, Ca⁺⁺: Calcio.

Las Rho cinasas (ROCK) fueron los primeros efectores de Rho descubiertos. ROCK es una fosfotransferasa que fosforila sustratos proteicos en residuos de serina y/o treonina. Estas cinasas consisten de un dominio localizado en el extremo aminoterminal, mismo que posee el sitio catalítico. Hay una región super-enrollada, así como un dominio de unión a Rho (RBD) y una región PH ("Pleckstrin Homology") que a su vez contiene una región rica en cisteína (CRD).⁶⁰ Otras acciones que son mediadas por la vía Rho/Rho cinasa son:⁶²⁻⁶⁵

1. Inflamación vascular. La proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1), es una quimiocina del grupo CC, e induce la expresión de las integrinas requeridas para la quimiotaxis, tiene acción sobre monocitos, linfocitos de memoria, basófilos y células neutrófilas; potente inductor de la liberación de histamina por basófilos y participa en la aterogénesis. La Rho cinasa regula la producción de MCP-1 inducida por angiotensina II en las células musculares lisas vasculares.
2. El inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1), inhibe la fibrinólisis por medio del bloqueo de la función del activador del plasminógeno (t-PA), impidiendo que éste se una a la fibrina. Por lo tanto el PAI-1 está involucrado en la patogenia de la aterosclerosis. Al igual que el MCP-1, su síntesis está regulada por la Rho cinasa al ser éste estimulado por la angiotensina II.
3. Efecto sobre la expresión del factor tisular (FT), glucoproteína de membrana, perteneciente a la familia de

los receptores de las citocinas, presente en la membrana plasmática de diversos tipos celulares. En monocitos como en células endoteliales puede ser inducida por la exposición a endotoxinas, bacterias, etc. Activa el inicio de la cascada de la coagulación, pero necesita del factor VII para llevarlo a cabo.

4. También regula la síntesis del factor de crecimiento transformante beta1 (TGF-β1), IL-6 y posiblemente la IL-1, Rho-cinasa, NADPH, factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF), y el interferón gamma (IFN-γ).

Rac1, una de las vías más relevantes en la producción de especies reactivas del oxígeno vascular es la de las NADH/NADPH-oxidasa, que produce anión superóxido (O₂⁻), que puede reaccionar con el NO y formar el anión peroxinitrito que carece de la actividad relajante del óxido nítrico sobre el músculo liso. El sistema NADPH-oxidasa está regulado por las proteínas G pequeñas relacionadas con Rac en fagocitos, por lo tanto controla la generación de especies reactivas del oxígeno (ROS).

El bloqueo de esta vía por las estatinas, es responsable de uno de los mecanismos del aumento en la producción y disponibilidad del NO.⁶⁶⁻⁶⁸ Una vez que se activa la Rho GTPasa, ésta es capaz de desestabilizar al mRNA de la eNOs, así, éste es degradado antes de llegar al ribosoma para la traducción y síntesis proteica que culmina con la producción de eNOs. La consecuente disminución en la expresión de la eNOs ocasiona un decremento neto en la producción de NO. Entonces, las estatinas, al inter-

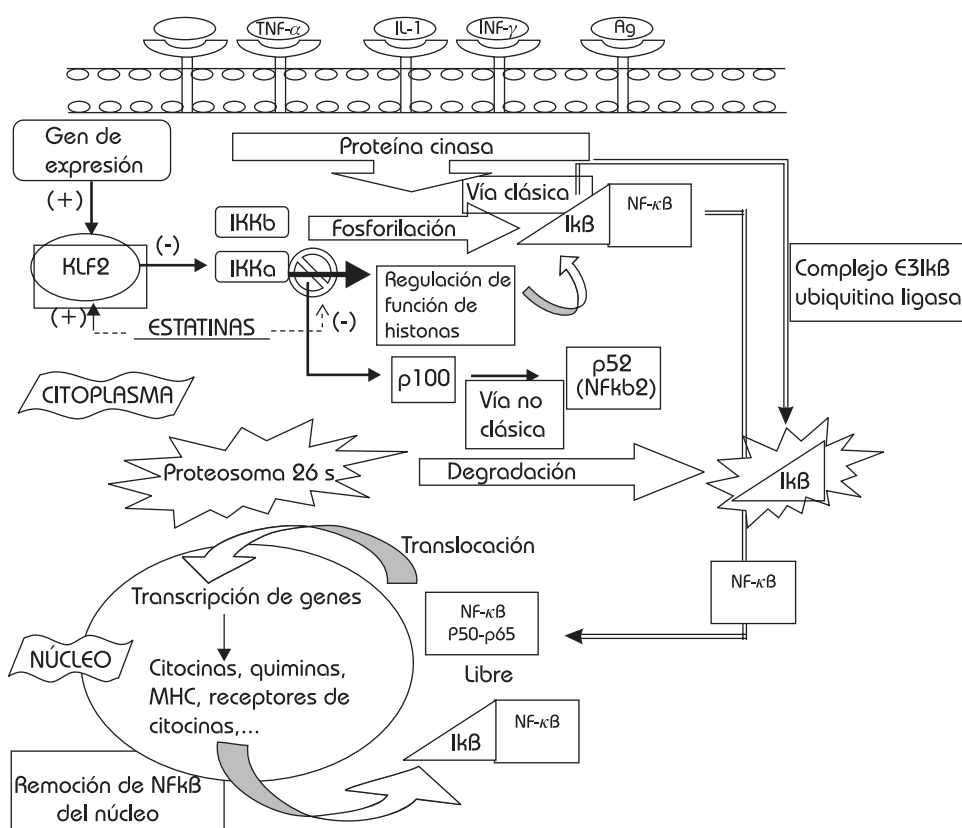


Figura 5. Vía de activación del factor nuclear Kappa Beta (NFκB). TNF-α: Factor de necrosis tumoral alfa, IL-1: Interleucina-1, IFN-γ: Interferón gamma, Ag: Antígenos, IKK a y b: Inhibidor kappa cinasa alfa y beta, NFκB: Factor nuclear Kappa B, IκB: Inhibidor Kappa B.

ferir con la vía de señalización de Rho alargan la vida del mRNA de la eNOs (aproximadamente de 13 a 38 horas) así éste tiene más posibilidades de llegar al ribosoma y finalmente ser traducido para sintetizar más eNOs.

Estatinas y el kruppel-like factor (KLF2) y el factor nuclear kappa B (NFκB)

Recientemente se han adquirido nuevos conocimientos sobre los efectos de las estatinas más allá del colesterol. Estos efectos están relacionados además de la función del óxido nítrico con la activación de un gen de expresión endotelial denominado KLF2 y el NFκB entre otros.⁶⁹⁻⁷²

El KLF2 es un gen de expresión endotelial, que media algunos efectos favorables de las estatinas. Su activación media la inhibición en la síntesis de colesterol y la vía Rho, además de la transcripción de novo de la proteína MEF-2. El KLF2 representa un importante factor para la inhibición de la función proinflamatoria de NFκB y de AP-1. El término AP-1 o proteína activadora 1, se refiere a factores de transcripción diméricos compuestos por subunidades Jun, Fos o ATF (factor de activador transcripción) que se unen a un lugar común de unión al DNA, denominado lugar de unión AP-1.^{47-49,73,74}

El NFκB fue identificado en las células pre B, su primer sitio de unión identificado se localiza en el gen de la cadena ligera kappa de las inmunoglobulinas. Forma parte de una de las familias de factores de transcripción inducibles que participan en la respuesta inmune, inflamación y en la protección de células contra la apoptosis. Dicha familia consiste en 5 miembros: Re1A (p65), Re1B, c-Re1, NFκ-B1 (p50 y su precursor p105) y NFκ-B2 (p52 y su precursor p100).^{75,76}

Normalmente el NFκB se encuentra en el citoplasma de las células del sistema inmune en forma inactiva, integrando un complejo con una proteína llamada inhibidor del NFκB o IκB, lo que frena la entrada del NFκB al núcleo, impidiendo la estimulación de la transcripción de diversos genes.⁷⁷ Estas proteínas inhibitorias incluyen IκBa e IκBb, estas últimas poseen secuencias de ankirina en el extremo carboxiterminal, esencial para su interacción con las proteínas NFκB, y en el extremo aminoterminal contiene una secuencia de exportación nuclear rica en leucina, importante para mantener la ubicación citoplasmática del complejo IκBa-p50-p65⁷⁸ (Figura 5).

La vía Rho desencadena la liberación del factor de transcripción NFκB de la IκB, quedando activa.⁷⁹ Dentro del grupo de genes en los que actúa como promotor de

esta disociación se encuentra el de la NADPH oxidasa, enzima fundamental en la producción de radicales libres y de estrés oxidativo. La NADPH oxidasa cataliza la formación del ion superóxido, un metabolito del oxígeno que puede reaccionar con el NO para formar un complejo inactivo, disminuyendo así su disponibilidad. Además dentro del grupo de genes en los cuales actúa como represor se encuentra el de la eNOs, así disminuye la expresión de esta enzima. Las estatinas interfieren con la activación del NFκB, impide la expresión de la NADPH oxidasa y por lo tanto la inactivación de NO, además impiden que el NFκB restrinja la expresión del gen de la eNOs.⁸⁰

Diversos estímulos como la IL-1, TNF, productos virales y bacterianos, quimiocinas, radiación UV, estrés de rozamiento, productos avanzados de la glicación, hipoxia y radicales libres entre otros, actúan sobre los receptores de membrana, los cuales activan una serie de enzimas y proteínas cinasa, producen activación de IKKα e IKKβ.⁸¹⁻⁸⁹

Mientras que la IKKβ activa la vía clásica del NFκB, fosforilando a IκB; la IKKα activa la forma no clásica del NFκB, fosforilando p100 para originar la activación de p52, además de regular la función de las histonas que a su vez originan la activación de la vía clásica del NFκB. Es inhibiendo a esta última quinasa, IKKα el sitio de acción de la atorvastatina, lo que provoca una disminución de la actividad y función del NFκB. El IκB fosforilado sufre un proceso de ubiquitinación, por el complejo E3 IκB ubiquitina ligasa y su posterior degradación por el proteosoma 26s; con lo cual el NFκB libre se activa y puede ser translocado al núcleo, y comenzar la transcripción de más de 150 genes, entre ellos los relacionados con la inmunidad, inflamación, antiapoptosis, proliferación celular, genes que codifican más de 27 citosinas (TNF-α, IL-1, IL-6, IL-2, IL-12, INF-gamma, etc.), moléculas de adhesión celular (VCAM, ICAM1 por ejemplo), quimiocinas (IL-8, MIP-1, MCP1, RANTES), MHC, enzimas inducibles (COX-2, iNOS); NFκB además incrementa la expresión de moléculas importantes en la regulación de la proliferación celular, apoptosis y la progresión del ciclo celular.⁹⁰⁻⁹⁶

Las estatinas se encuentran relacionadas con el NFκB, ya que al estimular la síntesis de mRNA del KLF2, favorecen su inhibición, lo que ocasiona por un lado la disminución en la síntesis de colesterol y la vía Rho, además de favorecer la transcripción de novo de las proteínas MEF-2. Se ha comprobado que la mevastatina, lovastatina y simvastatina inducen la expresión del KLF2 mRNA, en contraste, la pravastatina no tiene un efecto significativo en esta acción, esto tal vez se deba a su composición hidrofílica, que no le permite internalizarse en el núcleo. Otro mecanismo por el que las estatinas tienen un efecto favorable, es por la prevención de la inducción de moléculas proadhesivas y procoagulantes como VCAM

y el factor tisular, esto ocurre por la inhibición del NFκB y la AP1.⁹⁷⁻⁹⁹

Las estatinas inhiben la formación de isoprenoides impidiendo así la activación tanto de la vía Rho como de la vía Rac, involucradas en la activación del NFκB. Por otro lado, actúan directamente sobre el IKKβ para impedir que éste active el NFκB. Finalmente las estatinas aumentan la expresión del KLF2 que a su vez disminuye la actividad del NFκB (*Figura 6*). Es así como, mediante varios mecanismos de acción, estos fármacos interfieren con la actividad de este importante factor de transcripción cuyos efectos fisiológicos son responsables de varios de los procesos patológicos involucrados en la enfermedad ateromatosa. La disminución en la regulación de la actividad de la Rac1-GTPasa (esta enzima expresa la proteína Rac1-GTP que aumenta la actividad de la NADPH) favorecen la prenilación (modificación postraslacional de una proteína por el agregado de un grupo prenilo) y translocación del Rac1 a la membrana celular.¹⁰⁰ Además tienen efecto en activar a la trombomodulina (TM) que es un anticoagulante natural al tener efectos antiinflamatorios, antitrombóticos y antiadhesivos.^{101,102} Durante el desarrollo de enfermedades tromboateroscleróticas se producen daños en el endotelio vascular, los que están relacionados con el incremento en sangre de determinadas sustancias, consideradas como marcadores, como el incremento en plasma de la TM que pudieran ser un indicador del desarrollo de fallas funcionales en el endotelio vascular.

Por lo tanto, ante las evidencias experimentales y clínicas las estatinas tienen efectos independientes de su acción sobre el colesterol e involucran una mejoría o restauración de la función endotelial, aumentando la estabilidad de la placa y disminuyendo el estrés oxidativo y la inflamación vascular. Varios de estos efectos llamados pleiotrópicos de las estatinas son mediados por su capacidad para bloquear la síntesis de importantes intermediarios isoprenoides (farnesilo o geranilgeranilo), que sirven como anclas lipídicas para varias moléculas de señalización intracelular. La inhibición de GTPasas pequeñas, cuya localización y función dependen del proceso de isoprenilación (específicamente farnesilación o geranilgeranilación), desempeñan un papel importante en mediar los efectos celulares directos de las estatinas sobre la pared vascular.^{21,28,29-31,41,42,103-105} En conclusión, las estatinas actúan mediante una amplia gama de mecanismos para incrementar la producción y disponibilidad del NO, inducen a su vez eNOs y trombomodulina, inhibe la función proinflamatoria de NFκB, estimula la inducción de la vía Rho y además de la transcripción de novo de la proteína MEF-2, potencializando sus efectos vasodilatadores y antiinflamatorios para interferir con el progreso de la aterosclerosis (*Figura 7*).

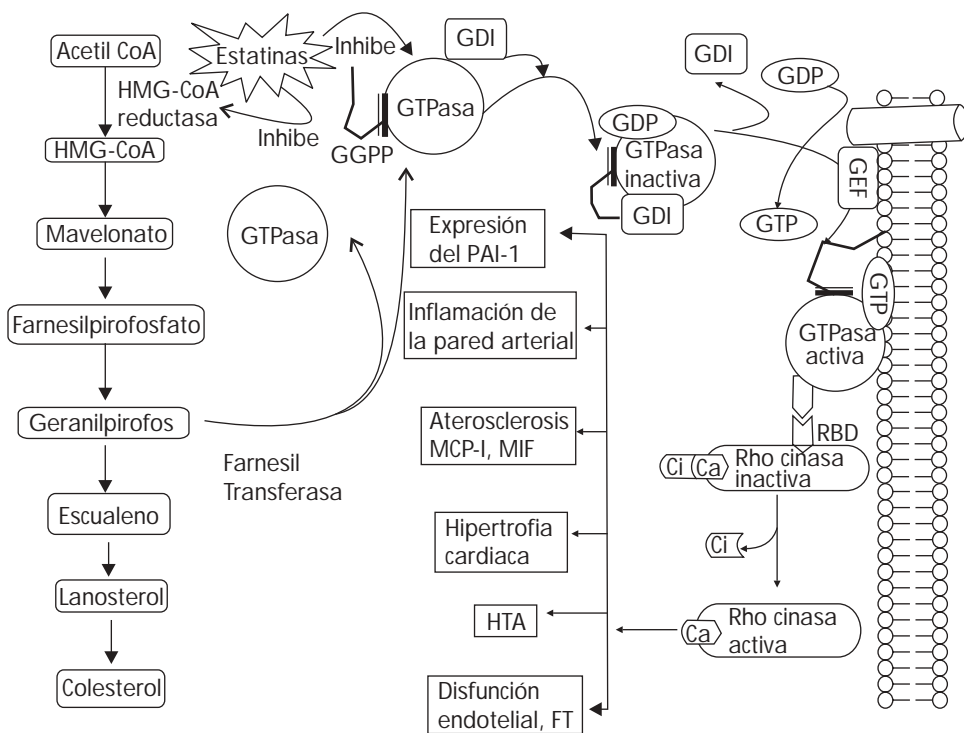


Figura 6. Bloqueo de la vía Rho cinasa y potenciales efectos terapéuticos de las estatinas. La presencia de un grupo farnesilo en las GTPasas pequeñas es necesario para su unión a la membrana plasmática y su acción fisiológica, acción que puede ser bloqueada por las estatinas. Estas son inhibidores de la Hidroximetil-glutaril-coenzima A (HMG-CoA) reductasa, enzima clave en la biosíntesis de isoprenoides a partir de acetil coenzima A (acetil CoA). Es potencial blanco terapéutico para el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares por su efecto protector de la función endotelial y antiinflamatoria vascular.

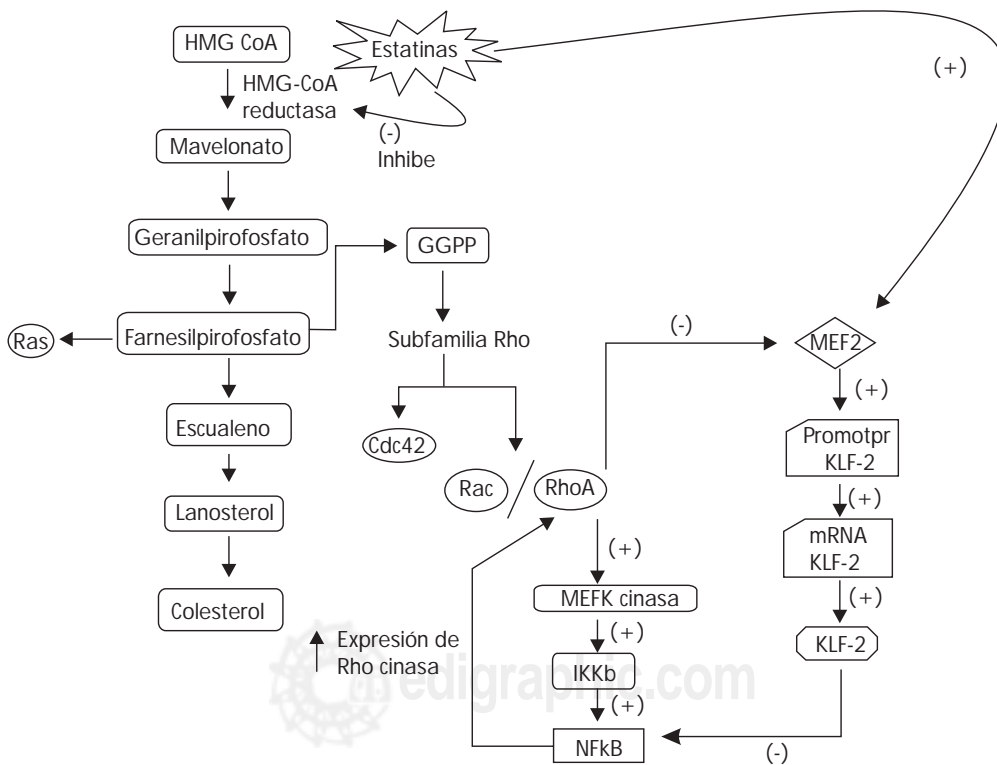


Figura 7. Vía de integración del sistema Rho, NfκB y MEF-2 y su interacción con las estatinas. GGPP: Geranio-geranil pirofosfato, Rac: RhoA: Familia de gen homólogo de RAS miembro A, MEFK: MEF-cinasa, IKKb: Inhibidor kappa cinasa alfa y beta NfκB: Factor Nuclear Kappa Beta, MEF-2: Factor de mejoramiento del miocito-2, KLF-2: Factor Kruppel-like.

OTRAS INDICACIONES DE LAS ESTATINAS

El conocimiento reciente de las otras acciones de las estatinas en las diferentes vías de señalización intracelular, han permitido investigar sus efectos en varias enfermedades, siendo una alternativa futura de gran interés. Presentamos algunos datos que involucran la inhibición que presentan las estatinas en la vía de la Rho cinasa en ciertas enfermedades (Figura 8).

ESTATINAS Y EL VIH

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) es una de las mayores pandemias que ha sufrido la humanidad en toda su historia. La terapia antirretroviral combinada, o HAART, no ha conseguido detener la expansión del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Investigaciones recientes han demostrado que las estatinas, son capaces de actuar como antirretrovirales, impidiendo tanto la infección como el ensamblaje de nuevos viriones del VIH. Ambos procesos requieren la formación de complejos de proteínas en la membrana celular, lo que a su vez está condicionado por el citoesqueleto. Microdominios de la membrana celular, denominados balsas de membrana (que presentan un alto contenido en colesterol) constituyen la puerta por la que el virus entra en la célula. El VIH infecta y mata a los linfocitos T se une por medio de la gp 120 a los receptores del linfocito T el CD4 y el CCR5 o el CXCR4, al unirse a estos receptores, se produce la activa-

ción de las Rho GTPasas, esto permite el movimiento de las balsas de membrana y la formación del complejo necesario para la entrada del virus.¹⁰⁶⁻¹⁰⁸ Los efectos anti-VIH de las estatinas se deben principalmente a la inhibición de la proteína Rho, un regulador del esqueleto celular; por tanto el VIH no puede inducir la reorganización del citoesqueleto que necesita el virus para entrar o salir de la célula. En la formación de nuevos virus, distintas proteínas del virus, como la proteína de la cápsula p24, de matriz p17 y las de la envuelta gp120 y gp41, deben formar grandes complejos en la membrana celular. De nuevo, estas proteínas se anclan a las balsas de membrana y el citoesqueleto sería el responsable de mover dichas balsas para juntarlas.¹⁰⁹⁻¹¹²

ESTATINAS EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER Y LA DEMENCIA SENIL

Las estatinas como manejo terapéutico en la enfermedad de Alzheimer, se tienen dos corrientes, la primera menciona que el alelo $\Sigma 4$ de la apolipoproteína E (ApoE), que participa en el metabolismo del colesterol, es un factor de riesgo genético para la aparición tardía de la enfermedad de Alzheimer. En el sistema nervioso central, la ApoE promueve la formación de amiloides insolubles y puede modificar la aparición de los nudos neurofibrilares. Cuando se reduce el colesterol neuronal en los animales de experimentación, se reduce la síntesis del péptido

Blancos terapéuticos secundarios a la inhibición de Rho-cinasa

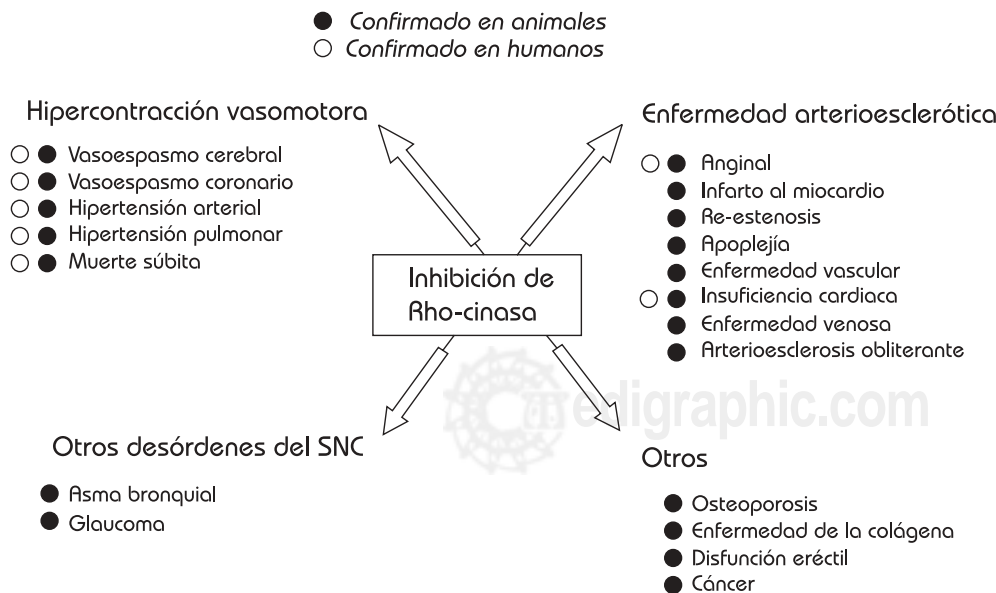


Figura 8. Posibles efectos benéficos de las estatinas al inhibir la vía de Rho-cinasa.

beta-amiloide. Al parecer es biológicamente plausible que la reducción del colesterol en suero puede afectar el desarrollo de esta enfermedad. Los estudios de observación han reportado que el uso de estatinas se asocia a una menor incidencia de la enfermedad de Alzheimer. La segunda corriente asegura que la reducción de la demencia por parte de las estatinas se debe fundamentalmente a que reducen el riesgo cardiovascular a través de la inhibición de la síntesis del colesterol o mediante efectos antiinflamatorios, mecanismos biológicos que podrían jugar un papel central en el desarrollo de demencia, en particular en la enfermedad de Alzheimer, aunque nada se ha confirmado definitivamente.^{113,115}

ESTATINAS EN LAS ENFERMEDADES DE LA COLÁGENA

No existían datos clínicos que revelen claramente que las estatinas pudiesen modular el curso de una enfermedad autoinmune o que modifiquen de hecho los factores de riesgo vasculares en el contexto de la inflamación crónica. La artritis reumatoide es una artropatía inflamatoria crónica que se asocia a riesgo vascular acelerado con mortalidad temprana y aumento de la morbilidad, lo que supone que los caminos inflamatorios mediados por las citosinas pueden en parte explicar este riesgo vascular por alteración clásica (lípidos), disfunción endotelial o insulino-resistencia. Además, las estatinas suprimen *in vivo* la inflamación articular en la artritis colágeno-inducida, e *in vitro*, reducen la liberación de citosinas en la artritis reumatoide sinovial. Similares efectos antiinflamatorios se han divulgado para modelos neurológicos de la inflamación. Las estatinas, por consiguiente, tienen un aceptable perfil de actividad biológica *in vitro* e *in vivo*, lo que posiblemente les permitiría ser utilizadas como agentes terapéuticos en la artritis reumatoide y focalizado hacia el riesgo vascular y la inflamación sinovial.¹¹⁶⁻¹²¹

ESTATINAS EN LA OSTEOPOROSIS

En la literatura relativa a estatinas en osteoporosis, el estudio pionero de esta línea de investigación, realizado en ratas, fue publicado en *Science* en 1999; en él se demostró que las estatinas en cultivo causaban aumento de la expresión de BMP2, una proteína morfogenética que estimula la producción de osteoblastos y, por ende, de hueso. Estos mismos investigadores observaron que los cultivos incubados con algún tipo de estatina presentaban un aumento de la formación de células óseas. Posteriormente, aparecieron otros trabajos que planteaban que las estatinas ejercerían su efecto principalmente a través del aumento de la síntesis ósea y no por disminución de la reabsorción. Si la hipótesis se confirma en pruebas clínicas, las estatinas podrían

liberar a estos enfermos de las graves fracturas que suelen sufrir con mucha frecuencia, tras perder hasta un 60% de masa ósea en zonas tan vitales como las caderas y la columna vertebral.¹²²⁻¹²⁴

BIBLIOGRAFÍA

1. Endo A, Kuroda M, Tsujita Y. ML-236A, ML-236B, and ML-236C, new inhibitors of cholesterologenesis produced by *Penicillium citrinium*. *J Antibiot* 1976; 29: 1346-1348.
2. Alberts AW, Chen J, Kuron G, Hunt V, Huff J, Hoffman C, Rothrock J, Lopez M, Joshua H, Harris E et al. Mevinolin: A highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. *Proc Nat Acad Sci* 1980; 77: 3957-3961.
3. Cilla Jr DD, Whitfield LR, Gibson DM et al. Multiple-dose pharmacokinetics, pharmacodynamics and safety of atorvastatin, an inhibitor of HMG-CoA reductase, in healthy subjects. *Clin Pharmacol Ther* 1996; 60: 687-95.
4. Brown AS, Bakker-Arkema RG, Yellen L et al. Treating patients with documented atherosclerosis of National Cholesterol Education Program recommended low-density-lipoprotein cholesterol goals with atorvastatin, fluvastatin, lovastatin, and simvastatin. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 665-672.
5. Horsmans Y. Different metabolism of statins: importance in drug-drug interactions. *Eur Heart J* 1999; 1 (Suppl 1): 7-12.
6. Quion JAV, Jones PH. Clinical pharmacokinetics of pravastatin. *Clin Pharmacokinet* 1994; 27: 94-103.
7. Brown MS, Goldstein JL. Multivalent feedback of HMG CoA reductasa, a control mechanism coordinating isoprenoid synthesis and cell growth. *J Lip Res* 1980; 21: 505-517.
8. Rosenson RS, Tangney CC. Antiatherothrombotic properties of statins. Implications for cardiovascular event reduction. *JAMA* 1998; 279: 1643-1650.
9. Pitt B, Waters D, Brown WV, van Boven AJ, Schwartz L, Title LM, Eisenberg D, Shurzinske L, McCormick LS. Aggressive lipid-lowering therapy compared with angioplasty in stable coronary artery disease the atorvastatin versus revascularization treatment investigators. *N Engl J Med* 1999; 341: 70-76.
10. Corsini A, Bellosta S, Baetta R. New insights into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins. *Pharmacol Ther* 1999; 84: 413-428.
11. Istvan ES, Deisenhofer J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG CoA reductase. *Science* 2001; 292: 1160-1164.
12. Vaughan CJ, Gotto AM, Basson CT. The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 1-10.
13. Jones P, Kafonek S, Laurora I, Hunninghake D. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (the CURVES Study). *Am J Cardiol* 1998; 81: 582-587.

14. Chong PH, Seeger JD, Franklin C. Clinically relevant differences between the statins: implications for therapeutic selection. *Am J Med* 2001; 111: 390-400.
15. Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994; 344: 138-39.
16. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Baseline serum cholesterol and treatment effect in the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1995; 345: 1274-75.
17. Jukema JW, Bruschke AV, van Booven AJ, Reiber JH, Bat ET, Zwinderman AH, Jansen H, Boerma GJ, van Rappard FM, Lie KI et al. Effects of lipid lowering by pravastatin on progression and regression of coronary artery disease in symptomatic men with normal to moderately elevated serum cholesterol levels. The Regression Growth Evaluation Statin Study (REGRESS). *Circulation* 1995; 91: 2528-40.
18. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. Influence of pravastatin and plasma lipids on clinical events in the West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS). *Circulation* 1998; 97: 1440-45.
19. Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, Rouleau JL, Rutherford JD, Cole TG et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and recurrent events trial investigators (CARE). *N Engl J Med* 1996; 335: 1001-9.
20. The Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemia Disease (LIPID) Study Group. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. *N Engl J Med* 1998; 339: 1349-57.
21. Aviram M, Fuhrman B. LDL oxidation by arterial wall macrophages depends on the oxidative status in the lipoprotein and in the cell: role prooxidants vs oxidants. *Mol Cell Biochem* 1998; 188: 149-59.
22. Furberg C, Adams HP, Applegate WB, Byington RP, Espeland MA, Hartwell T et al. Effect of lovastatin on early carotid atherosclerosis and cardiovascular events. Asymptomatic Carotid Artery Progression Study (ACAPS) Research Group. *Circulation* 1994; 90: 1679-87.
23. Amoroso G, Van Boven AJ, Crijns HJ. Drug Therapy or coronary angioplasty for the treatment of coronary artery disease. *Am Heart J* 2001; 141: S22-5.
24. Pitt B, Waters D, Brown WV, van Boven AJ, Schwartz L, Title LM et al. Aggressive lipid-lowering therapy compared with angioplasty in stable coronary artery disease. Atorvastatin versus revascularization treatment investigator (AVERT). *N Engl J Med* 1999; 341: 70-6.
25. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of high blood cholesterol in adults. Adult Treatment Panel III. *JAMA* 2001; 285: 2486-97.
26. La Rosa JC, Grundy SM, Waters DD. Intensive lipid lowering with atorvastatin in patients with stable coronary disease. Treating to New Targets (TNT). *N Engl J Med* 2005; 352: 1425-35.
27. Grundy SM, Cleeman JI, Baird MC, Brewer HB, Clark LT, Hunninghake DB et al. For the Coordinating Committee of the National Cholesterol Education Program, Endorsed by the National Heart, Lung, and Blood Institute, American College Implications of Recent Clinical Trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Guidelines. *Circulation* 2004; 110: 227-39.
28. Corsini A, Raitieri M, Sama MR, Fumangali R, Paoletti R. Simvastatin but not pravastatin inhibits the proliferation of rat aorta myocytes. *Pharm Res* 1991; 23: 173-180.
29. Treasure CB, Klein JL, Weintraub, Talley JD, Stillabower ME, Kosinski AS et al. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1995; 332: 481-487.
30. Anderson TJ, Merclüh IT, Yeung AC, Frei B, Schwyn AP, Ganz I. The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Engl J Med* 1995; 332: 488-493.
31. Egashira K, Hirooka Y, Kai H, Sugimachi M, Suzuki S, Inou T et al. Reduction in serum cholesterol with pravastatin improves endothelium-dependent coronary vasomotion in patients with hypercholesterolemia. *Circulation* 1994; 89: 2519-2524.
32. Strocs ESG, Koomans IIA, de Bruin TWA, Rabclink TJ. Vascular function in the forearm of hypercholesterolaemic patients of and on lipid-lowering medication. *Lancet* 1995; 346: 467-471.
33. Andrews TC, Raby K, Barry J, Naimi CL, Allred E, Ganz P et al. Effect of cholesterol reduction on myocardial ischemia in patients with coronary disease. *Circulation* 1997; 95: 324-328.
34. Eichstadt HW, Eskotter H, Hoffmann I, Amthauer HW, Weidinger G. Improvement of myocardial perfusion by short-term fluvastatin therapy in coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1995; 76: 122-125.
35. Moncada S, Higgs EA. L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002-2012.
36. López-Farre A, Caramelo C, Esteban ML, Alberola L, Millás I, Monton M et al. Effects of aspirin on platelet-neutrophil interactions. Role of nitric oxide and endothelin-1. *Circulation* 1995; 91: 2080-88.
37. Radomski MW, Palmer RMJ, Montada S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet* 1987; ii: 1057-58.
38. López-Farré A, Riesco A, Digiuni E, Mosquer JR, Caramelo C, Sánchez de Miguel L, Millás I, de Frutos T, Cernadas MR, Montón M, Alonso J, Casado S. Aspirin stimulated nitric oxide production by neutrophils after acute myocardial ischemia in rabbits. *Circulation* 1996; 94: 83-87.
39. López-Farré A, Riesco A, Espinosa G, Digiuni E, Cernadas MR, Álvarez V et al. Effects of endothelin-1 on neutrophil adhesion to endothelial cells and perfused heart. *Circulation* 1993; 88: 1166-71.
40. Yoshizumi M, Perella MA, Burnett JC, Lee ME. Tumor necrosis factor downregulates an endothelial nitric oxide synthase mRNA by shortening its half-life. *Circ Res* 1993; 73: 205-209.
41. Wassmann S, Nickening C. Interrelationship of free oxygen radicals and endothelial dysfunction by statin. *Endothelium* 2003; 10: 23-33.
42. Goldstein JL, Brown MS. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature* 1990; 343: 1990.

43. Hoffman GR, Nassar N, Cerione RA. Structure of the Rho family GTP-binding protein Cdc42 in complex with the multifunctional regulators Rho GDI. *Cell* 2000; 100: 345-56.
44. Nobes CD, Hall A. Rho, Rac and Cdc42 GTPases regulate the assembly of multimolecular with actin stress fiber, lamellipodia and filopodia. *Cell* 1995; 81: 53-62.
45. Brills S, Li S, Lyman CW, Chuch DM, Wasmuth JJ, Bernards A et al. The Ras GTPase-activating protein-related human protein IQGAP2 harbors a potential actin binding domain and interacts with claudulin and Rho family GTPases. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 4869-78.
46. Takai Y, Susaki T, Motozaki T. Small GTP-binding protein. *Physiol Rev* 2001; 81: 153-208.
47. Zhong H, Voll R, Gosh S. Phosphorylation of NF- κ B by PKA stimulates transcriptional activity by promoting a novel bivalent interaction with the coactivator CBP/p300. *Mol Cell* 1998; 1: 661-671.
48. Lallemand D, Spyrou G, Yaniv M, Pfarr CM. Variations in Jun and Fos protein expression and AP-1 activity in cycling, resting and stimulated fibroblasts. *Oncogene* 1997; 14: 819-30.
49. Chen C, Zhou Y, Zhou Z, Sun X, Otto KB, Uht RM, Dong JT. Regulation of KLF5 involves the Sp1 transcription factor in human epithelial cells. *Gene* 2004; 330: 133-42.
50. Wächtershäuser A, Akoglu B, Stein J. HMG-CoA reductase inhibitor mevastatin enhances the growth inhibitory effect of butyrate in the colorectal carcinoma cell line Caco-2. *Carcinogenesis* 2001; 22: 1061-67.
51. Yokoyama K, Ishibashi T, Ohkawara H, Kimura J, Matsuo-ka I, Sakamoto T et al. HMG-CoA Reductase inhibitors suppress intracellular calcium mobilization and membrane current induced by lysophosphatidylcholine in endothelial cells. *Circulation* 2002; 105: 962.
52. Liao JK, Laufs U. Pleiotropic effects of statins. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 2005; 45: 89-118.
53. Maack C, Kartes T, Kilter H et al. Oxygen free radical release in human failing myocardium is associated with increased activity of Rac1-GTPase and Represents a Target for Statin Treatment, German; Institute of Molecular Cardiology. *Circulation* 2003; 108: 1567-1574.
54. Jalil J, Lavandero S, Chiang M, Ocaranza MP. La vía de señalización Rho/Rho-cinasa en la enfermedad y el remodelado cardiovascular. *Rev Esp Cardiol* 2005; 58: 951-61.
55. Shimokawa H, Takeshita A. Rho-Kinase is an important therapeutic target in cardiovascular medicine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1767-75.
56. Vojtek AB, Der CJ. Increasing complexity of the Ras signaling pathway. *J Biol Chem* 1998; 273: 19925-8.
57. Khorravi-Far R, Campbell S, Rossman KL, Der CJ. Increasing complexity of Ras Signal Transduction: Involvement of Rho Family Proteins. *Adv Cancer Res* 1998; 72: 55-105.
58. Dodemont HJ, Soriano P, Quax WJ, Ramaekers F, Leutra JA, Groenen MAM et al. The genes coding for the cytoskeletal proteins actin and vimentin in warm-blooded vertebrates. *EMBO J* 1982; 1(2): 167-71.
59. Barandier C, Ming X, Yang Z. Small G Proteins as Novel Therapeutic Targets in Cardiovascular Medicine. *N Physiol Sciences* 2003; 18: 18-22.
60. MacKay DJ, Hall A. Rho GTPases. *J Biol Chem* 1998; 273: 20685-88.
61. Palmby TR, Abe K, Der ChJ. Critical Role of the Pleckstrin Homology and Cysteine-rich Domains in Vav Signaling and Transforming Activity. *J Biol Chem* 2002; 277: 39350-9.
62. Kyung Hee Hong, Jewon Ryu, Ki Hoon Han. Monocyte chemoattractant protein-1-induced angiogenesis is mediated by vascular endothelial growth factor-A. *Blood* 2005; 105: 1405-7.
63. Ishibashi T, Nagata K, Ohkawara H, Sakamoto T, Yokoyama K, Shindo J, Sugimoto K, Sakurada S, Takuwa Y, Teramoto T, Maruyama Y. Inhibition of Rho/Rho-kinase signaling downregulates plasminogen activator inhibitor-1 synthesis in cultured human monocytes. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1590: 123-30.
64. Kaartinen V, Haataja L, Nagy A, Heisterkamp N, Groffen J. TGF β 3-induced activation of RhoA/Rho-kinase pathway is necessary but not sufficient for epithelio-mesenchymal transdifferentiation: Implications for palatogenesis. *Int J Mol Med* 2002; 9: 563-570.
65. Pan JH, Sukhova GK, Yang JT, Wang B, Xie T, Fu H et al. Macrophage migration inhibitory factor deficiency impairs atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Circulation* 2004; 109: 3149-53.
66. Martin G, Duez H, Blanquart C, Berezowski V, Poulain P, Fruchart JC, Najib Fruchart J et al. Statin-induced inhibition of the Rho-signaling pathway activates PPAR α and induces HDL apoA-I. *J Clin Invest* 2001; 107: 1423-1432.
67. Dechend R, Müller D, Koon Park J, Fiebeler A, Haller H, Luft FC. Statins and angiotensin II-induced vascular injury. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 349-353.
68. Mraiche F, Cena J, Das D, Vollrath B. Effects of statins on vascular function of endothelin-1. *Br J Pharmacol* 2005; 144: 715-26.
69. Dang DT, Pevsner J, Yang VW. The biology of the mammalian Kruppel-like family of transcription factors. *Int J Biochem Cell Biol* 2000; 32: 1103-21.
70. Bicker JJ. Kruppel-like factor: three fingers in many foets. *J Biol Chem* 2001; 276: 34355-58.
71. Suzuki T, Aizawa K, Matsumura T, Nagai R. Vascular implications of Kruppel-like family of transcription factors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1135-41.
72. Barnes PJ, Karin M. Nuclear Factor- κ B. A pivotal transcription factor in chronic inflammatory disease. *N Engl J Med* 1997; 336: 1066-71.
73. Velásquez TA, Gariglio VP. Posible papel del factor de transcripción ap1 en la regulación tejido-especifica del papilomavirus humano. *Rev Invest Clin* 2002; 54: 231-42.
74. Welter JF, Crish JJ, Agarwal C, Eckert RL. Fos related antigen (Fra-1), Jun B and Jun D activate human involucrin promoter transcription by binding to proximal and distal AP-1 sites to mediate phorbol ester effects on promoter activity. *J Biol Chem* 1995; 270: 12614-22.
75. Brand K, Page S, Wall AK, Neumeier D, Baeuerle PA. Role of nuclear factor- κ B in atherogenesis. *Exp Physiol* 1997; 82: 297-304.
76. de Martin R, Hoeth M, Hofer-Warbinek R, Sumid JA. The transcription factor NF- κ B and the regulation of vascular cell function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: e83-e88.

77. Traenckner EB, Pahl HL, Henkel T, Schmidt KN, Wilk S, Baeuerle PA. Phosphorylation of human I κ B α on serines 32 and 36 controls I κ B α proteolysis and NF- κ B activation in response to diverse stimuli. *EMBO J* 1995; 14: 2876-83.
78. Mercurio F, Zhu H, Murria BW, Shevchenko A, Bennet BL, Li JW et al. IKK-1 and IKK-2: cytokine-activated I κ B kinases essential for NF- κ B activation. *Science* 1997; 278: 860-6.
79. Anwar KN, Fazal F, Malik AB, Rahman A. RhoA/Rho-Associated Kinase Pathway Selectively Regulates Thrombin-Induced Intercellular Adhesion Molecule-1 Expression in Endothelial Cells via Activation of I κ B Kinase β and Phosphorylation of RelA/p65. *J Immunol* 2004; 173: 6965-72.
80. Li W, Asagami T, Matsushita H, Lee K, Tsao PS. Rosuvastatin attenuates monocyte-endothelial cell interactions and vascular free radical production in hypercholesterolemic mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 313: 557-62.
81. May MJ, Ghosh S. Signal transduction: I κ B Kinases: Kinsmen with Different Crafts. *Science* 1999; 284: 271-3.
82. Jiang B, Xu S, Hou X, Pimentel DR, Brecher P, Cohen RA. Temporal Control of NF- κ B Activation by ERK Differentially Regulates Interleukin-1 β -induced Gene Expression. *J Biol Chem* 2004; 279: 1323-29.
83. Napoleone E, Di Santo A, Bastone A, Peri G, Mantovani A, de Gaetano G, Donati MB, Lorenzet R. Long pentraxin PTX3 up regulates tissue factor expression in human endothelial cells: A novel link between vascular inflammation and clotting activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 782-7.
84. Shi C, Zhang X, Chen Z, Robinson MK, Simon DI. Leukocyte Integrin Mac-1 Recruits Toll/Interleukin-1 Receptor Superfamily Signaling Intermediates to Modulate NF- κ B Activity. *Circulation Research* 2001; 89: 859-65.
85. Middleton G, Hamanoue M, Enokido Y, Wyatt S, Pennica D, Jaffray E, Hay RT, Davies AM. Cytokine-induced nuclear factor kappa b activation promotes the survival of developing neurons. *J Cell Biol* 2000; 148: 325-332.
86. Jobin C, Sartor RB. The I κ B/NF- κ B system: a key determinant of mucosal inflammation and protection. *Am J Physiol* 2000; 278: C451-462.
87. Hayashi T, Faustman D. Essential role of human leukocyte antigen-encoded proteasome subunits in NF- κ B activation and prevention of tumor necrosis factor- α -induced apoptosis. *J Biol Chem* 2000; 275: 5238-47.
88. Castrillo A, Díaz-Guerra MJM, Hortelano S, Martín-Sanz P, Boscá L. Inhibition of I κ B Kinase and I κ B Phosphorylation by 15-Deoxy-Delta 12,14-Prostaglandin J2 in Activated Murine Macrophages. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 1692-98.
89. Jaclyn L, Karin M. The carboxyl-Terminal region of I κ B kinase (IKK α) is required for full IKK activation. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 6573-81.
90. Hehner SP, Hofmann TG, Ushmorov A, Dienz O, Wing-Lan Leung I, Lassam N, Scheiderei C, Dröge W, Schmitz ML. Mixed-Lineage Kinase 3 Delivers CD3/CD28-Derived Signals into the I κ B Kinase Complex. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 2556-68.
91. Kawakami T, Chiba T, Suzuki T, Iwai K, Yamanaka K, Minato N et al. NEDD8 recruits E2-ubiquitin to SCF E3 ligase. *EMBO J* 2001; 20: 4003-12.
92. Regula KM, Ens K, Kirshenbaum LA. IKK β is required for Bcl-2-mediated NF- κ B activation in ventricular myocytes. *J Biol Chem* 2002; 277: 38676-82.
93. Antonsson A, Hughes K, Edin S, Grundstrom T. Regulation of c-Rel Nuclear Localization by Binding of Ca²⁺/Calmodulin. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 1418-1427.
94. Reynaert NL, Ckless K, Korn SH, Vos N, Guala AS, Wouters EFM, van der Vliet A, Janssen-Heininger YMW. From the Cover: Nitric oxide represses inhibitory κ B kinase through S-nitrosylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 8945-50.
95. O'Mahony AM, Montano M, Van Beneden K, Chen LF, Greene WC. Human T-cell lymphotropic virus type 1 tax induction of biologically active NF- κ B requires I κ B kinase-1-mediated phosphorylation of RelA/p65. *J Biol Chem* 2004; 279: 18137-45.
96. Doerre S, Mesires KP, Daley KM, McCarty T, Knoetig S, Corley RB. Reductions in I κ B ϵ and changes in NF- κ B activity during B lymphocyte differentiation. *J Immunol* 2005; 174: 983-91.
97. Ortego M, Bustos C, Hernandez-Presa, Tuñon J, Diaz C, Hernandez G et al. Atorvastatin reduces NF- κ B activation and chemokine expression in vascular smooth muscle cells and mononuclear cells. *Atherosclerosis* 1999; 147: 253-61.
98. Parmar KM, Nambudiri V, Dai G, Larman HB, Gimbrone MA Jr, Garcia-Cardena G. Statins exert endothelial atheroprotective effects via the KLF2 transcription factor. *J Biol Chem* 2005; [Epub ahead of print].
99. Rosenson RS, Wolff D, Tangney CC. Statins reduce oxidized low-density lipoprotein levels, but do not alter soluble intercellular cell-adhesion molecule-1 and vascular cell-adhesion molecule-1 levels in subjects with hypercholesterolaemia. *Clin Sci (Lond)* 2004; 106: 215-7.
100. Liao JK. Isoprenoids as mediators of the biological effects of statins. *J Clin Invest* 2002; 110: 285-88.
101. Nakagami H, Liao JK. Statins and myocardial hypertrophy. *Coronary Artery Disease* 2004; 15: 247-50.
102. Morikawa S, Takabe W, Mataka C, Wada Y, Izumi A, Saito Y et al. Global analysis of RNA expression profile in human vascular cell treated with statins. *J Atheroscler Thromb* 2004; 11: 62-72.
103. Laufs UK, Liao JK. Isoprenoid metabolism and the pleiotropic effects of statins. *Current Atherosclerosis Reports* 2003; 5: 372-378.
104. Chen MS, Xu FP, Wang YZ, Zhang GP, Yi Q, Zhang HQ, Luo JD. Statins initiated after hypertrophy inhibit oxidative stress and prevent heart failure in rats with aortic stenosis. *J Mol Cell Cardiol* 2004; 37: 889-96.
105. Masamura K, Oida K, Kanebara H, Suzuki J, Horie S, Ishii H, Miyamori I. Pitavastatin-induced thrombomodulin expression by endothelial cells acts via inhibition of small G proteins of the Rho family. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 512-7.
106. Arnaud C, Mach F. Pleiotropic effects of statins in atherosclerosis: role on endothelial function, inflammation and immunomodulation. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2005; 98: 661-6.
107. Fichtenbaum CJ, Gerber JG, Rosenkrantz SL. Pharmacokinetic interactions between protease inhibitors and statins in HIV seronegative volunteers: ACTG Study A5047. *AIDS* 2002; 16(4): 569-577.

108. del Real G, Jiménez-Baranda S, Lacalle RA, Mira E, Lucas P, Gómez-Mouton C et al. Blocking of HIV-1 infection by targeting CD4 to nonraft membrane domains. *J Exp Med* 2002; 196: 293-301.
109. Nguyen DH, Taub DD. Targeting lipids to prevent HIV infection. *Mol Interv* 2004; 4: 318-20.
110. del Real G, Jimenez-Baranda S, Mira E, Lacalle RA, Lucas P, Gomez-Mouton C et al. Statins inhibit HIV-1 infection by down-regulating Rho activity. *J Exp Med* 2004; 200: 541-7.
111. Thorp EB, Gallagher TM. Requirements for CEACAMs and cholesterol during murine coronavirus cell entry. *J Virol* 2004; 78: 2682-92.
112. Choi KS, Aizaki HH, Lai MM. Murine coronavirus requires lipid rafts for virus entry and cell-cell fusion but not for virus release. *J Virol* 2005; 79: 9862-71.
113. Wolozin B, Kellman W, Ruosseau P, Celesia GG, Siegel G. Decreased prevalence of Alzheimer disease associated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Arch Neurol* 2000; 57: 1439-43.
114. Fassbender K, Simons M, Bergmann C, Stroick M. Simvastatin strongly reduces levels of Alzheimer's disease beta-amyloid peptides Abeta 42 and Abeta 40 *in vitro* and *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 5856-61.
115. Jick H, Zornberg GL, Jick SS, Seshadri S, Drachman DA. Statins and the risk of dementia. *Lancet* 2000; 356: 1627-31.
116. Krabbe KS, Pederson M, Bruunsgaard H. Inflammatory mediators in the elderly. *Exp Gerontology* 2004; 39: 687-99.
117. Kida Y. Statins and rheumatoid arthritis. *Lancet* 2004; 364: 1854-5.
118. Van Denderen JC, Peters M, Halm VV, Horst-Bruinsma IV, Dijkmans B, Nurmohamed M. Statin therapy might be beneficial for treating patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2005; [Epub ahead of print].
119. Tikiz C, Utuk O, Pirildar T, Bayturan O, Bayindir P, Taneli F, Tikiz H, Tuzun C. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition and statin treatment on inflammatory markers and endothelial functions in patients with long-term rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2005; 32: 2095-2101.
120. Riboldi P, Gerosa M, Meroni PL. Statins and autoimmune diseases. *Lupus* 2005; 14(9): 765-8.
121. McCarey DW, Sattar N, McInnes IB. Do the pleiotropic effects of statins in the vasculature predict a role in inflammatory diseases? *Arthritis Res Ther* 2005; 7: 55-61.
122. Mundy G, Garrett R, Harris S, Gutiérrez G. Stimulation of bone formation *in vitro* and in rodents by statins. *Science* 1999; 286: 946-9.
123. Reid IR, Hague W, Emberson J. Effect of pravastatin on frequency of fracture in the LIPID study: secondary analysis of a randomized controlled trial. *Lancet* 2001; 357: 509-12.
124. Wang PS, Solomon DH, Mogun H. HMG-Co A reductase inhibitors and the risk of hip fractures in elderly patients. *JAMA* 2000; 283: 3211-6.