



# Disfunción endotelial y proteína inductora de disfunción endotelial (EDIP): un nuevo marcador de esta patología

A. López-Farré

Laboratorio de Investigación Cardiovascular e Hipertensión. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

Las células endoteliales forman una monocapa que recubre el interior de la pared vascular en contacto directo con las células de la sangre. El endotelio es considerado un órgano que en los últimos años ha adquirido una gran relevancia para comprender e incluso tratar patologías cardiovasculares como la hipertensión, arteriosclerosis, hipercolesterolemia, menopausia, diabetes etc. Probablemente en 1980 cuando Furchgott y Zawdzki<sup>1</sup> descubrieron la existencia de un factor difusible desde el endotelio que tenía capacidad vasorrelajadora y, posteriormente, el Dr. Salvador Moncada<sup>2</sup> identificó este factor como el óxido nítrico (NO) dedujeron la importancia que iba a alcanzar el estudio del NO en la fisiopatología cardiovascular.

El NO se forma en el endotelio mediante la conversión metabólica de L-arginina en L-citrulina, reacción que está catalizada por la enzima NO sintasa endotelial (NOSe)<sup>2</sup>. El NO liberado por el NOSe es el responsable de la vasorrelajación endotelio dependiente a través de la guanilato ciclasa soluble, enzima localizada en las células del músculo liso vascular y que genera GMP cíclico. El NO no sólo tiene importancia en la regulación del tono vascular, ya que reduce también el grado de activación de plaquetas y leucocitos impidiendo su agregación y adhesión a la pared del vaso<sup>3,4</sup>.

La falta de relajación a través del sistema NO/GMPc se ha definido como *disfunción endotelial*. La disfunción endotelial se ha detectado en prácticamente todas las patologías de origen cardiovascular. La disfunción del endotelio existe no solo cuando las manifestaciones clínicas de la patología cardiovascular son evidentes, sino también ocurre incluso antes de que se pueda detectar daño vascular por cualquier técnica de imagen. Como ejemplo, se ha detectado disfunción endotelial en

pacientes con arterias coronarias angiográficamente normales<sup>5</sup>.

Realmente el mecanismo por el que el sistema NO/GMPc es disfuncionante en un tema complejo que aún no ha sido completamente identificado. La inducción de la disfunción endotelial, entendida como una reducción en la respuesta vasorrelajante dependiente del endotelio o lo que es lo mismo del sistema del NO/GMPc, puede ocurrir en diversos niveles que enumeraremos a continuación de forma resumida:

a) *Sobre la actividad de la NOSe*. Se ha descrito la existencia de inhibidores endógenos de la NOSe como la dimetilarginina asimétrica (en inglés: asymmetric dimethyl arginine, ADMA) que compite con la L-arginina impidiendo la formación de NO<sup>6</sup>. En este sentido, en pacientes con hipertensión sal sensible, la administración de dietas con alto contenido de sal incrementan los niveles plasmáticos de ADMA lo que se correlacionó con un aumento de la presión arterial y una reducción en la excreción urinaria de NO<sup>6</sup>. Otra forma de regulación de la actividad de la NOSe es mediante la interacción de la NOSe con una proteína de membrana denominada caveolina. Las caveolinas son unas proteínas localizadas en unas invaginaciones de la membrana denominada caveola. La unión de la caveolina con la NOSe inhibe la actividad de esta última (fig. 1)<sup>7</sup>. Otra forma conocida de modular la actividad NOSe es mediante la fosforilación de esta enzima mediante la proteína quinasa de serina-treonina Akt (proteína quinasa B). La fosforilación de la NOSe por la AKT proteína quinasa activa su capacidad de generar NO<sup>8</sup>.

b) *Sobre la expresión de NOSe*. Aunque la definición inicial de esta isoforma de NOS fue la de NOS constitutiva, al observarse su presencia de forma constitutiva en las células endoteliales, actualmente empezamos a conocer la existencia de mecanismo complejos que regulan los niveles de expresión de esta enzima. En este sentido, los estrógenos, el ejercicio físico, y la fuerza de rozamiento de la sangre sobre el endotelio (shear stress) aumentan los niveles de expresión de esta isoforma de NOS. Por otro lado, al

**Correspondencia:** Dr. A. López Farré  
Laboratorio de Investigación  
Cardiovascular e Hipertensión  
Fundación Jiménez Díaz  
Madrid



Fig. 1.—Esta figura representa diferentes mecanismos por los que se regula la capacidad del endotelio de generar óxido nítrico. El óxido nítrico es generado por la óxido nítrico sintasa endotelial (NOSe). El óxido nítrico liberado puede ser captado por radicales libres, formando otros radicales libres como el peroxinitrito impidiendo la acción del óxido nítrico sobre la guanilato ciclasa soluble localizada en la célula del músculo liso vascular. Existen otros mecanismos por los que se puede inhibir la actividad de esta enzima sobre todo destacar la interacción con unas proteínas denominadas proteolínas y la acción de unos competidores endógenos de la L-arginina como el ADMA. También existen mecanismos que activan la formación de óxido nítrico por la NOSe como el de la Akt-quinasa.

gunas citoquinas como el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) o la interleuquina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) disminuyen los niveles de expresión de la NOSe<sup>9,10</sup>.

Trabajos recientes han demostrado que la disminución en los niveles de expresión de esta isoforma de NOS en respuesta a estas citoquinas se debe a una disminución en la vida media del RNA mensajero que codifica para esta enzima<sup>9</sup>.

Recientemente, nuestro grupo describió como distintas citoquinas disminuyen la expresión de la proteína NOSe reduciendo la vida media del ARN mensajero de NOSe mediante la activación de la interacción de una proteína citosólica del endotelio con la región 3'-UTR del ARN mensajero de la NOSe<sup>9,10</sup> por lo que esta proteína se definió como inductora de la disfunción endotelial (sus siglas en inglés EDIP). Mediante este mecanismo, citoquinas como el TNF- $\alpha$  o la IL-1 $\beta$  disminuyen la expresión de NOSe, impidiendo que la célula endotelial libere un nivel adecuado de NO y por lo tanto induciendo la disfunción del endotelio (fig. 2).

c) Sobre la vida media del NO. Los radicales libres y particularmente el ión superóxido, cataboliza el NO impidiendo su acción sobre las células del músculo liso vascular y sobre las células sanguíneas, en este sentido, los antioxidantes han demostrado un efecto beneficioso sobre la mejora de la funcionalidad del endotelio (fig. 1).

d) Regulación de la expresión de la guanilato ciclasa soluble. La guanilato ciclasa soluble es el re-

ceptor principal del NO. En algunas situaciones como en ratas viejas y en un tipo de ratas espontáneamente hipertensas que desarrollan accidentes cerebrovasculares, se ha observado una reducción de la expresión de esta enzima en la pared vascular.

## IDENTIFICACIÓN DE LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

Uno de los grandes retos que quedan por conocerse es si en las patologías de origen cardiovascular, en las que la disfunción endotelial parece tener un papel fundamental y común a todas ellas, existe un inductor común que sea responsable de la génesis de la disfuncionalidad del endotelio lo que facilitaría determinando este supuesto inductor la identificación de la función endotelial. Actualmente, hay que utilizar en la mayoría de los casos técnicas invasivas como la coronangiografía para poder detectar la disfunción endotelial. Estas técnicas conllevan un riesgo para el paciente. Por lo tanto, hay que destacar no sólo la dificultad en la valoración de la infusión intracoronaria de acetilcolina sino también su naturaleza de técnica invasiva lo que conlleva un riesgo para el paciente.

Muchos han sido los intentos de encontrar un marcador bioquímico específico de la disfunción endotelial. No obstante, ninguno de los determinados hasta la fecha por sí solos han demostrado

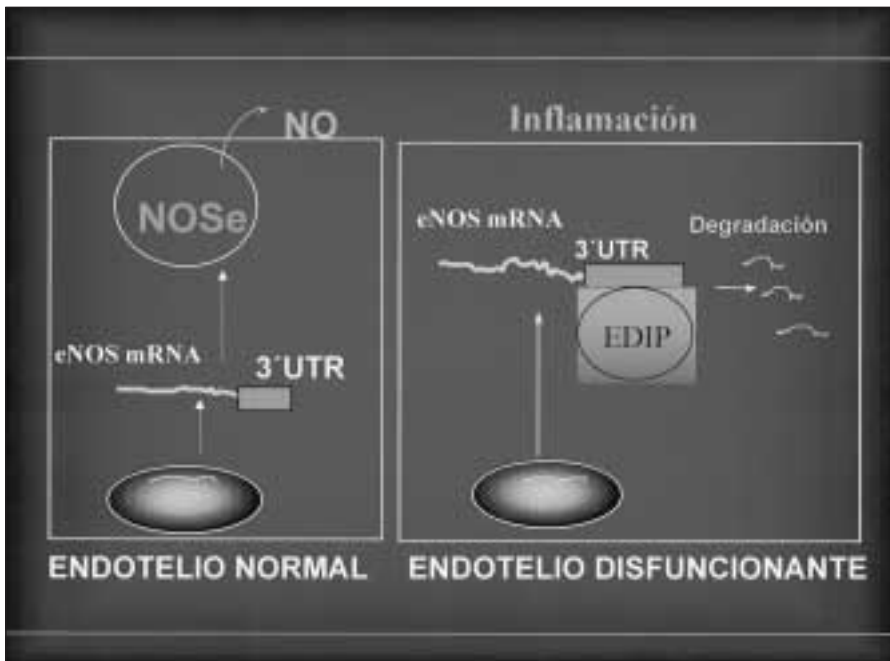


Fig. 2.—Esta figura representa el modo de acción de una proteína citosólica (siglas en inglés EDIP, proteína inductora de la disfunción endotelial), que puede reducir la expresión de óxido nítrico sintasa endotelial (NOSe). En un endotelio normal se sintetiza el ARNm de la NOSe que va a dar lugar a proteína de NOSe que mediante su actividad genera óxido nítrico. En una situación de inflamación aparece en el citosol de las células endoteliales una proteína denominada EDIP que interacciona con el RNA mensajero de la NOSe facilitando su degradación. De esta forma hay una reducción en la expresión de la NOSe y el endotelio tiene una menor capacidad de liberar óxido nítrico, por lo tanto tenemos la situación de un endotelio disfuncionante.

ser suficientemente preciso y específico para la detección de esta patología. Además hay que señalar, que a pesar de que la disfunción del endotelio es una patología común a prácticamente todas las patologías de origen cardiovascular, no existe para ello un tratamiento único y específico. La mayoría de los fármacos con los que habitualmente se trata de forma específica cada patología cardiovascular han demostrado, en mayor o menor medida, mejorar a su vez la disfunción endotelial del paciente. Como ejemplo, es conocido que las mujeres menopáusicas con riesgo de enfermedad coronaria se les trata con estrógenos y mejora este riesgo y también su disfuncionalidad endotelial. Lo mismo ocurre con los pacientes hipercolesterolémicos, se les trata con estatinas se les consigue descender las cifras de colesterol y también se mejora la funcionalidad del endotelio, y así podríamos hablar de prácticamente todas las patologías cardiovasculares y de los fármacos que habitualmente se utilizan para su tratamiento. Incluso la grasa de la dieta produce disfunción endotelial mientras que el vino tinto, particularmente el fermentado en barrica de roble, y el aceite de oliva mejoran esta patología<sup>11,12</sup>. Pero creemos importante insistir en la idea de que a pesar de ser una patología común a prácticamente todas las patologías de origen cardiovascular, no existe en el momento actual un tratamiento específico para la disfunción del endotelio.

En nuestro laboratorio se está actualmente realizando estudios intentado determinar si la proteína identificada en nuestro laboratorio inductora de la disfunción endotelial (EDIP) que se une al mensajero de la NOSe podría ser utilizada como marcador bioquímico común de la disfunción del endotelio y diana terapéutica para el tratamiento específico de la disfunción endotelial. A continuación resumiremos brevemente los estudios que se están realizando.

#### EFFECTOS SOBRE LA FUNCIONALIDAD ENDOTELIAL DE INHIBIDORES DE LA HMG COA REDUCTASA

Diferentes estudios clínicos han demostrado que la inhibición de la HMG CoA reductasa por estatinas reduce la morbilidad y mortalidad cardiovascular en pacientes con y sin enfermedad coronaria. La aparición de estos fármacos ha abierto nuevos conocimientos sobre la importancia de la reducción de los niveles de colesterol en los beneficios clínicos obtenidos. No obstante, los beneficios clínicos obtenidos con la administración de estatinas indican que sus efectos beneficiosos no pueden solamente explicarse por la disminución del colesterol sugiriéndose que, aunque indudablemente el colesterol es un factor de riesgo cardiovascular muy importante, existen otros mecanismos moleculares y celulares de riesgo car-

diovascular en los pacientes ateroscleróticos e hipercolesterolemiantes que sobrepasan al propio colesterol y que podrían ser modificado por las estatinas. Probablemente, la disfunción del endotelio sea el factor de riesgo cardiovascular más importante de los conocidos hasta la fecha ya que es inducido por cualquiera de los hasta ahora aceptados (tabaquismo, edad, colesterol, hipertensión, estrés, diabetes, etcétera).

La disfunción endotelial en la hiperlipemia, arteriosclerosis e incluso en la hipertensión es reversible. El tratamiento con inhibidores de la HMG CoA reductasa mejora la respuesta vasodilatadora dependiente del endotelio incluso antes de obtener una reducción clara en los niveles de colesterol<sup>13,14</sup>. Pacientes que presentan vasoconstricción de las arterias epicárdicas coronarias ésta se mejora tras seis meses de tratamiento con lovastatina<sup>13</sup>. El efecto de las estatinas sobre la función del endotelio puede contribuir a los beneficios clínicos observados en los pacientes con enfermedad de arteria coronaria tratados con estatinas. Nuestro laboratorio ha demostrado recientemente que los leucocitos obtenidos de conejos hipercolesterolemicos presentan concentraciones elevadas de la proteína EDIP y que el tratamiento con cerivastatina o con simvastatina reduce el nivel de actividad de esta la proteína citosólica involucrada en la degradación del ARNm de NOSe, protegiendo así la expresión de NOSe y por lo tanto la funcionalidad del endotelio<sup>15,16</sup>. El efecto protector de las estatinas sobre la expresión de NOSe en el endotelio, fue parcialmente independiente de los cambios en los niveles circulantes de colesterol. De hecho, la administración de una dieta normocolesterolémica a conejos hipercolesterolemicos mejora solo parcialmente la respuesta vasodilatadora a la acetilcolina y tiene un efecto protector menor sobre la expresión de NOSe, que el alcanzado con estatinas, a pesar de que el descenso en los niveles de colesterol sean muy semejantes en los dos grupos de conejos. En este mismo sentido, neutrófilos incubados *in vitro* con factor de necrosis tumoral- $\alpha$  en los que se indujo una reducción en la expresión de la NOSe aumentando la proteína EDIP, la presencia de simvastatina redujo de forma dosis dependiente la proteína EDIP protegiendo la expresión de la NOSe<sup>17</sup>. También se ha observado este mismo efecto de las estatinas sobre células endoteliales en cultivo incubadas con factor de necrosis tumoral- $\alpha$ <sup>18</sup>. Estos experimentos fueron realizados tanto en las células endoteliales en cultivo o en los neutrófilos aislados en condiciones en las que los niveles de colesterol no fueron modificados<sup>17,18</sup>.

## RHO GTPASES Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

La inhibición de la geranilación de proteínas por las estatinas es uno de los aspectos y mecanismos de acción de estos fármacos que más se han estado estudiando en el último año. La farnesilación y la geranilación son modificaciones post-transcripcionales de proteínas como las de la superfamilia Ras (Rho, Ras, Rac). Las Rho GTPases son el sustrato principal para las modificaciones post-transcripcionales por isoprenilación. La isoprenilación de estas proteínas une la Rho GTPasa a la membrana de la célula. La forma activa de la Rho GTPasa está unida a ATP mientras que la inactiva une ADP (fig. 3). Un paso clave en la activación de Rho es la unión de geranilgeraniol. Esta modificación post-translacional es necesaria para la translocación de la forma inactiva de Rho desde el citosol a la membrana (fig. 3). Las estatinas y los inhibidores de la geranilgeraniltransferasa al impedir la síntesis de geraniol evitan la unión de este a Rho evitando así la unión de Rho GTPasa al ATP y por tanto la activación de estas proteínas. Este mecanismo de inhibición de las Rho GTPasas por estatinas puede contribuir a explicar algunos de los efectos beneficiosos de las estatinas no dependientes de las modificaciones del colesterol. Entre alguno de los mecanismos atribuidos a la inhibición de los Rho GTPasa por estatina, cabe destacar la inhibición de las proteínas de adhesión en el endotelio o la inhibición de la producción de factores vasoconstrictores como la endotelina-1<sup>19,20</sup>. Rac-1, otro de los miembros de la familia Rho es un componente regulatorio de la NADPH oxidasa, enzima cuya actividad genera radicales libres especialmente ión superóxido, en diferentes tipos de células incluidos los neutrófilos y las células de la pared vascular. La inhibición de la isoprenilación de Rac-1 por estatinas inhibe la liberación de radicales libres en células endoteliales.

La vida media del ARNm de la NOSe también está regulada por las Rho GTPasas<sup>21</sup>. La activación de Rho facilita la formación de fibras de estrés y la reorganización del citoesqueleto de actina. Probablemente los cambios inducidos en el citoesqueleto mediados por Rho afecten a la estabilidad del ARNm de la NOSe. Estudios recientes han demostrado que filamentos del citoplasma y los microtúbulos son necesarios para transportar los ARNm dentro del citoplasma y localizarlos en los compartimentos específicos subcelulares. Probablemente, las proteínas Rho colocalizan al ARNm de NOSe en situaciones cercanas a la proteína EDIP facilitando así la interacción entre ellas induciéndose la degradación del ARNm de NOSe. De tal forma las estatinas protegerían la vida del ARNm de NOSe, y por lo tanto

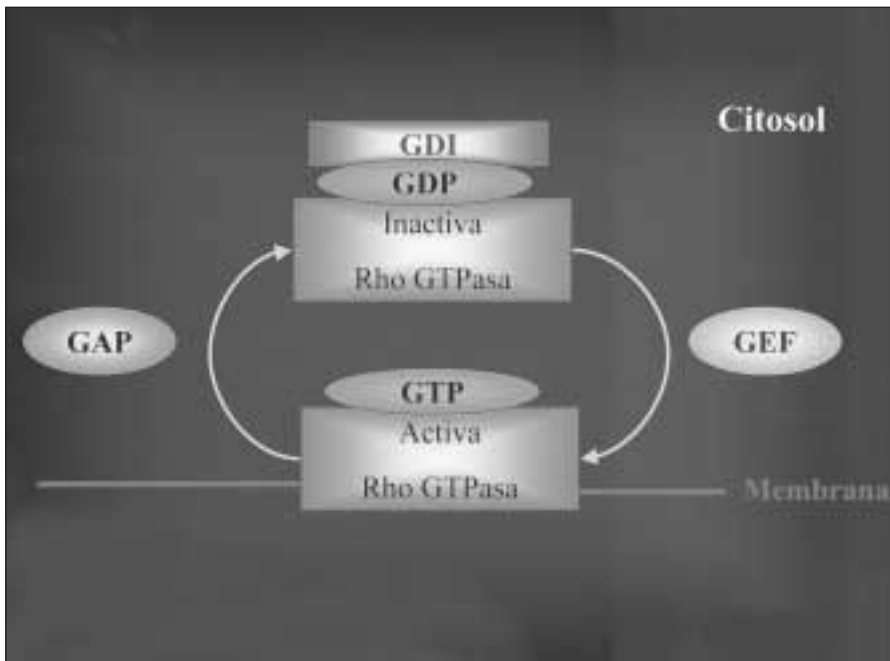


Fig. 3.—Las Rho GTPasas se encuentran de forma inactiva en el citosol de las células endoteliales unidas a ADP. Mediante la interacción con GTP y la geranilación ocurre la translocación de la Rho GTPasa del citosol a la membrana convirtiéndose en la forma activa.

la expresión de NOSe, por un doble mecanismo: a) la presencia de la proteína EDIP, y b) dificultando la colocación del ARNm de NOSe con la proteína EDIP impidiendo así su interacción.

### COLESTEROL Y ACTIVACIÓN PLAQUETARIA

Las plaquetas circulantes están implicadas en la formación del trombo mural en el sitio de rotura de la placa. Como ejemplo, en la angina inestable se admite que una fisura, incluso pequeña, en una placa aterosclerótica, puede ser el gatillo que dispare la reacción en cadena que resulta en la formación de un trombo y en la consiguiente reducción de flujo coronario que empeora e inestabiliza la angina<sup>22</sup>. No obstante, no es necesaria la rotura de la placa de ateroma para que ocurra la activación de estas células. Se ha observado que la hipercolesterolemia, además de promover la aterogénesis, incrementa el riesgo de trombosis coronaria.

El colesterol LDL activa las plaquetas humanas estimulando el ciclo de los fosfoinosítoles, aumentando el contenido de calcio libre citosólico y la liberación de tromboxano  $A_2$ <sup>23</sup>. Se ha observado un aumento de la reactividad plaquetaria en presencia de concentraciones elevadas de colesterol LDL, y una baja reactividad plaquetaria en presencia de concentraciones bajas de colesterol LDL, aunque otros estudios no han podido demostrar la existen-

cia de esta asociación. Incluso se ha sugerido que las estatinas podrían interrelacionar con un receptor plaquetario que inhibiera la activación de estas células<sup>24</sup>. Algunos trabajos han sugerido que las plaquetas obtenidas de pacientes con enfermedad coronaria tienen una menor capacidad de adherirse a la pared vascular, y por lo tanto de formar trombos murales sobre arterias dañadas, tras el tratamiento con algunas estatinas como la pravastatina y no por otras como la simvastatina<sup>25</sup>, sugiriéndose que el efecto antiplaquetario de las estatinas no es un efecto clase de este tipo de fármacos. No obstante, esto es un punto importante de discusión sobre el que no existen datos concluyentes sobre este aspecto.

En resumen, el endotelio y los leucocitos expresan la proteína EDIP implicada en la degradación de ARNm de NOSe y por lo tanto en la reducción de la expresión de NOSe y de la capacidad del endotelio de generar NO. Esta proteína podría ser un buen marcador bioquímico para la detección de la disfunción del endotelio y una diana terapéutica para el desarrollo de fármacos específicos para tratamiento de la disfunción endotelial.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288: 373-376, 1980.



## A. LÓPEZ-FARRÉ

- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs AE: The discovery of nitric oxide as the endogenous nitrovasodilator. *Hypertension* 12: 365-372, 1988.
- López-Farré A, Caramelo C, Esteban A, Alberola ML, Millás I, Montón M, Casado S: Effects of aspirin on platelet-neutrophil interactions: role of nitric oxide and endothelin-1. *Circulation* 91: 2980-2088, 1995.
- Kubes P, Suzuki M, Granger DN: Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci* 88: 587-590, 1991.
- Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL: Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 315: 1046-1051, 1986.
- Fujiwara N, Osanai T, Kamada T, Katoh T, Takahashi K, Okumura K: Study on the relationship between plasma nitrite and nitrate level and salt sensitivity in human hypertension: modulation of nitric oxide synthesis by salt intake. *Circulation* 101: 856-861, 2000.
- Feron O, Belhassen L, Kobzik L, Smith TW, Kelly RA, Michel T: Endothelial nitric oxide synthase targeting to caveolae: specific interactions with caveolin isoforms in cardiac myocytes and endothelial cells. *J Biol Chem* 271: 22810-22814, 1996.
- Fulton D, Gratton JP, McCabe U, Fontana J, Fujio Y, Wash K, Franke TF, Papapetropoulos A, Sessa WC: Regulation of endothelium derived nitric oxide production by the protein kinase. *Akt. Nature* 399: 597-601, 1999.
- Alonso J, Sánchez de Miguel L, Montón M, Casado S, López-Farré A: Endothelial-cytosolic proteins bind to the 3'-UTR region of the region of the endothelial nitric oxide synthase mRNA. Regulation by tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Mol Cell Biol* 17: 5719-5726, 1997.
- Sánchez de Miguel L, Alonso J, González-Fernández F, De la Osada, Montón M, Rodríguez-Feo JA, Guerra JJ, Arriero MM, Rico L, Casado S, López-Farré A: Evidence that an endothelial cytosolic protein binds to the 3'-untranslated region of endothelial nitric oxide synthase mRNA. *J Vasc Res* 36: 201-208, 1999.
- Cuevas AM, Guasch V, Castillo O, Iribarra, V, Minzon C, San Martín A, Strobel P, Pérez D, Germain AM, Leighton F: A high-fat diet induces and red wine counteracts endothelial dysfunction in human volunteers. *Lipid* 35: 143-148, 2000.
- Flech M, Schwarg A, Bohm M. Effects of red and white wine on endothelium dependent vasorelaxation of rat aorta and human coronary arteries. *Am J Physiol* 275: H1183-H1190, 1998.
- Treasure CB, Klein JL, Weintranb WS, Talley JD, Stillabower ME, Kosinski A, Zhang J, Boccuji S, Cedarholm JC, Alexander RW: Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium, in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 332: 481-487, 1995.
- O'Driscoll G, Green D, Taylor RR. Simvastatin an HMG-coenzyme A reductasa inhibitor, improves endothelial function within 1 month. *Circulation* 95: 1126-1131, 1997.
- Jiménez A, Arriero MM, López-Blaya A, González-Fernández F, García R, Fortes J, Millás I, Velasco S, Sánchez de Miguel L, Rico L, Farré J, Casado S, López-Farré A: Regulation of endothelial nitric oxide synthase expression in the vascular wall and in mononuclear cells from hypercholesterolemic rabbits. *Circulation* 2001 (en prensa).
- Jiménez-Fernández AM, Rico L, Millás I, Velasco S, García R, Casado S, López Farré A: Efectos comparativos de los diferentes inhibidores de la HMG-COA reductasa sobre la disfunción endotelial papel de los cambios en el colesterol. *Neofrología* 21 (2): 6 (Abstract), 2001.
- De Frutos T, Sánchez de Miguel L, Farré J, Gómez J, Romero J, Marcos Alberca P, Núñez A, Rico L, López-Farré A. Expression of an endothelial-type nitric synthase isoform in human neutrophils: modification by tumor necrosis factor- $\alpha$  and during acute myocardial infarction. *J Am Coll of Cardiol* 37: 3800-3807, 2001.
- González Fernández F, Jiménez A, López Blaya A, Velasco S, Arriero MM, Celdrán A, Rico L, Farré J, Casado S, López. Farré A: Cerivastatin prevents tumor necrosis factor- $\alpha$  included the regulation of endothelial nitric oxide synthase: role of endothelial cytosolic proteins. *Atherosclerosis* 155: 61-70, 2001.
- Takenchi S, Kawashima S, Rikitake Y, Meyama T, Inoue N, Hirata K, Yokoyama M: Cerivastatin suppress lipopolysaccharide-induced ICAM-1 expression though inhibition of Rho GTPase in BAEC. *Biochem Biophys Res Commun* 269: 97-102, 2000.
- Hernández-Perea O, Pérez-Sala D, Soria E, Lamas S: Involvement of Rho GTPases in the transcriptional inhibition of pre-endothelin-1 gene expression by simvastatin in vascular endothelial cells. *Circ Res* 87: 616-622, 2000.
- Laufs U, Liao JK: Post-transcriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase mRNA stability by Rho GTPase. *J Biol Chem* 273: 24266-24271, 1998.
- López-Farré A, Farré J, Sánchez de Miguel L, Romero J, González J, Rico L, Casado S: Trombosis y enfermedad coronaria: neutrófilos, óxido nítrico y aspirina. *Rev Esp Cardiol* 51: 171-176, 1998.
- Rabini RA, Staffolani R, Martarelli D, Fimelli P, Ravaglia F, Dousset N, Curratola G, Mazzanti L: Influence of low density lipoprotein from insulin-dependent diabetic patients on platelet functions. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 3770-3774, 1999.
- Hussein O, Rosenblat M, Scheniger S, Keidar S, Aviram M: Reduced platelet aggregation after fluvastatin therapy is associated with altered platelet lipid composition and drug binding to the platelets. *Br J Clin Pharmacol* 44: 77-83, 1997.
- Lacote L, Lain JyT: Comparative effect of pravastatin and simvastatin on platelet-thrombus formation in hypercholesterolemic coronary patients. *J Am Coll Cardiol* 74: 735-737, 1994.