

Aterosclerosis e inflamación: papel central del factor de transcripción NF-κB

C. Guijarro y J. Egido^a

Unidad de Medicina Interna. Instituto de Investigación. Fundación Hospital Alcorcón. ^aInstituto de Investigación Médica. Laboratorio de Patología Renal y Vascular. Servicio de Nefrología. Universidad Autónoma de Madrid. Fundación Jiménez Díaz.

Introducción

El éxito incuestionable de la teoría lipídica de la aterosclerosis ha oscurecido la consideración de otros componentes importantes en la fisiopatología de la lesión vascular. Así, aun cuando la importancia de la inflamación en la lesión aterosclerosa fue reconocida ya en el siglo XIX por varios patólogos europeos^{1,2}, este hecho no ha recibido un interés renovado hasta fecha muy reciente³⁻⁵. Por suerte, nuestra comprensión de los mecanismos celulares y moleculares de los procesos inflamatorios es ahora mucho más profunda y detallada que en los tiempos de Virchow. En las lesiones vasculares se ha detectado la expresión de una enorme variedad de moléculas implicadas en los procesos inflamatorios (citocinas, quimiocinas, moléculas de adhesión). En los últimos años se ha comenzado a entender los mecanismos que regulan la expresión genética de estas proteínas. Con el conocimiento detallado del genoma humano, cuyo esbozo inicial se acaba de presentar, es de esperar que en los próximos años la información acerca de la regulación de los genes implicados en el desarrollo de la aterosclerosis crezca de modo exponencial. La expresión génica se modula mediante la unión de los denominados factores de transcripción a determinadas secuencias habitualmente situadas en el promotor de los citados genes⁶. En los últimos años se está empezando a describir con detalle los mecanismos que regulan la activación de uno de los factores de transcripción más importantes en la regulación de las proteínas implicadas en los procesos infla-

matorios: el factor nuclear κB (NF-κB). En la presente revisión se resumen los datos clínicos y experimentales que demuestran la presencia de activación de NF-κB en la placa ateromatosa, los estímulos que promueven la citada activación en las células de la pared vascular y los mecanismos que pueden contribuir a la regulación de la actividad NF-κB con fines terapéuticos.

Función del NF-κB

El NF-κB fue identificado inicialmente como un factor nuclear unido al promotor de la cadena ligera kappa de las inmunoglobulinas en linfocitos B⁷, de donde proviene su denominación. Con posterioridad se ha descrito su presencia en casi todos los tipos celulares, si bien habitualmente secuestrado en el citoplasma en forma inactiva⁸⁻¹¹. Tras la estimulación adecuada, NF-κB es liberado de la subunidad inhibidora (IκB) y traslocado al núcleo, donde promueve la actividad transcripcional de determinados genes. La señal de activación concluye por la nueva síntesis de la subunidad inhibidora IκB. Es interesante destacar que la propia expresión génica de IκB se encuentra bajo el control de NF-κB¹². De este modo, la activación de NF-κB resulta en la regulación negativa de su propia activación por la inducción del inhibidor IκBα (fig. 1), que se une al NF-κB ligado al ADN y lo devuelve inactivado al citoplasma.

Múltiples estímulos extracelulares inducen la activación de NF-κB (tabla 1). El NF-κB promueve la expresión de un gran número de genes implicados en inflamación, como citocinas y moléculas de adhesión (tabla 2). Recientemente hemos asistido a la explosión del interés sobre el papel de NF-κB en patología humana, en especial en muchos trastornos que cursan con inflamación crónica^{13,14}. Con el renacimiento del interés en la inflamación en la patología aterosclerosa, el estudio de la posible implicación de NF-κB en la aterosclerosis ha recibido un nuevo empuje¹⁵.

Palabras clave:
NF-κB. Aterosclerosis. Inflamación. Factores de transcripción.

Correspondencia: Dr. C. Guijarro.
Instituto de Investigación. Fundación Hospital Alcorcón.
Avda. Budapest, 1. 28922 Alcorcón. Madrid.
Correo electrónico: cguijarro@fhalcorcon.es

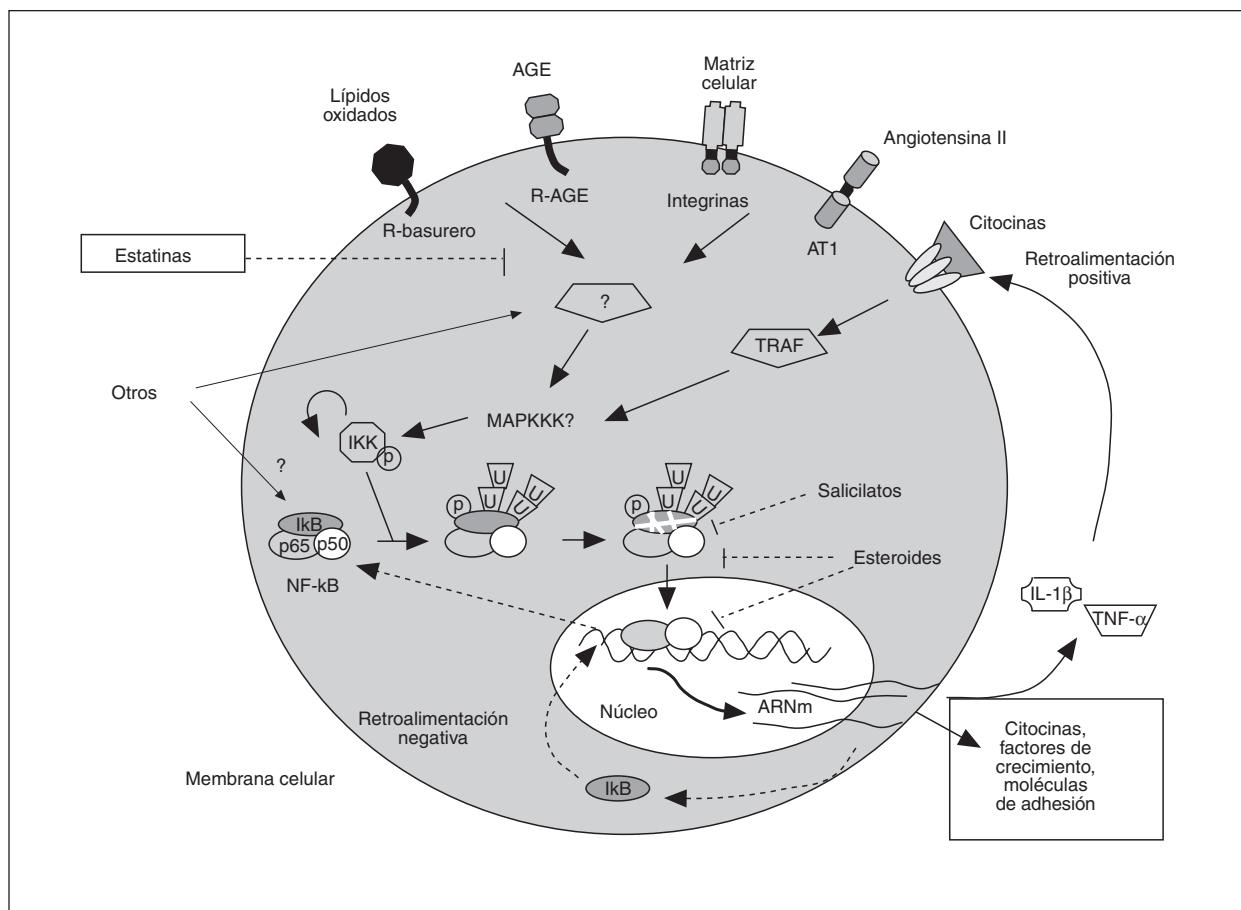


Figura 1. Representación esquemática de las vías de activación de NF-κB. Diversos estímulos extracelulares, a través de receptores específicos, promueven la activación de una cascada de cinasas (MAPKKK), mediante moléculas adaptadoras (TRAF), que resulta en la activación de la cinasa de IκB (IKK). Tras la fosforilación, IκB es poliubiquitinado (U) y degradado proteolíticamente por el proteasoma. Como resultado, el dímero NF-κB (p65-p50) es traslocado al núcleo, donde se une a sitios κB específicos en el ADN y promueve la expresión génica. Algunos de estos genes codifican citocinas inflamatorias que a su vez estimulan la activación de NF-κB formando un ciclo autoestimulador. Por otro lado, NF-κB promueve la expresión de IκB, lo que resulta en la unión de nuevo de IκB a NF-κB y su salida en forma inactiva al citoplasma cerrando un ciclo de retroalimentación negativa. En línea discontinua se representan diversas acciones inhibitorias. Las estatinas probablemente inhiben la transducción de la señal estimuladora de diversos factores. Los salicilatos y los esteroides inhiben la degradación de IκB por el proteasoma. Los esteroides, asimismo, evitan la unión de NF-κB al ADN y promueven la síntesis de IκB.

R: receptor; AGE: productos avanzados de la glucosilación; AT1: receptor 1 de angiotensina II; TRAF: factor asociado al receptor de TNF; MAPK: cinasa inicial de la cascada MAP; P: fosfato; IKK: cinasa de IκB; U: ubiquitina; ARNm: ARN mensajero.

Estructura del NF-κB

En los mamíferos, la forma activa de NF-κB se presenta como un homo o heterodímero de los cinco miembros de la familia NF-κB-Rel (tabla 3) presente habitualmente de forma inactiva en el citoplasma^{8-11,16}. El dímero que se encuentra más habitualmente y al que nos referiremos en el resto del artículo salvo indicación en contra se compone de las subunidades p50 y p65. Todas las proteínas de la familia presentan una zona característica por la que se unen a una secuencia consenso del ADN o

sitio κB: GGGRNNYYCC, en la que R es una purina, Y una pirimidina y N cualquier base. Los diferentes dímeros NF-κB presentan afinidades diferentes a los sitios κB y también varían en su capacidad de activar la transcripción. Por ejemplo p50 y p52 tienen actividad fundamentalmente represora, mientras que p65 y c-Rel son potentes activadores de la transcripción. El estudio de animales *knockout* ha demostrado que sólo el *knockout* de p65 es incompatible con la vida, sugiriendo que existe cierta redundancia funcional en varios de los componentes de la familia.

Tabla 1. Estímulos de NF-κB

Endotoxina (lipopolisacárido bacteriano, LPS)
Virus: herpes, citomegalovirus, adenovirus, hepatitis B, VIH
Estrés químico: oxidativo, osmótico (glucosa, albúmina), estrés mecánico
Mitógenos: ésteres de forbol (estímulos de PKC), suero, fitohemaglutinina, factores de crecimiento
ARN bicatenario
Luz ultravioleta
Citocinas: IL-1, IL-2, TNF-α, interferón
Proteínas de activación de membrana: moléculas de adhesión, fibronectina, CD2, CD3, CD28, αβ TCR
Agentes vasoactivos: angiotensina II, trombina, endotelina
Matriz celular: proteoglicanos, fibronectina

IL: interleucina; TNF: factor de necrosis tumoral.

Tabla 2. Genes dependientes de NF-κB

Cadena ligera kappa de IgG
<i>Citocinas</i>
Interleucinas IL-1; IL-2, IL-6 y sus receptores (IL-2R)
Quimiocinas IL-8, GRO, IP-10, MCP-1, RANTES, MIP-1, eotaxina
Factores estimuladores de colonias: M-CSF, GM-CSF, G-CSF
TNF-α, TNF-β, interferón-β
<i>Moléculas de superficie implicadas en funciones inmunológicas</i>
Cadena β del receptor de linfocitos T
β2-microglobulina
Moléculas de adhesión (selectina, ICAM, VCAM, ELAM)
Antígenos del sistema mayor de histocompatibilidad (clase I, clase II)
<i>Enzimas "inflamatorias"</i>
Sintetasa inducible de óxido nítrico
Ciclooxygenasa 2
5-Lipooxygenasa
Fosfolipasa A citosólica
<i>Genes de respuesta de fase aguda</i>
Amiloide sérico A
Angiotensinógeno
Complemento (B,C4)
Ferritina
Factor tisular
Metaloproteasas
<i>Genes implicados en proliferación, ciclo celular, "antiapoptosis", factores de transcripción</i>
C-rel
C-myc
IFR
Ciclina D1
Inhibidores celulares de la apoptosis (IAP1, IAP2), TRAF1/Bfl1

Activación del NF-κB

La activación de NF-κB puede producirse como consecuencia de una gran variedad de estímulos tanto fisiológicos como patológicos (tabla 1; fig. 1). En el momento actual se desconocen los detalles acerca de cómo esta diversidad de estímulos converge finalmente en el NF-κB. Se conoce con más

Tabla 3. Miembros de la familia NF-κB

Proteínas	Acción sobre la expresión génica
p65/Rel A	Activación intensa
c-Rel	Activación intensa
Rel-B	Activación moderada
p100/p52	Represión
p105/p50	Represión

precisión el modo de activación derivado del estímulo con citocinas como IL-1β y TNF-α. Sin embargo, las principales vías de activación comparten ciertas características¹⁶. En primer lugar, tras un estímulo intenso, se produce la rápida fosforilación y poliubiquitinación de IκB y su degradación proteolítica por el proteasoma en escasos minutos⁹⁻¹¹. Como resultado, las secuencias de localización nuclear de NF-κB quedan expuestas y se produce la traslocación nuclear del mismo. Se han descrito otras formas de activación "atípicas", más débiles y lentas, cuya descripción excede el interés principal del presente artículo. En general, los estímulos proceden mediante la activación de receptores de membrana, que mediante otras proteínas adaptadoras (p. ej., TRAF) activan una cascada de fosforilación de proteínas (proteincinásas de la familia MAP) que resulta en la activación de la cinasa responsable de la fosforilación del propio IκB¹⁷. Aunque el mecanismo de activación a partir de determinadas citocinas como IL-1β y TNF-α está bastante aclarado, quedan todavía muchos puntos por dilucidar. Por ejemplo, es bien conocido que en esta activación participan especies reactivas del oxígeno en algún punto no determinado. Ésta es la base de la capacidad de ciertas moléculas antioxidantes para interferir con la activación de NF-κB.

Una vez en el núcleo, los diferentes dímeros de la familia NF-κB se unen con afinidad variable a los genes correspondientes, produciendo distintos grados de transactivación. Esta variedad proporciona una sutileza adicional en la regulación selectiva de diferentes genes en respuesta a distintos estímulos en diferentes estirpes celulares. Asimismo, los dímeros NF-κB no producen la transcripción de modo aislado, sino como parte de un complejo de coactivadores¹⁸. Por último, NF-κB interactúa con otros factores de transcripción de modo positivo o negativo. Uno de los factores de transcripción que más a menudo se asocia a NF-κB es la proteína activadora 1 (AP-1). Tanto NF-κB como AP-1 se activan en respuesta a ciertos estímulos proinflamatorios, pero divergen en la respuesta al estrés oxidativo. NF-κB actúa de modo sinérgico con otros factores de transcripción como el factor nucle-

ar IL-6 (NF-IL-6) en la estimulación de diversos genes inflamatorios (citocinas, iNOS)¹⁹⁻²⁴. En sentido contrario, la interacción física de NF-κB con otros factores de transcripción, como el receptor de glucocorticoides, impide la unión de NF-κB al ADN, evitando la transactivación de los genes implicados²⁵. Éste es uno de los mecanismos principales de la acción antiinflamatoria de los esteroides^{13,26,27}. Además, los esteroides estimulan la transcripción de la proteína inhibidora IκB^{26,27}. De esta manera los esteroides pueden inhibir la expresión de una gran variedad de genes que carecen en su promotor de secuencias de respuesta a esteroides.

NF-κB y células vasculares. Estudios *in vitro*

Una descripción detallada de la fisiopatología de la aterosclerosis excede las limitaciones del presente artículo. Baste con recordar la importancia del reclutamiento de células inflamatorias (quimiocinas, moléculas de adhesión), proliferación celular/apoptosis, balance de coagulación/fibrinólisis y degradación de la matriz extracelular, en los cuales participa NF-κB para destacar el papel crucial de este factor de transcripción en la fisiopatología de la aterosclerosis^{3,5}.

Gran número de estudios *in vitro* han demostrado que diversas sustancias presentes en el microambiente de la placa ateromatosa pueden inducir la activación de NF-κB en células de la pared vascular¹⁵. Tanto las lipoproteínas nativas como las oxidadas en determinadas condiciones experimentales inducen la activación de NF-κB y la expresión de genes proinflamatorios²⁸⁻²⁴ por parte de células endoteliales, musculares lisas y macrófagos. Otros hallazgos recientes proporcionan una conexión molecular a la asociación epidemiológica entre hiperlipemia e hipertensión. Las lipoproteínas oxidadas promueven la expresión del receptor AT1 de la angiotensina por un mecanismo dependiente de NF-κB, sensibilizando el árbol vascular a los efectos de la angiotensina²⁹. La estrecha relación de los mecanismos de control de presión arterial e inflamación recientemente se ha puesto de manifiesto. Nuestro grupo ha demostrado que la angiotensina II promueve la activación de NF-κB y la expresión de MCP-1 en células musculares lisas y monocitos^{35,37}. Aunque los mecanismos moleculares por los que la angiotensina II induce la activación de NF-κB no están dilucidados, parece que tanto los receptores AT1 como los AT2 pueden vehicular esta activación. De este modo se ha demostrado que la activación del sistema renina-angiotensina puede tener un efecto proinflamatorio y, por tanto, puede producir acciones deletéreas so-

bre el árbol vascular más allá del aumento de la presión arterial. La inhibición de la activación de NF-κB por angiotensina con antioxidantes sugiere que las especies reactivas del oxígeno están implicadas en el proceso de activación. Aunque la importancia del sistema redox en la activación de NF-κB inducida por una gran variedad de estímulos parece clara, su evidencia es fundamentalmente indirecta.

La diabetes mellitus es otro factor determinante en el desarrollo de lesiones ateroscleróticas avanzadas. Tanto la hiperglucemia *per se* como la presencia de productos avanzados de glucosilación de proteínas pueden contribuir a la activación de NF-κB en células endoteliales y musculares lisas³⁸⁻⁴⁰. Las células responden a otros estímulos físicos además de a los factores solubles mencionados, que modulan su actividad. Las lesiones ateroscleróticas se producen selectivamente en zonas determinadas del árbol vascular en que predomina el flujo turbulento (bifurcaciones, curvaturas). Precisamente en estas zonas del árbol vascular se ha detectado de forma reciente mayor predisposición a la activación NF-κB en células endoteliales⁴¹. Las células endoteliales expuestas a fuerzas mecánicas (incluido el flujo no laminar) evidencian activación de NF-κB⁴². Los mecanismos moleculares por los que las fuerzas físicas inducen la activación de NF-κB son desconocidos, si bien se supone que pueden implicar algún modo de transducción de la fuerza mecánica dependiente de las integrinas. De modo análogo, la interacción de las células endoteliales con determinados componentes de la matriz extracelular como proteoglucanos y particularmente el dermatán sulfato resulta en la activación de NF-κB y la expresión de moléculas de adhesión⁴³.

Las células de la pared vascular responden, asimismo, a factores estimuladores del crecimiento.

La trombina es otra de las moléculas potencialmente importantes en el desarrollo de la aterosclerosis. Además de su acción en la coagulación, la trombina estimula la activación de NF-κB y la expresión de citocinas y moléculas de adhesión por parte de células endoteliales y la proliferación de las células musculares lisas. En general, los mitógenos (trombina, angiotensina, factores de crecimiento) estimulan la activación de NF-κB y la proliferación de las células musculares lisas, probablemente mediante la inducción de la expresión de genes involucrados en el ciclo celular, como la ciclina D⁴⁴⁻⁴⁷. Otro inductor de la activación de NF-κB y que está recibiendo atención en los últimos años como factor de riesgo en la aterosclerosis es la homocisteína⁴⁸. La acumulación de células musculares lisas está asimismo favorecida por el

efecto antiapoptótico de la activación de NF-κB. Aunque los mecanismos responsables del efecto antiapoptótico dependiente de NF-κB no son bien conocidos, se ha comenzado a identificar algunos genes implicados en esta acción⁴⁹⁻⁵².

Por último, algunas proteínas virales y bacterianas de agentes asociados epidemiológicamente con el desarrollo de aterosclerosis (citomegalovirus, *Chlamidia*) son, asimismo, activadoras de NF-κB⁵³⁻⁵⁶.

NF-κB y aterosclerosis. Estudios *in vivo*

Mediante el empleo de anticuerpos que reconocen la forma activa de NF-κB (zona de p65 enmascarada por IκB), se ha demostrado la presencia de NF-κB activo en placas ateroscleróticas humanas^{57,58}. Se ha detectado NF-κB activado en los núcleos de células musculares lisas, endoteliales y macrófagos, lo que sugiere la importancia de la citada activación en todas las estirpes celulares. Por contra, en el vaso normal, se detecta NF-κB en forma quiescente en el citoplasma de las células. De modo similar, se ha detectado la activación de NF-κB en diversos modelos experimentales de daño vascular. Algunos de estos modelos de aterosclerosis acelerada se asemejan más a la reestenosis postangioplastia que a la aterosclerosis primaria⁵⁹⁻⁶³. Sin embargo, una dieta hiperlipemianta puede ser suficiente *per se* para inducir la activación de NF-κB tanto en ratones como en cerdos^{64,65}. Recientemente nuestro grupo ha demostrado que una dieta rica en grasa es capaz de inducir la activación de NF-κB en células mononucleares de sangre periférica de sujetos sanos³¹. Estos hallazgos son indicativos de que la ingesta de grasa es directamente "proinflamatoria" y proporcionan nueva evidencia a favor de un papel patogénico de la lipemia posprandial en la aterogénesis. Además del NF-κB activado, se ha detectado una mayor presencia de NF-κB quiescente en las zonas de flujo turbulento que, de este modo, estarían predispuestas al desarrollo de la lesión ante la presencia de nuevos estímulos de activación de NF-κB⁴¹.

Además de las respuestas iniciales, tras una dieta grasa y el desarrollo de la aterosclerosis, la activación de NF-κB también parece clave en el desarrollo de las complicaciones cardiovasculares. Se ha demostrado la presencia de una marcada activación de NF-κB en las células de sangre periférica de pacientes con angina inestable, frente a la ausencia de activación en pacientes con aterosclerosis grave pero sin síndrome coronario agudo⁶⁶.

NF-κB como diana terapéutica

Una vez que se ha demostrado la presencia de NF-κB activado en todas las fases de la evolución

de la aterosclerosis, cabe preguntarse si la modulación de la actividad de NF-κB puede emplearse con fines terapéuticos. En efecto, diversos estudios experimentales preliminares sugieren que es posible obtener resultados beneficiosos mediante una acción directa sobre la regulación de NF-κB. Por ejemplo, el uso de oligonucleótidos antisentido de la subunidad p65 de NF-κB se asocia con una atenuación de la celularidad neointimal en un modelo de daño carotídeo⁶⁷. Asimismo, *in vivo* se han empleado diversas moléculas con acción antioxidante que ya habían demostrado inhibición de la actividad NF-κB *in vitro*. Por ejemplo, el pirrolidinditio-carbamato (PDTC) y la acetil cisteína son capaces de atenuar *in vivo* la activación de NF-κB y reducir el daño en varios modelos inflamatorios experimentales⁶⁸⁻⁷³. Es interesante destacar que algunos efectos protectores de la dieta mediterránea rica en antioxidantes pueden ser atribuibles a la atenuación de la activación de NF-κB. Recientemente se ha demostrado que la ingesta de vino tinto en humanos (a diferencia de otros alcoholes destilados como el vodka) es capaz de atenuar la activación de NF-κB inducida por una comida grasa³¹. En efecto, algunos antioxidantes contenidos en el vino (como la quercetina) atenúan la activación de NF-κB inducida por lipoproteínas.

En fecha reciente se ha demostrado que la acción de múltiples fármacos inmunosupresores (esteroides, leflunomida, ciclosporina) se realiza al menos parcialmente por la interacción de los mismos con el sistema NF-κB⁷⁴⁻⁷⁶. Los esteroides, por ejemplo, presentan una acción anti-NF-κB por la concurrencia de diversos mecanismos: inhiben la degradación de IκB por el proteasoma, interactúan físicamente con NF-κB activado evitando su unión al ADN y promueven la expresión de IκB^{13,25-27,74}. En algunos modelos experimentales de daño vascular se ha demostrado que el tratamiento con inmunosupresores que atenúan la activación de NF-κB reducen diversos marcadores de lesión vascular⁷⁷. Sin embargo, los efectos secundarios de los inmunosupresores no permiten su uso indiscriminado para el tratamiento de la aterosclerosis.

También en fecha reciente se ha demostrado que algunos antiinflamatorios clásicos, como los salicilatos, inhiben la fosforilación y degradación de IκB, evitando la activación de NF-κB^{13,78}. Es interesante destacar que prácticamente todo el efecto protector de la aspirina en el Physician's Health Study se restringía a pacientes con marcadores activos de inflamación, si bien las dosis de aspirina empleadas no eran teóricamente antiinflamatorias⁷⁹. Otras modalidades de inhibición de la degra-

dación de I_KB mediante interferencia con el proteasoma ofrecen resultados preliminares interesantes en el tratamiento de otras enfermedades inflamatorias como el asma⁸⁰.

Hallazgos recientes demuestran que ciertos efectos beneficiosos de los inhibidores de la enzima conversiva de la angiotensina (IECA) pueden relacionarse con la inhibición del sistema NF-κB. Como se ha mencionado previamente, la angiotensina II estimula la activación de NF-κB. Los IECA han demostrado *in vivo* su capacidad de inhibir la activación de NF-κB y de genes proinflamatorios, y el desarrollo de lesiones vasculares en un modelo de aterosclerosis en el conejo^{61,62}. La relevancia de estos hallazgos experimentales en la aterosclerosis en humanos requiere una evaluación adicional.

Otro punto de interés reciente reside en el potencial efecto beneficioso de ciertos fármacos hipolipemiantes, independiente del descenso del colesterol circulante. Por ejemplo, las estatinas previenen el desarrollo de lesión vascular en conejos normolipémicos⁸¹. *In vitro*, las estatinas pueden inhibir la expresión de genes proinflamatorios y la proliferación celular y promover la apoptosis de células musculares lisas de forma independiente de la disponibilidad de colesterol^{30,35,82-87}. Todas estas acciones se correlacionan con la activación de NF-κB. En efecto, las estatinas inhiben la activación de NF-κB inducida por múltiples agentes^{35,88,89}. Muchos de estos efectos son independientes de la síntesis de colesterol y parecen relacionarse con la inhibición de la síntesis de isoprenoídes derivados de la vía del ácido mevalónico y la modificación posttranslacional de determinadas proteínas⁹⁰. Estudios recientes demuestran que el tratamiento con estatinas se asocia a la atenuación de marcadores inflamatorios en humanos⁹¹. Sin embargo, desconocemos qué parte del efecto antiinflamatorio puede ser atribuible al propio efecto hipolipemante y qué parte a otros mecanismos adicionales. En el mencionado estudio el efecto protector de la pravastatina se concentró de modo casi exclusivo en los pacientes con valores elevados de proteína C reactiva, demostrando de nuevo la intrincada relación entre la inflamación, la aterosclerosis y los efectos de las estatinas. Recientes estudios *in vitro* sugieren que los fármacos de la familia de los fibratos también pueden atenuar la activación de NF-κB a través de la activación del receptor PPAR- α ^{92,93}.

En resumen, NF-κB desempeña un papel clave desde las fases iniciales de la aterosclerosis hasta el desarrollo final de los episodios vasculares. La modulación de la activación de NF-κB ofrece nuevas vías de abordaje para interferir con la fisiopatolo-

gía de la aterosclerosis. No obstante, el papel clave de NF-κB en procesos como el sistema inmunológico y la proliferación celular sugiere que una inhibición prolongada no selectiva de NF-κB no es deseable. Por tanto, es conveniente profundizar en el conocimiento de los mecanismos de regulación de NF-κB, de forma que podamos inhibir de forma selectiva los componentes de la pared vascular implicados en los procesos patológicos preservando al mismo tiempo las acciones fisiológicas. Lejos de pensar que éstas son opciones terapéuticas para un futuro lejano, cabe destacar que una gran variedad de fármacos de uso común en la actualidad ejercen al menos parte de su acción mediante la modulación de la activación de NF-κB.

Bibliografía

1. Rayer P. Mémoire de l'ossification morbide, considérée comme une terminaison de phlegmasies. Arch Gén Méd J 1823;1:313-5.
2. Virchow R. Cellular Pathology as based upon physiological and pathological histology. English translation of the 2nd German edition (1859). Philadelphia: Lippincott, 1971.
3. Ross R. Atherosclerosis - An inflammatory disease. N Engl J Med 1999;340:115-26.
4. Nieto FJ. Infections and Atherosclerosis: new clues from an old hypothesis? Am J Epidemiol 1998;148:937-48.
5. Guijarro C, Tuñón J, Bustos C, Hernández-Presa MA, Ortego M, Egido J. La formación de la placa aterosclerosa: Un proceso inflamatorio y fibroproliferativo. Clin Invest Arteriosclerosis 1997;9:3-14.
6. Papavassiliou AG. Molecular medicine. Transcription factors. N Engl J Med 1995;332:45-7.
7. Sen R, Baltimore D. Inducibility of the immunoglobulin enhancer-binding protein NF-κB by a posttranslational mechanism. Cell 1986;47:921-8.
8. Baeuerle PA, Henkel T. Function and activation of NF-κB in the immune system. Annu Rev Immunol 1994;12:141-79.
9. Baldwin AS. The NF-κB and IκB proteins: new discoveries and insights. Annu Rev Immunol 1996;14:649-81.
10. Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF-κB and Rel proteins: evolutionary conserved mediators of immune responses. Annu Rev Immunol 1998;16:225-60.
11. Grilli M, Chiu JJS, Lenardo M. NF-κB and Rel: participants in a multiform transcriptional regulatory system. Int Rev Cytol 1993;143:1-62.
12. Chiao PJ, Miyamoto S, Verma IM. Autoregulation of IκB activity. Proc Natl Acad Sci USA 1994;91:28-32.
13. Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-κB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. N Engl J Med 1997;336:1066-71.
14. Guijarro C, Egido J. Transcription factor-kappa B (NF-κB) and renal disease. Kidney Int 2001;59:415-24.
15. Egido J, Hernández-Presa MA, Tuñón J, Blanco-Colio LM, Ortego M, Suzuki Y, et al. Transcription factor-κB (NF-κB) and cardiovascular disease. Cardiovascular Risk Factors 2000;9:146-55.
16. Rothwarf DM, Karin M. The NF-κB Activation pathway: a paradigm in information transfer from membrane to nucleus. Science's Signal Transduction Knowledge Environment 1999;5:1-16. Disponible en: www.stke.org/cgi/content/full/OC_sigtrans;1999/5/re1
17. DiDonato JA, Hayakawa M, Rothwarf DM, Zandi E, Karin M. A cytokine-responsive IκB kinase that activates the transcription factor NF-κB. Nature 1997;388:548-54.
18. Shepard KA, Rose DE, Haque ZK, Kurokawa R, McInerney E, Westin S, et al. Transcriptional activation by NF-κB requires multiple coactivators. Mol Cell Biol 1999;162:6367-78.

19. Dlaska M, Weiss G. Central role of transcription factor NF-IL6 for cytokine and iron-mediated regulation of murine inducible nitric oxide synthase expression. *J Immunol* 1999;162:6171-7.
20. Dunn SM, Coles LS, Lang RK, Gerondakis S, Vadas MA, Shannon MF. Requirement for Nuclear Factor (NF)-kappa B p65 and NF-interleukin-6 binding elements in the tumor necrosis factor response region of the granulocyte colony-stimulating factor promoter. *Blood* 1994;83:2469-79.
21. Akira S, Isshiki H, Sugita T, Tanabe O, Kinoshita S, Nishio Y, et al. A nuclear factor for IL-6 expression (NF-IL6) is a member of a C/EBP family. *EMBO J* 1990;9:1897-906.
22. Godambe SA, Chaplin DD, Takova T, Bellone CJ. Upstream NFIL-6-like site located within a DNase I hypersensitivity region mediates LPS-induced transcription of the murine interleukin-1 beta gene. *J Immunol* 1994; 153:143-52.
23. LeClair KP, Blanar MA, Sharp PA. The p50 subunit of NF-κB associates with the NF-IL6 transcription factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:8145-9.
24. Matsusaka T, Fujikawa K, Nishio Y, Mukaida N, Matsushima K, Kishimoto T, et al. Transcription factors NF-IL6 and NF-kappa B synergistically activate transcription of the inflammatory cytokines, interleukin 6 and interleukin 8. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:10193-7.
25. Ray A, Prefontaine KE. Physical association and functional antagonism between the p65 subunit of transcription factor NF-kappa B and the glucocorticoid receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:752-6.
26. Auphan N, DiDonato JA, Rosette C, Helmberg A, Karin M. Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of NF-kappa B activity through induction of I kappa B synthesis. *Science* 1995; 270:286-90.
27. Scheinman RI, Cogswell PC, Lofquist AK, Baldwin AS Jr. Role of transcriptional activation of I kappa B alpha in mediation of immunosuppression by glucocorticoids. *Science* 1995;270:283-6.
28. Cushing SD, Berliner JA, Valente AJ, Territo MC, Navab M, Parhami F, et al. Minimally modified low density lipoprotein induces monocyte chemotactic protein 1 in human endothelial cells and smooth muscle cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:5134-8.
29. Li D, Saldeen T, Romeo F, Mehta JL. Oxidized LDL upregulates angiotensin II type 1 receptor expression in cultured human coronary artery endothelial cells: the potential role of transcription factor NF-kappaB. *Circulation* 2000;102:1970-6.
30. Massy ZA, Kim Y, Guijarro C, Kasiske BL, Keane WF, O'Donnell MP. Low-density lipoprotein-induced expression of interleukin-6, a marker of human mesangial cell inflammation: effects of oxidation and modulation by lovastatin. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;267:536-40.
31. Blanco-Colio LM, Valderrama M, Álvarez-Sala LA, Bustos C, Ortego M, Hernández-Presa MA, et al. Red wine intake prevents nuclear factor-κB activation in peripheral blood mononuclear cells of healthy volunteers during postprandial lipemia. *Circulation* 2000;102:1020-6.
32. Xu XP, Meisel SR, Ong JM, Kaul S, Cersek B, Rajavashisth TB, et al. Oxidized low-density lipoprotein regulates matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 1999;99:993-8.
33. Cominacini L, Pasini AF, Garbin U, Davoli A, Tosetti ML, Campagnola M, et al. Oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) binding to ox-LDL receptor-1 in endothelial cells induces the activation of NF-kappaB through an increased production of intracellular reactive oxygen species. *J Biol Chem* 2000;275:12633-8.
34. Andalibi A, Liao F, Imes S, Fogelman AM, Lusis AJ. Oxidized lipoproteins influence gene expression by causing oxidative stress and activating the transcription factor NF-κB. *Biochem Soc Trans* 1993;21:651-5.
35. Ortego M, Bustos C, Hernández-Presa MA, Tuñón J, Díaz C, Hernández G, et al. Atorvastatin reduces NF-kappaB activation and chemokine expression in vascular smooth muscle cells and mononuclear cells. *Atherosclerosis* 1999;147:253-61.
36. Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Rupérez M, Konig S, Wittig B, Egido J. Angiotensin II activates nuclear transcription factor kappaB through AT(1) and AT(2) in vascular smooth muscle cells: molecular mechanisms. *Circ Res* 2000;86:1266-72.
37. Pueyo ME, González W, Nicoletti A, Savoie F, Arnal JF, Michel JB. Angiotensin II stimulates endothelial vascular cell adhesion molecule-1 via nuclear factor-kappaB activation induced by intracellular oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 645-51.
38. Bierhaus A, Illmer T, Kasper M, Luther T, Quehenberger P, Tritschler H, et al. Advanced glycation end product (AGE)-mediated induction of tissue factor in cultured endothelial cells is dependent on RAGE. *Circulation* 1997;96:2262-71.
39. Morigi M, Angioletti S, Imberti B, Donadelli R, Micheletti G, Figliuzzi M, et al. Leukocyte-endothelial interaction is augmented by high glucose concentrations and hyperglycemia in a NF-κB-dependent fashion. *J Clin Invest* 1998;101:1905-15.
40. Yerneni KK, Bai W, Khan BV, Medford RM, Natarajan R. Hyperglycemia-induced activation of nuclear transcription factor kappaB in vascular smooth muscle cells. *Diabetes* 1999;48:855-64.
41. Hajra L, Evans AI, Chen M, Hyduk SJ, Collins T, Cybulsky MI. The NF-kappa B signal transduction pathway in aortic endothelial cells is primed for activation in regions predisposed to atherosclerotic lesion formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:9052-7.
42. Mohan S, Mohan N, Sprague E. Differential activation of NF-kappaB in human aortic endothelial cells conditioned to specific flow environments. *Am J Physiol* 1997;273:C572-8.
43. Penc SF, Pomahac B, Eriksson E, Detmar M, Gallo RL. Dermatan sulfate activates nuclear factor-kappaB and induces endothelial and circulating intercellular adhesion molecule-1. *J Clin Invest* 1999;103:1329-35.
44. Graw M, Neumann FJ, Dickfeld T, Koch W, Laugwitz KL, Adelsberger H, et al. Activated platelets induce monocyte chemotactic protein-1 secretion and surface expression of intercellular adhesion molecule-1 on endothelial cells. *Circulation* 1998;98:1164-71.
45. Maruyama I, Shigeta K, Miyahara H, Nakajima T, Shin H, Ide S, et al. Thrombin activates NF-kappa B through thrombin receptor and results in proliferation of vascular smooth muscle cells: role of thrombin in atherosclerosis and restenosis. *Ann NY Acad Sci* 1997;811:429-36.
46. Nakajima T, Kitajima I, Shin H, Takasaki I, Shigeta K, Abeyama K, et al. Involvement of NF-kappa B activation in thrombin-induced human vascular smooth muscle cell proliferation. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;204:950-5.
47. Obata H, Biro S, Arima N, Kameda H, Kihara T, Eto H, et al. NF-kappa B is induced in the nuclei of cultured rat aortic smooth muscle cells by stimulation of various growth factors. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;224:27-32.
48. Welch G, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998;338:1042-50.
49. Beg AA, Baltimore D. An Essential Role for NF-κB in Preventing TNF-α-induced cell death. *Science* 1996;274:782-4.
50. Stroka DM, Badrichani AZ, Bach FH, Ferran C. Overexpression of A1, an NF-kappaB-inducible anti-apoptotic bcl gene, inhibits endothelial cell activation. *Blood* 1999;93:3803-10.
51. Wang CY, Mayo MW, Korneluk RG, Goeddel DV, Baldwin AS Jr. NF-kappa B antiapoptosis: induction of TRAF1 and TRAF2 and c-IAP1 and c-IAP2 to suppress caspase-8 activation. *Science* 1998; 281:1680-3.
52. Wu MX, Ao Z, Prasad KV, Wu R, Schlossman SF. IEX-1L, an apoptosis inhibitor involved in NF-kappaB-mediated cell survival. *Science* 1998;281:998-1001.
53. Hiscock J, Known H, Génin P. Hostile takeovers: viral appropriation of the NF-κB pathway. *J Clin Invest* 2001;107:143-51.
54. Knight D, Waldman W, Sedmak D. Cytomegalovirus-mediated modulation of adhesion molecule expression by human arterial and microvascular cells. *Transplantation* 1999;68:1814-8.
55. Kol A, Sukhova G, Litchman A, Libby P. Chlamydial heat-shock protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor-alpha and matrix metalloproteinase expression. *Circulation* 1998;98:300-7.
56. Dechend R, Maass M, Gieffers J, Dietz R, Scheidereit C, Leutz A, et al. Chlamydia pneumoniae infection of vascular smooth muscle and endothelial cells activates NF-kappaB and induces tissue factor and PAI-1 expression: a potential link to accelerated arteriosclerosis. *Circulation* 1999;100:1369-73.
57. Brand K, Page S, Rogler G, Bartsch A, Brandl R, Knuechel R, et al. Activated transcription factor nuclear factor-kappa B is present in the atherosclerotic lesion. *J Clin Invest* 1996;97:1715-22.
58. Bourcier T, Sukhova G, Libby P. The nuclear factor kappa B signaling pathway participates in dysregulation of vascular smooth

- muscle cells in vitro and in human atherosclerosis. *J Biol Chem* 1997;272:15817-24.
59. Landry DB, Couper LL, Bryant SR, Lindner V. Activation of the NF-κappa B and I kappa B system in smooth muscle cells after rat arterial injury. Induction of vascular cell adhesion molecule-1 and monocyte chemoattractant protein-1. *Am J Pathol* 1997;151:1085-95.
 60. Lindner V, Collins T. Expression of NF-κappa B and I kappa B-alpha by aortic endothelium in an arterial injury model. *Am J Pathol* 1996;148:427-38.
 61. Hernández-Presa MA, Bustos C, Ortego M, Tuñón J, Renedo G, Ruiz-Ortega M, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition prevents arterial nuclear factor-κappa B activation, monocyte chemoattractant protein-1 expression, and macrophage infiltration in a rabbit model of early accelerated atherosclerosis. *Circulation* 1997;95:1532-41.
 62. Hernández-Presa MA, Bustos C, Ortego M, Tuñón J, Ortega L, Egido J. ACE inhibitor quinapril reduces the arterial expression of NF-κappaB-dependent proinflammatory factors but not of collagen I in a rabbit model of atherosclerosis. *Am J Pathol* 1998; 153:1825-37.
 63. Hernández-Presa MA, Gómez-Guerrero C, Egido J. In situ non-radioactive detection of nuclear factors in paraffin sections by Southwestern histochemistry. *Kidney Int* 1999;55:209-14.
 64. Liao F, Andalibi A, DeBeer FC, Fogelman AM, Lusis AJ. Genetic control of inflammatory gene induction and NF-κappa B-like transcription factor activation in response to an atherogenic diet in mice. *J Clin Invest* 1993;91:2572-9.
 65. Wilson S, Caplice N, Simari R, Holmes D Jr, Carlson P, Lerman A. Activated nuclear factor-κB is present in the coronary vasculature in experimental hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2000;148: 23-30.
 66. Ritchie ME. Nuclear factor-κappaB is selectively and markedly activated in humans with unstable angina pectoris. *Circulation* 1998;98:1707-13.
 67. Autieri MV, Yue TL, Ferstein GZ, Ohlstein E. Antisense oligonucleotides to the p65 subunit of NF-κB inhibit human vascular smooth muscle cell adherence and proliferation and prevent neointima formation in rat carotid arteries. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;213:827-36.
 68. Boyle EM Jr, Kovacich JC, Carty TG Jr, Morgan EN, Chi E, Verner ED, et al. Inhibition of nuclear factor-κappa B nuclear localization reduces human E-selectin expression and the systemic inflammatory response. *Circulation* 1998;98:II282-8.
 69. Kovacich JC, Boyle EM Jr, Morgan EN, Carty TG Jr, Farr AL, Capo MT, et al. Inhibition of the transcriptional activator protein nuclear factor κappaB prevents hemodynamic instability associated with the whole-body inflammatory response syndrome. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999;118:154-62.
 70. Liu SF, Ye X, Malik AB. Inhibition of NF-κappaB activation by pyrrolidine dithiocarbamate prevents *in vivo* expression of proinflammatory genes. *Circulation* 1999;100:1330-7.
 71. Rangan GK, Wang Y, Tay YC, Harris DC. Inhibition of nuclear factor-κappaB activation reduces cortical tubulointerstitial injury in proteinuric rats. *Kidney Int* 1999;56:118-34.
 72. Sakurai H, Hisada Y, Ueno M, Sugiura M, Kawashima K, Sugita T. Activation of transcription factor NF-κappa B in experimental glomerulonephritis in rats. *Biochim Biophys Acta* 1996;1316:132-8.
 73. Khachigian LM, Collins T, Fries JW. N-acetyl cysteine blocks mesangial VCAM-1 and NF-κappa B expression *in vivo*. *Am J Pathol* 1997;151:1225-9.
 74. Marx J. How the glucocorticoids suppress immunity. *Science* 1995;270:232-3.
 75. Manna SK, Aggarwal BB. Immunosuppressive leflunomide metabolite (A77 1726) blocks TNF-dependent nuclear factor-κappa B activation and gene expression. *J Immunol* 1999;162:2095-102.
 76. Kaibori M, Sakitani K, Oda M, Kamiyama Y, Masu Y, Nishizawa M, et al. Immunosuppressant FK506 inhibits inducible nitric oxide synthase gene expression at a step of NF-κappaB activation in rat hepatocytes. *J Hepatol* 1999;30:1138-45.
 77. Mervaala E, Muller DN, Park JK, Dechend R, Schmidt F, Fiebeler A, et al. Cyclosporin A protects against angiotensin II-induced end-organ damage in double transgenic rats harboring human renin and angiotensinogen genes. *Hypertension* 2000;35:360-6.
 78. Kopp E, Ghosh S. Inhibition of NF-κappa B by sodium salicylate and aspirin. *Science* 1994;265:956-9.
 79. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997;336:973-9.
 80. Elliott PJ, Pien CS, McCormack TA, Chapman ID, Adams J. Proteasome inhibition: a novel mechanism to combat asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:294-300.
 81. Soma MR, Donetti E, Parolini C, Mazzini G, Ferrari C, Fumagalli R, et al. HMG CoA reductase inhibitors -In vivo effects on carotid intimal thickening in normocholesterolemic rabbits. *Arterioscler Thromb* 1993;13:571-8.
 82. Kim SY, Guijarro C, O'Donnell MP, Kasiske BL, Kim Y, Keane WF. Human mesangial cell production of monocyte chemoattractant protein-1: modulation by lovastatin. *Kidney Int* 1995;48:363-71.
 83. Martínez-González J, Badimon L. Human and porcine smooth muscle cells share similar proliferation dependence on the mevalonate pathway: implication for *in vivo* interventions in the porcine model. *Eur J Clin Invest* 1996;26:1023-32.
 84. Corsini A, Mazzotti M, Raiteri M, Soma MR, Gabbiani G, Fumagalli R, et al. Relationship between mevalonate pathway and arterial myocyte proliferation -*In vitro* studies with inhibitors of HMG-CoA reductase. *Atherosclerosis* 1993;101:117-25.
 85. Massy ZA, Guijarro C, Oda H, Kasiske BL, Keane WF, O'Donnell MP. Importance of geranylgeranyl pyrophosphate for mesangial cell DNA synthesis. *Kidney Int* 1999;71(Suppl):80-3.
 86. Guijarro C, Blanco-Colio LM, Ortego M, Alonso C, Ortiz A, Plaza JJ, et al. 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase and isoprenylation inhibitors induce apoptosis of vascular smooth muscle cells in culture. *Circ Res* 1998;83:490-500.
 87. Guijarro C, Blanco-Colio LM, Massy ZA, O'Donnell MP, Kasiske BL, Keane WF, et al. Lipophilic statins induce apoptosis of human vascular smooth muscle cells. *Kidney Int* 1999;56:S88-91.
 88. Guijarro C, Kim Y, Schoonover CM, Massy ZA, O'Donnell MP, Kasiske BL, et al. Lovastatin inhibits lypopolysaccharide-induced NF-κB activation in human mesangial cells. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:990-6.
 89. Kothe H, Dalhoff K, Rupp J, Muller A, Kreuzer J, Maass M, et al. Hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors modify the inflammatory response of human macrophages and endothelial cells infected with *Chlamydia pneumoniae*. *Circulation* 2000; 101:1760-3.
 90. Guijarro C, Egido J. Modulation of the mevalonate pathway: potential mechanisms of vascular protection independent of cholesterol reduction. *Cardiovascular Risk Factors* 1997;7:29-33.
 91. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks FM, Moye LA, Goldman S, et al. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation* 1998;98:839-44.
 92. Marx N, Sukhova GK, Collins T, Libby P, Plutzky J. PPAR α activators inhibit cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *Circulation* 1999;99:3125-31.
 93. Staels B, Koenig W, Habib A, Merval R, Lebret M, Torra IP, et al. Activation of human aortic smooth-muscle cells is inhibited by PPAR γ but not by PPAR α activators. *Nature* 1998;393:790-3.