

Modificaciones en la activación y la expresión de moléculas de adhesión y receptores celulares monocitarios en pacientes hipercolesterolemicos tratados con pravastatina

Esther Torrecilla, Miguel González-Muñoz, Francisca García-Iglesias, Carlos Lahoz, Fernando Laguna y José María Mostaza

Unidad de Arteriosclerosis y Departamento de Inmunología. Hospital Carlos III. Madrid. España.

Introducción. Numerosos estudios han demostrado que las estatinas reducen la mortalidad cardiovascular. Si bien la mayor parte del efecto es probablemente debido a su acción hipolipemiante, se han descrito otras acciones de estos fármacos, independientes de la reducción del colesterol, que podrían contribuir a este efecto beneficioso. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del tratamiento con estatinas sobre la expresión de moléculas de adhesión, citocinas y receptores celulares de monocitos de sangre periférica, células estrechamente ligadas al desarrollo de la arteriosclerosis.

Pacientes y métodos. Se seleccionó a 22 pacientes con hipercolesterolemia moderada (59% mujeres, edad media 51 años). Tras seguir durante 6 semanas una dieta baja en grasas, se aleatorizaron a recibir 40 mg/día de pravastatina o placebo durante 8 semanas, tras lo cual recibieron durante otras 8 semanas el tratamiento contrario.

Este estudio ha sido parcialmente financiado por una beca FIS n.º PI031211 y por una beca de la Sociedad Española de Arteriosclerosis.

Correspondencia: Dr. J.M. Mostaza.
Unidad de Arteriosclerosis y Departamento de Inmunología.
Hospital Carlos III.
Sinesio Delgado, 10. 28029 Madrid. España.
Correo electrónico: jmostaza.hciii@salud.madrid.org

Recibido el 16 de octubre de 2008 y aceptado el 31 de enero de 2009.

Resultados. El tratamiento con pravastatina redujo de manera significativa, respecto al período placebo, la concentración de colesterol total (22%; p < 0,01) y el colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (30%; p < 0,01). La expresión intracitoplasmática monocitaria del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) se redujo en un 17,3% (p = 0,03). No se observaron modificaciones en la expresión de CD62L, CD162, CD11a, CD11b, CD49d, CD54, MCP-1 y CCR2.

Conclusión. El tratamiento con pravastatina durante 8 semanas en pacientes con hipercolesterolemia moderada induce un descenso en la intensidad media de fluorescencia con la que los monocitos de sangre periférica expresan TNF α , sin modificar la expresión de otras moléculas de adhesión.

Palabras clave:
Estatinas. Pravastatina. Moléculas de adhesión. TNF α . Hipercolesterolemia. Arteriosclerosis.

CHANGES IN THE ACTIVATION AND EXPRESSION OF MONOCYTE ADHESION MOLECULES AND RECEPTORS IN HYPERCHOLESTEROLEMIC PATIENTS TREATED WITH PRAVASTATIN

Introduction. Numerous studies have shown that statins reduce cardiovascular mortality. While most of the effect is probably due to their lipid-lowering action, other actions of these drugs, independent of cholesterol reduction, have been described that could influence these beneficial action. The aim of this study was to evaluate the effect of statins on the expression of adhesion molecules, cytokines

and receptors of peripheral blood monocytes, cells closely linked to development of atherosclerosis.

Patients and methods. We selected 22 patients with moderate hypercholesterolemia (59% female, mean age 51 years). After 6 weeks of a low fat diet they were randomized to receive 40 mg of pravastatin or placebo for 8 weeks. After that period they received for another 8 weeks the other treatment.

Results. Treatment with pravastatin significantly reduced the concentration of total cholesterol (22%; $p < 0.01$) and LDL-cholesterol (30%; $p < 0.01$). Monocytic intracytoplasmic expression of TNF α was reduced by 17.3% ($p = 0.03$). Other cellular markers, CD62L, CD162, CD11a, CD11b, CD49d, CD54, MCP-1 and CCR2, did not change their expression.

Conclusion. Treatment with pravastatin for 8 weeks in patients with moderate hypercholesterolemia induces a decline in the average intensity of fluorescence with which peripheral blood monocytes express TNF α without changing the expression of other adhesion molecules.

Key words:
Statins. Pravastatin. Adhesion molecules. TNF α . Hypercholesterolemia. Atherosclerosis.

En numerosos ensayos clínicos se ha demostrado que el tratamiento con inhibidores de la hidroximetil glutaril CoA reductasa (estatinas) reduce la morbilidad y la mortalidad cardiovascular¹. Si bien la mayoría del efecto es probablemente dependiente de su capacidad para reducir el colesterol, se ha indicado que estos fármacos podrían presentar otras acciones independientes de las hipolipemiantes, denominadas *acciones pleiotrópicas*², que parcialmente podrían contribuir a su efecto beneficioso. La mayoría de estas teóricas acciones pleiotrópicas se han centrado en su acción en otras lipoproteínas, su capacidad antioxidante y antiinflamatoria y en su acción en la función endotelial³. Se ha prestado menos atención a su acción en las células mononucleares de sangre periférica (CMSp) las cuales están estrechamente relacionadas con el desarrollo de arteriosclerosis.

Las CMSp, tanto monocitos/macrófagos, como linfocitos, desempeñan un papel fundamental en los primeros estadios del proceso aterogénico, así como en fases más avanzadas de éste⁴. Su adhesión a la superficie endotelial y posterior internalización al espacio subendotelial constituyen pasos iniciales

imprescindibles en la formación de la estría grasa, lesión inicial de la arteriosclerosis, constituida por macrófagos cargados de lípidos (células espumosas). La unión de las CMSp a la superficie endotelial, así como su paso posterior al espacio subendotelial, está condicionada por la interacción entre moléculas de adhesión presentes en la superficie celular y sus receptores específicos.

En una primera fase, los leucocitos se adhieren de forma ligera al endotelio vascular activado, para después iniciar el *rolling* o rodamiento de estos leucocitos sobre la pared. En esta fase participan los 3 tipos de moléculas de la familia de las selectinas: E-selectina y P-selectina, presentes en la célula endotelial, y L-selectina en el leucocito, que interaccionan con ligandos específicos de la superficie endotelial⁵. En una segunda etapa, propiciada por la menor velocidad y por la activación leucocitaria derivada de la acción de las citocinas liberadas por el endotelio activado, las uniones pasan a hacerse más fuertes. En estas uniones intervienen moléculas de la superfamilia de las inmunoglobulinas expresadas por las células endoteliales, como CD54, CD102 (ICAM-2) y VCAM-1, que interaccionan con receptores de la membrana leucocitaria pertenecientes a la familia de las β -integrinas, como CD11a, CD49d y CD11b⁶. Finalmente, en la tercera fase, tiene lugar la diapedesis o internalización del leucocito al espacio subendotelial. Este paso se encuentra propiciado por la unión del CD54 expresado en la superficie leucocitaria⁷ a sus ligandos de la matriz extracelular, como colágeno y laminina. Todo este proceso está mediado por la producción, tanto en el ámbito endotelial, como en el de células residentes y de leucocitos circulantes, de factores solubles⁸, como MCP-1, citocina quimiotáctica implicada en la selección de leucocitos al foco inflamatorio, y factor de necrosis tumoral α (TNF α), citocina proinflamatoria que estimula la expresión de moléculas de adhesión y quimiocinas.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del tratamiento hipolipemiante con pravastatina en pacientes con hipercolesterolemia moderada, en la expresión de diversas moléculas de adhesión, receptores y citocinas en monocitos de sangre periférica.

Pacientes y métodos

Diseño del estudio

Se realizó un estudio de 16 semanas de duración, aleatorizado, controlado con placebo y con un diseño cruzado.

Selección de pacientes

Se incluyó a 22 individuos de ambos sexos, con una edad comprendida entre los 18 y los 80 años, y con hipercolesterole-

mía definida por un colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) superior a 190 mg/dl tras 6 semanas de dieta hipolipemiante.

Se excluyó a los individuos con una enfermedad infecciosa o inflamatoria que pudiera alterar la actividad monocitaria, con cualquier enfermedad endocrinológica, hepática, digestiva o renal graves, así como los que presentaran cáncer o que tuvieran enfermedad coronaria, cerebrovascular o arterial periférica conocidas. También se excluyó a los individuos en tratamiento con fármacos que pudieran alterar el metabolismo lipídico o modificar la oxidación lipoproteica, incluidos suplementos vitamínicos, y aquéllos con un consumo de alcohol superior a 30 g/día.

El Comité de ensayos clínicos del Hospital Carlos III ha aprobado el estudio, el cual ha cumplido las normas éticas de la Declaración de Helsinki de 1975, con la revisión de octubre de 2000. Todos los participantes firmaron un consentimiento informado.

Desarrollo del estudio

Antes de empezar el estudio, se indicó a los participantes que durante las 6 semanas previas a su comienzo debían seguir una dieta baja en grasas saturadas y pobre en colesterol, de acuerdo con las recomendaciones dietéticas españolas⁹. Los pacientes que presentaron cifras de cLDL > 190 mg/dl tras el período de dieta fueron aleatorizados a recibir durante 8 semanas 40 mg de pravastatina en una única dosis nocturna o placebo. Una vez concluidas las primeras 8 semanas de tratamiento, se administró a los pacientes la medicación contraria durante otro período de igual duración, sin lavado entre ambos períodos.

Se obtuvieron muestras de sangre en ayunas de 12 h al término de cada uno de los 2 períodos de tratamiento.

Métodos

Todas las muestras se procesaron de forma ciega para el período de tratamiento.

La concentración de colesterol total, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (chDL) y triglicéridos se determinaron a partir del plasma mediante métodos enzimáticos colorimétricos en un autoanalizador CX4 Delta (Beckman, Fullerton, CA, Estados Unidos). La concentración de cLDL se calculó mediante la fórmula de Friedewald¹⁰.

La expresión monocitaria de CD62L, CD162, CD11a, CD11b, CD49d, CD54, MCP-1, CCR2 y TNF α se valoró mediante citometría de flujo. Se utilizó sangre entera en heparina de litio para evitar cambios fenotípicos inducidos por los procedimientos de aislamiento.

Para los marcajes de superficie e intracelular, se utilizaron anticuerpos monoclonales (AcMos) conjugados con fluorocromos. Para conocer la IMF con la que los monocitos expresaban los diferentes marcadores celulares, se utilizó un citómetro FACScan previamente calibrado con bolas estándares (Cali-BRITE) y equipado con un láser de argón que emite luz a una longitud de onda de 488 nm y con 3 detectores de fluorescencia (FL1 para isoftiocianato de fluoresceína [FITC], FL2 para ficoeritrina [PE] y FL3 para PerCP); todo ello fue suministrado por BD Biosciences (Erembodegen, Bélgica).

Se estudiaron 5 combinaciones de AcMos siguiendo el protocolo oficial del fabricante (BD Biosciences): CD11a conjugado con FITC, CD49d conjugado con PE y CD14 conjugado con PerCP; CD62L (FITC), CD54 (PE) y CD14 (PerCP); CD11b (FITC), CD162 (PE) y CD14 (PerCP); MCP-1 (FITC), TNF- α (PE) y CD14 (PerCP); CCR2 (PE) y CD14 (PerCP). Además se

realizó un marcaje con los controles isotópicos siguientes: IgG1, IgG2a e IgG2b. Posteriormente, se adquirió la suspensión de células y se analizaron con el programa CellQuest. La citometría de flujo nos permitió llevar a cabo una selección específica y diferencial de la población monocitaria frente al resto de CMSP. Esta selección de monocitos se realizó de acuerdo a sus características de tamaño (FSC), granularidad (SSC) y alta expresión de CD14, marcador característico de esta población celular. Al menos se adquirieron 1.000 episodios. Tras la adquisición, se analizaron los datos representados en gráficos de puntos de 2 colores (FL1/FL2) para determinar la IMF de los diferentes marcadores y el porcentaje de células positivas para cada uno de ellos con el programa CellQuest.

El coeficiente de variabilidad interanálisis fue menor del 15% y el intraanálisis menor del 3% para todas los marcadores celulares en estudio.

La baja intensidad de fluorescencia de MCP-1, CCR2 y TNF α dificultó establecer el límite entre el marcaje positivo y el correspondiente control negativo. Para evitar la variabilidad en el análisis de las muestras al fijar manualmente el límite de positividad, se analizaron los datos de dichas moléculas con la corrección de Overton mediante el programa FCS Express V3 para Windows.

Estudio estadístico

El tamaño muestral se calculó para un error alfa de 0,05 bilateral y un error beta de 0,02 (potencia de 0,8), con objeto de detectar un tamaño del efecto estandarizado de 0,1. El número de pacientes necesarios a incluir resultó ser igual a 20.

Las variables cuantitativas se expresan como media y desviación estándar y las cualitativas, como porcentaje.

Los cambios en los valores de las distintas variables cuantitativas contempladas en el estudio (lípidos y lipoproteínas, marcadores celulares), con y sin tratamiento hipolipemiante, se evaluaron mediante ANOVA para muestras repetidas, teniendo en consideración los factores período y tratamiento.

Se realizaron correlaciones entre los valores obtenidos, con y sin tratamiento para la concentración de colesterol total en plasma y la expresión monocitaria de las diferentes moléculas de adhesión, citocinas y receptores celulares evaluados, mediante el coeficiente de Pearson.

En todos los casos, se consideró que había diferencias estadísticamente significativas si la p resultante del análisis era menor de 0,05.

El análisis estadístico se llevó a cabo usando el paquete estadístico SPSS versión 13.0 para Windows.

Resultados

En la tabla 1 se presentan las características de la población incluida en el estudio, compuesta por 22 individuos. Todos los participantes finalizaron el estudio y no hubo efectos adversos con ningún tratamiento. No hubo modificaciones en el peso durante el período de estudio.

En la tabla 2 puede observarse la concentración de lípidos y lipoproteínas en cada período de tratamiento.

En la tabla 3 se indica la expresión de moléculas de adhesión, citocinas y receptores celulares al final de cada período de tratamiento. Hubo una ex-

Tabla 1. Características generales de los pacientes del estudio

	Total (n = 22)
Sexo (% varones)	9 (41)
Edad (años)	51,2 ± 13,1
IMC (kg/m ²)	26,7 ± 3,1
Consumo de tabaco (%)	3 (13,6)
Hipertensión arterial (%)	6 (27,3)
Diabetes mellitus (%)	1 (4,5)

IMC: índice de masa corporal.

Tabla 2. Resultados lipídicos al final del período con placebo y con pravastatina

	Placebo (n = 22)	Pravastatina (n = 22)	p
Colesterol total (mg/dl)	287 ± 27	223 ± 28	< 0,001
cLDL (mg/dl)	205 ± 22	144 ± 25	< 0,001
chDL (mg/dl)	53,4 ± 13,1	54,8 ± 12,5	0,407
Triglicéridos (mg/dl)	136 ± 74	118 ± 80	0,079

cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad.

Tabla 3. Intensidad media de fluorescencia (IMF) de moléculas de adhesión, citocinas y receptores monocitarios al final del período con placebo y con pravastatina

	Placebo (n = 22)	Pravastatina (n = 22)	p
CD11a	60,2 ± 9,2	58,6 ± 9,5	0,506
CD49d	119,8 ± 30,1	109,1 ± 28,2	0,074
CD62L	121,4 ± 45,9	110,3 ± 40,2	0,199
CD54	118,5 ± 26,4	109,2 ± 21,4	0,102
CD11b	109,4 ± 40,3	98,8 ± 38,7	0,346
CD162	500,9 ± 94,1	473,1 ± 91,3	0,306
MCP-1	11,6 ± 3,8	11,2 ± 3,7	0,775
CCR2	47,8 ± 15,2	48,9 ± 10,05	0,771
TNF α	14,7 ± 4,9	12,1 ± 2,1	0,030

La IMF se expresa en unidades arbitrarias.

TNF α : factor de necrosis tumoral alfa.

presión menor de TNF α y CD49d, esta última no significativa, al final del período de tratamiento con pravastatina.

No se observó ninguna correlación entre la concentración del colesterol, total o en fracciones, y la IMF con la que los monocitos expresaron los distintos marcadores celulares evaluados, ni de forma basal, ni al comparar el porcentaje de cambio con el tratamiento respecto al período con placebo (datos no mostrados). Tampoco se observó ninguna relación entre las modificaciones de las moléculas

de adhesión con el tratamiento y el sexo, el tabaquismo o el IMC (resultados no mostrados).

Discusión

Nuestros datos demuestran que el tratamiento durante 8 semanas con pravastatina reduce la expresión de TNF α en monocitos procedentes de pacientes con hipercolesterolemia moderada, pero no modifica significativamente otras moléculas de adhesión, receptores celulares, ni citocinas implicados en el proceso aterogénico.

Las CMSP desempeñan un papel importante en la aterogenia⁴. La importancia de las moléculas de adhesión en el proceso aterogénico se ha demostrado en diferentes estudios en los que se ha observado que la utilización de anticuerpos frente a una o varias de ellas¹¹, así como la creación de animales defectivos para uno o varios de los genes que expresan estas moléculas¹², genera una reducción de la adhesión leucocitaria en modelos de inflamación y reduce la progresión de la arteriosclerosis. Se ha demostrado que la presencia de diversos factores de riesgo¹³⁻¹⁵, entre ellos la hipercolesterolemia^{16,17}, se asocia con la activación de CMSP. En este mismo sentido, los pacientes con arteriosclerosis tienen una activación mayor de estas células, indicado por una mayor expresión de CD11a y CD54¹⁸ y unos valores solubles incrementados de MCP-1¹⁹.

En diversos estudios se ha evaluado el efecto del tratamiento hipolipemiante en la expresión de diversas moléculas de adhesión con resultados contradictorios. La mayoría de los estudios han demostrado que las estatinas reducen la activación celular, con descenso en la expresión de CD54, CD11a²⁰ y CD11b²¹, tanto *in vitro*, como *ex vivo*, lo cual se acompaña de una adhesión celular menor al endotelio²⁰. También se ha observado un descenso en los valores solubles de CD54 y E-selectina con este tratamiento²². Por el contrario, otros autores no han observado cambios ni en la expresión²³, ni en los valores solubles²⁴ de las moléculas de adhesión estudiadas, o han observado un aumento en la actividad celular con incremento en la expresión de CD11a y CD11b²⁵.

Nuestro estudio ha demostrado que el tratamiento con pravastatina reduce la expresión intracitoplásmica de TNF α . En estudios previos se ha demostrado que las estatinas reducen su expresión linfocitaria²⁶, en monocitos activados *ex vivo* con lipopolisacárido²⁷ y en plasma²⁴. El TNF α desempeña un papel importante en el proceso aterogénico al regular el tráfico leucocitario hacia el foco inflamatorio²⁸ y estimular la activa-

ción de las CMSP, lo que favorece su adhesión firme al endotelio y su posterior paso al espacio subendotelial. Una vez en el interior de la pared arterial, los monocitos diferenciados a macrófagos secretan TNF α ²⁹, el cual favorece la expresión endotelial de distintas moléculas de adhesión y quimiocinas que aumentan la selección de nuevas CMSP hacia el foco inflamatorio²⁸. Los linfocitos del espacio subendotelial también secretan TNF α , lo cual amplifica la respuesta inflamatoria al promover la activación del macrófago. En diversas enfermedades inflamatorias agudas y crónicas³⁰ se han observado unos valores incrementados de TNF α que se acompañan de una activación mayor de las CMSP. Algunas enfermedades inflamatorias, como es el caso de la artritis reumatoide, se asocian a un riesgo mayor de morbilidad y mortalidad cardiovascular, que se reduce con la utilización de fármacos modificadores biológicos de la enfermedad, en particular el agente anti-TNF α ³¹. Además, se han observado valores elevados de TNF α en pacientes con dislipemia³² y otros factores de riesgo cardiovascular^{14,33,34}, así como en pacientes con enfermedad coronaria³⁵.

Aunque no hemos encontrado una correlación entre el descenso de TNF α y la reducción de la concentración de colesterol, nuestros datos no permiten descartar esta posibilidad, si bien numerosos estudios han demostrado que las estatinas presentan acciones pleiotrópicas, independientes del descenso del colesterol².

Nuestro estudio tiene algunas limitaciones. El número de pacientes incluido se calculó teniendo en cuenta una desviación estándar menor en las muestras evaluadas, lo que, dada la gran variabilidad en la expresión de estas moléculas en los diferentes individuos del estudio, podría hacer que el descenso obtenido en todas las moléculas no fuera significativo.

En conclusión, los pacientes hipercolesterolemicos tratados con pravastatina durante 8 semanas presentan un descenso significativo en la expresión de la citocina proinflamatoria TNF α , cuando se compara con placebo. La reducción de TNF α podría ser un mecanismo más a través del cual esta estatina reduce el riesgo de complicaciones vasculares.

Agradecimientos

Nuestro más profundo agradecimiento a todas las personas que de manera voluntaria participaron en el estudio, así como a Luisa Elez y Paloma Gordo por su asistencia técnica.

Bibliografía

1. Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C, et al. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet*. 2005;366:1267-78.
2. Shaw SM, Fildes JE, Yonan N, Williams SG. Pleiotropic Effects and Cholesterol-Lowering Therapy. *Cardiology*. 2008;112:4-12.
3. Usharani P, Mateen AA, Naidu MU, Raju YS, Chandra N. Effect of NCB-02, atorvastatin and placebo on endothelial function, oxidative stress and inflammatory markers in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized, parallel-group, placebo-controlled, 8-week study. *Drugs RD*. 2008;9:243-50.
4. Ross R. Atherosclerosis—An inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;340:115-26.
5. Rainer TH. L-selectin in health and disease. *Resuscitation*. 2002; 52:127-41.
6. Patarroyo M. Adhesion molecules mediating recruitment of monocytes to inflamed tissue. *Immunobiology*. 1994;191:474-7.
7. Carlos TM, Harlan JM. Leukocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood*. 1994;84:2068-101.
8. Reape TJ, Groot PH. Chemokines and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 1999;147:213-25.
9. Plaza Pérez I, Villar Álvarez F, Mata López P, Pérez Jiménez F, Maiquez Galán A, Casasnovas Lenguas JA, et al. Control de la colesterolemia en España, 2000. Un instrumento para la prevención cardiovascular. *Rev Clin Esp*. 2000;200:494-515.
10. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972; 18:499-502.
11. Watanabe T, Fan J. Atherosclerosis and inflammation mononuclear cell recruitment and adhesion molecules with reference to the implication of ICAM-1/LFA-1 pathway in atherogenesis. *Int J Cardiol*. 1998;66 Suppl 1:S45-53.
12. Dawson TC, Kuziel WA, Osahar TA, Maeda N. Absence of CC chemokine receptor-2 reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis*. 1999;143:205-11.
13. Bouma G, Lam-Tse WK, Wierenga-Wolf AF, Drexhage HA, Versnel MA. Increased serum levels of MRP-8/14 in type 1 diabetes induce an increased expression of CD11b and an enhanced adhesion of circulating monocytes to fibronectin. *Diabetes*. 2004;53: 1979-86.
14. Curat CA, Miranville A, Sengenes C, Diehl M, Tonus C, Busse R, et al. From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes*. 2004;53:1285-92.
15. Kriegstein CF, Granger DN. Adhesion molecules and their role in vascular disease. *Am J Hypertens*. 2001;14:44S-54S.
16. De Bont N, Geijtenbeek TB, Netea MG, Smilde TJ, Demacker PN, Figdor CG, et al. Integrin mediated adhesion of mononuclear cells from patients with familial hypercholesterolemia. *Eur J Clin Invest*. 1999;29:749-57.
17. Benitez MB, Cuniberti L, Fornari MC, Gomez Rosso L, Berardi V, Elikir G, et al. Endothelial and leukocyte adhesion molecules in primary hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis*. 2008;197:679-87.
18. Kawamura A, Miura S, Murayama T, Iwata A, Zhang B, Nishikawa H, et al. Increased expression of monocyte CD11a and intracellular adhesion molecule-1 in patients with initial atherosclerotic coronary stenosis. *Circ J*. 2004;68:6-10.
19. Martinovic I, Abegunewardene N, Seul M, Vosseler M, Horstick G, Buerke M, et al. Elevated monocyte chemoattractant protein-1 serum levels in patients at risk for coronary artery disease. *Circ J*. 2005;69:1484-9.
20. Rezaie-Majd A, Prager GW, Bucek RA, Schernthaner GH, Maca T, Kress HG, et al. Simvastatin reduces the expression of adhesion molecules in circulating monocytes from hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:397-403.
21. Weber C, Erl W, Weber KS, Weber PC. HMG-CoA reductase inhibitors decrease CD11b expression and CD11b-dependent adhesion of monocytes to endothelium and reduce increased adhesiveness of monocytes isolated from patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 1997;30:1212-7.

22. Van Haelst PL, Van Doormaal JJ, May JF, Gans RO, Crijns HJ, Cohen Tervaert JW. Secondary prevention with fluvastatin decreases levels of adhesion molecules, neopterin and C-reactive protein. *Eur J Intern Med.* 2001;12:503-9.
23. Stulc T, Vrablik M, Kasalova Z, Ceska R, Marinov I. Atorvastatin reduces expression of leukocyte adhesion molecules in patients with hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2003;166:197-8.
24. Solheim S, Seljeflot I, Arnesen H, Eritsland J, Eikvar L. Reduced levels of TNF alpha in hypercholesterolemic individuals after treatment with pravastatin for 8 weeks. *Atherosclerosis.* 2001;157: 411-5.
25. Van Oostrom AJ, Plokker HW, Van Asbeck BS, Rabelink TJ, Van Kessel KP, Jansen EH, et al. Effects of rosuvastatin on postprandial leukocytes in mildly hyperlipidemic patients with premature coronary sclerosis. *Atherosclerosis.* 2006;185:331-9.
26. Link A, Ayadhi T, Bohm M, Nickenig G. Rapid immunomodulation by rosuvastatin in patients with acute coronary syndrome. *Eur Heart J.* 2006;27:2945-55.
27. Ferro D, Parrotto S, Basili S, Alessandri C, Violi F. Simvastatin inhibits the monocyte expression of proinflammatory cytokines in patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 2000; 36:427-31.
28. Okada M, Matsuto T, Miida T, Inano K. Differences in the effects of cytokines on the expression of adhesion molecules in endothelial cells. *Ann Med Interne (Paris).* 1997;148:125-9.
29. Thai SF, Lewis JG, Williams RB, Johnson SP, Adams DO. Effects of oxidized LDL on mononuclear phagocytes: inhibition of induction of four inflammatory cytokine gene RNAs, release of NO, and cytolysis of tumor cells. *J Leukoc Biol.* 1995;57:427-33.
30. Bhatnagar A, Wig JD, Majumdar S. Expression of activation, adhesion molecules and intracellular cytokines in acute pancreatitis. *Immunol Lett.* 2001;77:133-41.
31. Ablin JN, Boguslavski V, Aloush V, Elkayam O, Paran D, Caspi D, et al. Effect of anti-TNFalpha treatment on circulating endothelial progenitor cells (EPCs) in rheumatoid arthritis. *Life Sci.* 2006;79:2364-9.
32. Serrano CV Jr, Yoshida VM, Venturinelli ML, D'Amico E, Monteiro HP, Ramires JA, et al. Effect of simvastatin on monocyte adhesion molecule expression in patients with hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2001;157:505-12.
33. Tsiorvas PC, Tsigos C, Yfanti E, Anastasiou E, Vikentiou M, Psarra K, et al. Visfatin, TNF-alpha and IL-6 mRNA expression is increased in mononuclear cells from type 2 diabetic women. *Horm Metab Res.* 2007;39:758-63.
34. Kim KI, Lee JH, Chang HJ, Cho YS, Youn TJ, Chung WY, et al. Association between blood pressure variability and inflammatory marker in hypertensive patients. *Circ J.* 2008;72:293-8.
35. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer M, Sacks F, Lepage S, Braunwald E. Elevation of tumor necrosis factor-alpha and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation.* 2000;101: 2149-53.