

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**Departamento de medicina**



**EFFECTO DEL TRATAMIENTO CON ATORVASTATINA Y SU  
RETIRADA SOBRE MARCADORES DE  
ARTERIOESCLEROSIS SUBCLÍNICA EN PACIENTES CON  
LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO**

**ANA CASTAÑEDA PASTOR**

**TESIS DOCTORAL**

**MADRID, 2014**

**ANA CASTAÑEDA PASTOR**

**EFFECTO DEL TRATAMIENTO CON ATORVASTATINA Y SU RETIRADA  
SOBRE MARCADORES DE ARTERIOESCLEROSIS SUBCLÍNICA EN  
PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO**

Directores:

Dr. **MIGUEL YEBRA BANGO**. PROFESOR HONORARIO DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID Y JEFE DE SECCIÓN DEL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA.

Dra. **RAQUEL CASTEJÓN DÍAZ**. PROFESORA HONORARIA DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID E INVESTIGADORA DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

2014



# Agradecimientos

Es difícil concentrar en este pequeño espacio mi gratitud a todas aquellas personas que, de forma directa o indirecta, han hecho posible la realización de esta Tesis Doctoral.

Por su puesto, en primer lugar, a los Dres. Miguel Yebra y Raquel Castejón, mis directores de Tesis, sin los que no sería posible este trabajo. A Miguel, por su esfuerzo incansable y su pasión por la medicina, por haberme permitido aprender a su lado. A Raquel, por abrirme una ventana a este bonito mundo del “progenitor endotelial”, por tener siempre una palabra de ánimo, por su completa disposición y su fantástico sentido práctico de las cosas. A los dos les agradezco esas muchas horas que hemos dedicado juntos a este trabajo.

Al Dr. Carlos Jiménez, no sólo por la realización de los estudios de elasticidad arterial, sino también por trasmitirme su pasión por este tema. Por su cercanía y su sentido del humor, que han hecho que el trabajo fuese más sencillo.

No pueden faltar el resto de componentes del Laboratorio de Medicina Interna, a Silvia Rosado, con su importante ayuda, y a María Jesús Citores. A los Dres. Juan Antonio Vargas, Susana Mellor y Pablo Tutor, componentes de la Unidad de Enfermedades Autoinmunes, que han conseguido despertar mi interés por este mundo, además de mi admiración por su trabajo.

A mi predecesora en este tema, Ana Sollet, puesto que este logro es en parte suyo.

A Isabel Millán, por su imprescindible ayuda en la realización de los estudios estadísticos.

Agradecer también a todos los miembros del Servicio de Medicina Interna del Hospital Puerta de Hierro, que han aportado durante los años de mi residencia las enseñanzas que me han convertido en médico. Incluyo aquí a los miembros de la secretaría, que siempre me han cuidado y que, además, en esta última etapa han colaborado en el ir y venir de los pacientes del estudio. A mis residentes mayores y pequeños, como no, que siempre están cerca.

A todos los amigos que han aguantado con enorme paciencia los últimos meses. A mi familia, que me sostiene siempre.

Finalmente, y sin duda alguna no menos importantes, a mis padres. Por enseñarme la importancia del estudio, por ser un continuo estímulo para superarme, por apoyarme y animarme siempre, por ser un gran ejemplo. Porque les debo gran parte de lo que soy.

## *Indice*

Abreviaturas y símbolos	10
Listado de figuras	14
Listado de tablas	16
Introducción	18
Objetivos	37
Material y métodos	40
1. Pacientes	41
2. Protocolo y diseño	43
2.1. Factores de riesgo cardiovascular clásicos	44
2.2. Factores relacionados con el LES	46
3. Evaluación de la arterioesclerosis subclínica. Medida de la elasticidad arterial mediante velocidad de onda de pulso	52
4. Estudio y cuantificación de células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales	54
4.1. Obtención de las muestras	54
4.2. Determinación de células endoteliales circulantes: estudio de la subpoblación de células apoptóticas	55
4.3. Determinación de las células progenitoras endoteliales circulantes	56
5. Estudio de la expresión de factores solubles en suero	58
6. Parámetros de seguridad del tratamiento con estatinas	60
7. Metodología estadística	61
Resultados	62
1. Características basales de la población	63
2. Modificación de los factores de riesgo cardiovascular a lo largo del seguimiento	67
3. Modificación de los factores relacionados con el LES a lo largo	70



del seguimiento	
4. Evolución de los parámetros de arterioesclerosis subclínica	73
5. Evolución del porcentaje de células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales	77
6. Modificación de la cuantificación de proteínas solubles a lo largo del tiempo	84
7. Parámetros de seguridad	86
<b>Discusión</b>	<b>88</b>
1. Características basales de las pacientes	93
2. Efecto del tratamiento con Atorvastatina sobre los factores de riesgo cardiovascular	95
3. Efecto del tratamiento con Atorvastatina sobre los factores relacionados con el LES	98
4. Efecto del tratamiento con Atorvastatina en los parámetros de arterioesclerosis subclínica	101
5. Influencia del tratamiento con Atorvastatina en la cuantificación de células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales	106
6. Efecto del tratamiento con Atorvastatina en la cuantificación de proteínas solubles	109
7. Parámetros de seguridad	111
8. Resumen y limitaciones	112
<b>Conclusiones</b>	<b>115</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>118</b>

## *Abreviaturas*

ACR: American College of Rheumatology.

ACV: Accidente cerebrovascular.

AFCAPS/TexCAPS: Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study.

ANA: Anticuerpos antinucleares.

APC: Alofocianina.

ASCOT-LLA: Anglo Scandinavian Cardiac Outcomes Trial – Lipid Lowering Atorvastatin.

CAC: Célula endotelial apoptótica circulante.

CCL2: Proteína quimiotáctica de los monocitos-1.

CCL3: Proteína inflamatoria macrofágica -1 $\alpha$ .

CE: Célula endotelial.

CMH-II: Complejo mayor de histocompatibilidad de clase II.

CMSP: Células mononucleares de sangre periférica.

COX-2: Ciclooxygenasa-2.

CPE: Célula progenitora endotelial.

CPEC: Célula progenitora endotelial circulante.

CXCL9: Monoquina inducida por interferón gamma.

DM: Diabetes mellitus.

DO: Densidad óptica.

EKG: Electrocardiograma.

ELISA: Enzimo-inmunoensayo.

ET-1: Endotelina-1.

FITC: Isocianato de fluoresceína.

GIM: Grosor íntima-media.

Hb glicada: Hemoglobina glicosilada.

HDL-colesterol: Colesterol de alta densidad.

HMG-CoA reductasa: Hidroxi-metil glutaril coenzima A reductasa.

HTA: Hipertensión arterial.

IAM: Infarto agudo de miocardio.

IFN $\alpha$ : Interferon alfa.

IFN $\gamma$ : Interferon gamma.

ICAM-1: Molécula de adhesión intercelular.

IL-1: Interleucina-1.

IL-2: Interleucina-2.

IL-6: Interleucina-6.

IL-8: Interleucina-8.

IL-10: Interleucina-10.

IL-12: Interleucina-12.

IL-18: Interleucina-18.

IMC: Índice de masa corporal.

IP: Ioduro de propidilo.

LAPS: Lupus atherosclerosis prevention study.

LES: Lupus eritematoso sistémico.

LDL-colesterol: Colesterol de baja densidad.

MCP-1: Proteína quimiotáctica de monocitos-1.

NO: Oxido nítrico

Ox-LDL: Colesterol de baja densidad oxidado.

PCR: Proteína C reactiva.

PCR us: Proteína C reactiva ultrasensible.

PE: Ficoeritrina.

SLAM-R: Systemic Lupus Activity Measure – Revised.

SLEDAI: Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index.

SLICC/ACR: Systemic lupus Internacional Collaborating Clinics/ American College of Rheumatology Damage Index.

SPECT: Single Photon Emission Computed Tomography.

TA: Tensión arterial.

TAD: Tensión arterial diastólica.

TAS: Tensión arterial sistólica.

TC: Tomografía computerizada.

TNF: Factor de necrosis tumoral.

TM: Trombomodulina.

VCAM-1: Molécula de adhesión de la célula vascular.

VEGF: Factor de crecimiento endotelial.

VLDL-colesterol: Colesterol de muy baja densidad.

VOP: Velocidad de onda de pulso.

VSG: Velocidad de sedimentación globular.

WOSCOPS: Scotland Coronary Prevention Study

## *Listado de figuras*

Figura 1. Diagrama de los diferentes mecanismos de acción de las estatinas.	34
Figura 2. Origen y diferenciación de las células progenitoras endoteliales (Shantsila E, 2007).	56
Figura 3. Distribución de los tratamientos en la visita basal.	64
Figura 4. Distribución de los factores de riesgo cardiovascular en la visita basal.	65
Figura 5. Distribución de los factores de riesgo cardiovascular en la población.	65
Figura 6. Evolución de los factores de riesgo cardiovascular.	67
Figura 7. Evolución de la VOP en los distintos grupos de edad.	74
Figura 8. Evolución de la VOP según su clasificación normal o patológica en la visita basal.	76
Figura 9. Evolución de las células endoteliales circulantes a lo largo del seguimiento.	78

## *Listado de tablas*



Tabla 1. Criterios ACR para el diagnóstico de LES.	42
Tabla 2. Formulario del índice de actividad del LES, SELENA-SLEDAI.	47
Tabla 3. Formulario del índice de daño del LES, SLICC/ACR.	49
Tabla 4. Evolución de los factores de riesgo cardiovascular modificables.	69
Tabla 5. Evolución de las determinaciones inmunológicas cuantitativas.	71
Tabla 6. Evolución de los marcadores inflamatorios.	72
Tabla 7. Cifras medias de la VOP en los distintos grupos de edad.	74
Tabla 8. Cuantificación de las células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales.	78
Tabla 9. Cuantificación de las células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales en el grupo de edad entre 36 y 59 años.	79
Tabla 10. Cuantificación de las células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales en el grupo de pacientes menores de 35 años.	80
Tabla 11. Cuantificación de las células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales en el grupo de pacientes mayores de 59 años.	81
Tabla 12. Cuantificación de las células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales en el grupo de pacientes con VOP patológica en la visita basal.	82
Tabla 13. Cuantificación de las células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales en el grupo de pacientes con VOP normal en la visita basal.	82
Tabla 14. Concentración sérica de las proteínas solubles previa y tras el tratamiento con Atorvastatina.	85
Tabla 15. Evolución de los parámetros de seguridad tras las ocho semanas de tratamiento con Atorvastatina.	87

# *Introducción*

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad de base autoinmune que afecta predominantemente a mujeres. Su afectación sistémica le confiere gran heterogeneidad en cuanto a manifestaciones clínicas, siendo la piel, las articulaciones, el riñón, el sistema nervioso central y las membranas serosas los sistemas más frecuentemente dañados. Este daño tisular está mediado fundamentalmente por el depósito de inmunocomplejos, seguido de la activación de la cascada del complemento y la migración de células inflamatorias.

La introducción de los corticoides para su tratamiento y el diagnóstico más precoz, en los años 50, mediante la determinación de marcadores serológicos, hicieron que el pronóstico de la enfermedad mejorara ostensiblemente, de manera que, de una mortalidad de aproximadamente el 50% de los pacientes a cinco años se pasó, a mediados de la década de los años 60, a una supervivencia media superior a los 15 años.

Motivado por este cambio en el curso evolutivo de la enfermedad, en 1976 se realiza el primer estudio observacional que analiza las causas de mortalidad de los pacientes con LES. En él, Urowitz et al, describen dos grupos diferenciados de pacientes: un primer grupo formado por pacientes que fallecen en el primer año tras el diagnóstico del LES, que presentan datos de actividad de la enfermedad tanto clínica como serológicamente, un alto porcentaje de afectación renal y complicaciones infecciosas; y un segundo grupo de pacientes con un tiempo medio hasta el fallecimiento de 8,9 años, en el que la mayoría se encontraban inactivos de la enfermedad y en los que la causa fundamental de la muerte fue el infarto agudo de miocardio (IAM). Describen así el clásico “patrón bimodal de mortalidad” del LES (Urowitz M, 1976). En posteriores publicaciones, este mismo grupo de Toronto,

confirma con mayor número de pacientes esta tendencia, en la que la mortalidad tardía se debe fundamentalmente a problemas de origen cardiovascular (Rubin LA, 1985; Abu-Shakra M, 1995).

Trabajos en necropsias coinciden en la relevancia de la patología arterioesclerótica en la mortalidad de los pacientes con LES. Buckley et al en 1975, describen una serie de 36 necropsias en las que se objetivó obstrucción significativa (mayor del 50% de la luz) de al menos una arteria de las tres coronarias principales en un 42% de los casos (Buckley BH, 1975).

Hace unos años se han publicado los datos de mortalidad de una cohorte de pacientes cuyo seguimiento finalizaba en el año 2001, en la que se objetiva la evolución de estos hallazgos a lo largo del tiempo. En dicho estudio se demuestra una disminución progresiva de la mortalidad global (del 60% al comparar la década de los 70 con la de los 90) debido a un descenso de la mortalidad de causa infecciosa y renal, a pesar de que la mortalidad de origen cardiovascular sufre un incremento paulatino en las últimas tres décadas (Bernatsky S, 2006).

La evidencia clínica existente sitúa la prevalencia de la enfermedad cardiovascular en los pacientes con LES entre un 6 y un 15%, cifra superior a lo objetivado en los controles de la misma edad (Jonson H, 1989; Petri M, 1992; Manzi S, 1997; Urowitz M, 2007; Esadile J, 2011). Del estudio realizado por Manzi et al, en el que analizan la incidencia de eventos cardiovasculares (IAM y angina) por grupos de edad en mujeres con LES y los comparan con la cohorte de Framingham, es destacable que el grupo de edad de entre 35 y 44 años presenta una tasa 52 veces superior de IAM que los controles del mismo rango de edad (Manzi S, 1997).

Queda patente con estos trabajos el patrón bimodal de mortalidad, así como la importancia creciente de la patología cardiovascular en los pacientes con LES.

Las técnicas de determinación precoz de enfermedad cardiovascular se han convertido, por todo ello, en una herramienta fundamental para ampliar los datos anteriormente expuestos.

Mediante ecografía doppler carotídea realizada sobre una población de pacientes con LES y un grupo control, se ha observado que la incidencia de placa carotídea es superior en los pacientes que en los controles (37.1% frente a 15.2%, respectivamente) (Roman M, 2003). Un segundo estudio realizado por el mismo grupo evalúa la progresión de la placa mediante la repetición del estudio ecográfico trascurrida una media de 34 meses y, con los datos obtenidos, se estima una progresión de la placa carotídea en los pacientes con LES del 10% anual, mientras que en el grupo control no alcanza el 5% (Roman M, 2007).

Otra técnica no invasiva es la tomografía computerizada (TC) que permite la cuantificación de la calcificación de las arterias coronarias como medida de la arterioesclerosis subclínica. Esta técnica fue la empleada por Asanuma et al en un grupo de pacientes con LES y un grupo control (ambos sin antecedentes de enfermedad cardiovascular clínica), objetivando la aparición de calcificación coronaria a edades más tempranas y en mayor proporción en los pacientes con LES con respecto a los controles (Asanuma Y, 2003). El grupo de Baltimore recientemente ha dado un paso más, analizando el porcentaje de placa no calcificada mediante TC coronario en su cohorte de pacientes con LES, evidenciando que el 53% de los pacientes que no presentan calcificación coronaria tienen placa no calcificada, siendo éste un porcentaje muy superior al de la población general, que se estima entre un 6 y un 16% (Kiani AN, 2012).

Además de la placa carotídea, la ecografía doppler permite evaluar el grosor íntima-media (GIM) y la velocidad de onda de pulso (VOP).

El aumento del GIM ha demostrado, en población general, ser un marcador precoz de arterioesclerosis subclínica que permite identificar sujetos de alto riesgo (Poredos P, 2004). En lupus, se han realizado varios estudios de similar diseño que analizan estos parámetros. La mayoría de trabajos iniciales no obtiene resultados significativos o son contradictorios. En 2007, Colombo et al publican el primero que evidencia un GIM mayor en los pacientes que en los controles (Colombo BM, 2007). En años sucesivos, varios trabajos ratifican estos resultados (Shang Q, 2008; Caccipaglia F, 2009; Leeuw K, 2009).

La VOP, considerada el “gold standard” para la medida de la rigidez arterial, traduce cambios en la pared arterial que predisponen a la aparición de la placa arterioesclerótica. Es por ello, junto a la evaluación de la función endotelial mediante dilatación mediada por flujo, la técnica que analiza la fase más precoz de la arterioesclerosis. Los trabajos de Shang et al y Caccipaglia et al, ya comentados, evidencian también un incremento en la VOP en los pacientes con LES al compararlos con los controles sanos (Shang Q, 2008; Caccipaglia F, 2009). Además, objetivan una relación independiente del LES con la VOP y el GIM (Shang Q, 2008).

La evaluación de la función endotelial mediante la respuesta a estímulos farmacológicos y fisiológicos, como ya hemos mencionado, es también un marcador precoz de daño vascular ya que el endotelio juega un papel fundamental en el desarrollo de la arterioesclerosis. Lima et al, realizaron un estudio de función endotelial mediante la medición del diámetro de la arteria braquial en reposo, durante hiperemia reactiva (dilatación mediada por flujo) y tras la administración de gliceril trinitrato. Concluyen que los pacientes con LES presentan una dilatación mediada por flujo (que es la dependiente del endotelio) inferior a la de los controles; mientras que la mediada por vasodilatadores (independiente del endotelio) no mostraba diferencias

significativas entre los pacientes con LES y los controles (Lima DS, 2002). Dos años más tarde, otro grupo confirma estos datos y además observa una correlación negativa entre el GIM y la disfunción endotelial (El-Magadmi M, 2004).

Por tanto, tras el análisis de estos trabajos, se puede concluir que los pacientes con LES presentan más arterioesclerosis subclínica, con aparición a edades más tempranas y con una tasa de progresión superior a la de la población general.

Ante la importancia de estos datos, se plantea analizar los posibles factores que unen el lupus y la arterioesclerosis.

Inicialmente, los trabajos se centraron en el análisis de los factores de riesgo cardiovascular “clásicos”. Al estudiar dichos factores en 229 pacientes con LES, Petri et al describen la presencia de al menos 3 factores de riesgo en el 53% de los pacientes (Petri M, 1992). En el análisis comparativo con controles sanos, los pacientes presentan una media de factores de riesgo por persona superior a los controles, siendo la hipertensión arterial (HTA), la diabetes mellitus (DM), el colesterol de muy baja densidad (VLDL-colesterol), los triglicéridos y los niveles de homocisteína los factores de riesgo significativamente más prevalentes en los pacientes con LES (Bruce IN, 2003). Dos trabajos que analizan las diferencias entre pacientes con LES que han presentado un evento cardiovascular arterioesclerótico previo y aquellos que no lo han presentado, observan un mayor porcentaje de factores de riesgo en los pacientes con evento previo, y coinciden en ambos estudios la HTA y la hipercolesterolemia como los factores más prevalentes en los mismos (Petri M 1992; Urowitz M 2007). Por último, un trabajo español compara la incidencia de síndrome metabólico en un grupo de pacientes con LES y un grupo control, observando que en los menores de 40 años el síndrome metabólico es cuatro veces más frecuente en los pacientes que en los controles y que solamente un 16% de los enfermos no tenía

ningún criterio de síndrome metabólico frente a un 40% del grupo control (Sabio JM, 2008).

Así, los pacientes con LES presentan un porcentaje superior de factores de riesgo cardiovascular clásicos que la población general y, a su vez, los pacientes con LES que han sufrido un evento cardiovascular tienen mayor número de factores de riesgo que los que no lo han presentado.

A pesar de ello, la incidencia de enfermedad cardiovascular arterioesclerótica en estos pacientes no se explica por este número aumentado de factores de riesgo.

En un estudio retrospectivo, Esdaile et al realizan un cálculo de los eventos esperados (IAM no fatal, muerte por enfermedad coronaria, enfermedad coronaria global y accidente cerebrovascular (ACV)) según el número de factores de riesgo que presentaban 263 pacientes y lo comparan con los eventos observados. Los datos obtenidos mostraron un riesgo de enfermedad coronaria y ACV siete veces superior al que sería esperable para sus factores de riesgo, el de IAM no fatal diez veces superior y diecisiete veces superior el de la muerte por enfermedad coronaria (Esdaile J, 2001). El grupo de Toronto analiza los factores de riesgo en pacientes con LES y enfermedad coronaria previa comparándolos con pacientes sin enfermedad autoinmune sistémica y enfermedad coronaria prematura. En este caso, los pacientes con lupus presentaban un porcentaje medio de factores de riesgo cardiovascular inferior al de los pacientes afectados exclusivamente de enfermedad cardiovascular (Rahman P, 1999).

Estos hallazgos hacen pensar que en el LES puede haber enfermedad arterioesclerótica con un menor número de factores de riesgo cardiovascular, por lo que otros parámetros de la propia enfermedad o su tratamiento deben influir.



Por ello, posteriormente se han analizado dichos factores, encontrando múltiples parámetros asociados al LES que se relacionan con la enfermedad cardiovascular de forma independiente.

Centrándose más en los datos clínicos, el grupo de Toronto observa que la afectación neuropsiquiátrica y la vasculitis son factores de riesgo independientes para presentar un evento cardiovascular (Urowitz M, 2007). El desarrollo de nefritis lúpica y la proteinuria mantenida han sido asociadas también al desarrollo de arteriosclerosis subclínica (Theodoridou A, 2003; Manger K, 2003; Maksimowickz-Mc Kinnon, 2006).

Al realizar una comparación entre los pacientes con placa carotídea y aquellos sin placa en el estudio de Roman et al previamente mencionado, existe una correlación positiva entre la edad al diagnóstico, el tiempo de evolución de la enfermedad y el índice de daño acumulado (medido por el Systemic lupus International Collaborating Clinics/ American Collage of Rheumatology Damage Index (SLICC/ACR)) con la presencia de placa carotídea. Esta correlación es inversa con la dosis de prednisona y el tratamiento con ciclofosfamida (Roman M, 2003). En dos publicaciones algo más recientes, nuevamente son la edad al diagnóstico y el tiempo de evolución de la enfermedad los factores que se correlacionan con cifras más elevadas de GIM y de progresión de la placa de ateroma (Leeuw K, 2009; Kiani AN, 2011).

En cuanto a la actividad de la enfermedad, existen datos algo contradictorios. En un análisis de la relación de la actividad de la enfermedad con el GIM, Shang et al observan que los pacientes con un LES activo (considerando activo un Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI) igual o superior a tres) presentan mayor GIM que los pacientes inactivos (Shang Q, 2008). Por el contrario, en otro trabajo realizado ese mismo año, se observa una correlación directa entre la

actividad (medida mediante el Lupus activity index) y la dilatación mediada por flujo (Valdivieso, 2008). Recientemente, Romero-Díaz et al aportan un dato novedoso que aclara este punto: la presencia de calcificación coronaria se asocia con una actividad de la enfermedad media, a lo largo del tiempo, más elevada y con un periodo más prolongado con una actividad moderada-grave medida mediante SLEDAI (Romero-Díaz, 2012).

La cohorte de Baltimore añade como factor independiente para el desarrollo de arterioesclerosis la elevación del complemento C3, dato que ya se había demostrado como factor de riesgo en población general, sin que se conozca con exactitud su mecanismo aterogénico (Maksimowicz-McKinnon K, 2006).

El hecho de que exista una correlación positiva entre arterioesclerosis subclínica, el tiempo de evolución de la enfermedad, la actividad elevada de la enfermedad a lo largo del tiempo y un mayor índice de daño acumulado por una parte y, por otra, que los pacientes con menor dosis de tratamiento inmunosupresor (y por tanto, menor control del proceso inflamatorio) presenten más ateromatosis, hace pensar que la inflamación mantenida a lo largo del tiempo es un importante factor que contribuye al proceso de arterioesclerosis acelerada.

La placa de ateroma es el resultado de un proceso inflamatorio complejo en el que intervienen múltiples mediadores implicados también en la etiopatogenia de otras patologías de origen autoinmune.

Con el paso de moléculas de colesterol de baja densidad (LDL-colesterol) al interior de la pared arterial se inicia la formación de la placa de ateroma. En el espacio subendotelial, el LDL-colesterol sufre un proceso de oxidación e inicia una respuesta

inflamatoria local. Las células endoteliales (CE) producen citocinas y moléculas de adhesión, promoviendo la diferenciación de los monocitos a macrófagos, que fagocitan el LDL oxidado (Ox-LDL) convirtiéndose en células espumosas. Estas células conformarán la base fundamental de la placa arterioesclerótica. A su vez, los receptores de los macrófagos (Toll-like receptors) reconocen otras moléculas como endotoxinas bacterianas, fragmentos de células apoptóticas y el propio Ox-LDL, activándose y produciendo nuevamente citocinas, radicales libres y otras moléculas pro-inflamatorias que perpetúan el proceso inflamatorio y el daño tisular. Determinadas citocinas como el factor de necrosis tumoral alfa ( $TNF\alpha$ ) y la interleucina-1 (IL-1), inducen la producción de moléculas de adhesión, como la selectina-E, la molécula de adhesión de la célula vascular (VCAM-1) y la molécula de adhesión intercelular (ICAM-1), que median la unión de los leucocitos a la superficie de las células endoteliales (CE), tras lo que migran hacia la íntima de la pared arterial por la acción de proteínas quimiotácticas. En su mayoría son linfocitos T productores de citocinas Th1 (como el interferon alfa ( $IFN\alpha$ )) que activan a los macrófagos y las células endoteliales, colaborando a que se perpetúe el proceso inflamatorio. Finalmente, los monocitos y los linfocitos T infiltran el margen de la placa y se estimula el crecimiento de las células musculares de la media arterial ocupando parte de la luz del vaso y generando fibrosis. Una vez formada la placa, las plaquetas circulantes se van agregando pudiendo ocluir la luz (Hansson GK, 2007; Mehra VC, 2005; Mc Mahon M, 2007).

Dado que en los pacientes con lupus existe un incremento de arterioesclerosis subclínica y que LES y arterioesclerosis comparten una base etiopatogénica común, múltiples autores han realizado trabajos que intentan correlacionar ambas patologías con mediadores inflamatorios séricos.

En 2006, Asanuma et al realizan un estudio comparativo entre pacientes con LES y controles a los que realizan una determinación de citocinas inflamatorias. Los niveles de Interleucina-6 (IL-6) y la Proteína quimiotáctica de monocitos (MCP-1) se encontraban elevados en los pacientes frente a los controles (Asanuma Y, 2006).

Kuryliszyn-Moskal et al, estudian la relación de las concentraciones séricas de Endotelina-1 (ET-1), Trombomodulina (TM) y E-Selectina con la actividad de la enfermedad y las manifestaciones orgánicas y, nuevamente, realizan una comparación con controles. Demuestran una mayor concentración de los tres parámetros en los pacientes y evidencian una correlación entre los niveles de Endotelina-1 con la actividad de la enfermedad (Kuryliszyn-Moskal A, 2008).

Varios trabajos analizan la relación entre parámetros de arterioesclerosis subclínica en pacientes con LES y mediadores inflamatorios. El primero, ya mencionado con anterioridad, muestra una correlación positiva entre la calcificación coronaria determinada por TC coronario y los niveles de IL-6 (Asanuma Y, 2006). Este mismo grupo, posteriormente, observa una asociación entre las moléculas de adhesión (VCAM, ICAM y E-Selectia) y el TNF $\alpha$  con la presencia de calcificación coronaria; correlación que es independiente del riesgo cardiovascular medido mediante el Score de Framingham (Rho YH, 2008). Finalmente, Colombo et al, evidencian una correlación positiva entre los niveles de Factor de crecimiento endotelial (VEGF) con el GIM de los pacientes con LES (Colombo BM, 2009). Todos ellos realizan una comparación de los niveles de marcadores séricos entre los pacientes y un grupo control, siendo siempre estos niveles más elevados en los pacientes.

Un trabajo reciente analiza, en pacientes con LES y similar riesgo cardiovascular, la relación entre la actividad de IFN $\alpha$  tipo I con el GIM, la dilatación

mediada por flujo y la calcificación coronaria medida por TC coronario. Evidencian una correlación positiva entre la actividad de IFN $\alpha$  tipo I con el GIM y con la gravedad de la calcificación coronaria, así como una correlación negativa con la dilatación mediada por flujo (Somers EC, 2012). Este mismo grupo en un modelo "in vitro", demuestra que, en los pacientes con LES, un aumento de IFN $\alpha$  induce la producción de interleucina-18 (IL-18) y esto se traduce en la disfunción de la célula progenitora endotelial (CPE), interfiriendo en su capacidad de diferenciación a CE madura y aumentando la apoptosis de las mismas, lo que potencialmente originaría el daño inicial del endotelio (Kahlenberg JM, 2011). Previamente, ya se habían descrito múltiples alteraciones funcionales en las CPE de los pacientes con LES, no todas explicadas por la acción del IFN $\alpha$  (Denny MF, 2007; Lee PY, 2007; Deng XL, 2010; Moonen JR, 2007; Ebner P, 2010; Grisar J, 2008).

En el último tiempo, distintas poblaciones celulares han sido implicadas en el daño vascular, de tal manera que, una alteración en el balance entre el daño y la reparación del endotelio originaría la lesión inicial que favorecerá posteriormente la cascada inflamatoria para la producción de la placa de ateroma. En el caso del LES, a la disfunción de las CPE anteriormente comentada, parece sumarse una disminución de su número como origen de esta alteración, aunque existe algo de controversia en la literatura a este respecto.

En 2001, se publica un estudio en el que se analizan las biopsias de médula ósea de 7 pacientes con LES objetivando un menor número de células madre CD34+, lo que sugiere que existe una alteración a nivel de la médula ósea de los pacientes con LES que impide una correcta proliferación celular a dicho nivel (Papadaki HA, 2001).

Posteriormente, Rajagopalan et al realizan el primer estudio “in vivo” sobre el papel de la apoptosis de las CE en el daño endotelial. Determinan, en 43 LES y 43 controles las células endoteliales apoptóticas circulantes (CAC), que definen como células CD146<sup>AnnV</sup>. Observan una mayor concentración plasmática de CAC en los pacientes con LES que en los controles y, además, encuentran una correlación negativa entre el número de dichas células y la dilatación mediada por flujo (Rajadopagan S, 2004).

Más tarde, Westerweel et al, publican un artículo en el que determinan el porcentaje de Células madre hematopoyéticas (CD34+) y Células progenitoras endoteliales circulantes (CPEC) (CD34+KDR+) en sangre periférica de LES y controles. Concluyen que los pacientes con LES presentan menor porcentaje de células madre hematopoyéticas y CPEC que los controles. Además, observan un aumento del índice tobillo-brazo en los pacientes con mayor número de CPEC (Westerweel PE, 2007).

Las células progenitoras endoteliales (CPE) son una subpoblación de células progenitoras hematopoyéticas CD34+ de la médula ósea, que coexpresan el receptor del factor de crecimiento del endotelio vascular y que, ante señales de daño vascular, migran a sangre periférica (pasando a ser CPEC), proliferan y se diferencian a células endoteliales maduras para llevar a cabo la reparación vascular (Peichev M, 2000). Estos trabajos iniciales hacen pensar que la génesis del daño endotelial en los pacientes con LES se basa en una disminución de las CPEC y, por tanto, de una reparación endotelial deficitaria, en la que intervendría una alteración a nivel de médula ósea y un incremento de la apoptosis en sangre periférica.

No obstante, estudios posteriores no obtienen resultados similares. Varían entre las publicaciones que no encuentran diferencias significativas entre el porcentaje

de CPEC de LES y controles (Grisar J, 2008; Deng XL, 2010), las que evidencian un porcentaje menor de CPEC en los LES (Lee, 2007; Moonen JR, 2007; Ebner P, 2010) y las que presentan un número mayor de CPEC que los controles (Rodríguez-Carrio J, 2012). En ninguna de estas publicaciones se determina el valor de las CAC.

Un trabajo que ha intentado comparar el número de CPE en pacientes con LES con y sin arterioesclerosis subclínica (definida como calcificación coronaria), no ha conseguido observar diferencias significativas, probablemente por el escaso número de pacientes que incluían (Baker JF, 2012).

Es importante destacar que los métodos con los que se realiza el recuento de las diversas poblaciones celulares son distintos en cada uno de los trabajos, así como los marcadores que definen el estadio madurativo celular.

Podemos concluir que tanto las CAC como las CPE y el IFN $\alpha$  pueden ser considerados como biomarcadores de daño endotelial y, por tanto, de arterioesclerosis subclínica. Y, aunque se ha demostrado “in vitro” que existe una disfunción a nivel de la CPE, en el que la IL-18 y el IFN $\alpha$  intervienen como mediadores, los datos respecto a la cuantía de dichas células no son concordantes y no está completamente explicado el mecanismo por el que se producen todas las alteraciones funcionales de la CPE.

Las estatinas o inhibidores de la 3hidroxi-3metil-glutaril Coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa) son los fármacos de elección en el tratamiento de la hipercolesterolemia tanto en estrategias de prevención primaria como secundaria, pero además, se les ha comenzado a atribuir otros efectos beneficiosos independientes del descenso de los lípidos. Son los llamados efectos “pleiotrópicos” de las estatinas que

las convierten potencialmente en un fármaco útil para el tratamiento de los pacientes con LES.

Actúan a nivel hepático uniéndose de forma competitiva a la HMG-CoA reductasa, encargada de la conversión de la 3hidroxi-3metil-glutaril Coenzima A a mevalonato, interrumpiendo así la cadena de síntesis de colesterol endógeno. El descenso de colesterol a nivel intrahepático estimula la expresión del receptor LDL a nivel periférico, disminuyendo el transporte de colesterol por estas partículas, la producción de VLDL-colesterol y, de forma secundaria, la producción de triglicéridos (Maron DJ, 2000). Además, el mevalonato está implicado en la síntesis de proteínas de señal de la membrana celular que alteran su función. Estos cambios son los responsables fundamentales de los efectos pleiotrópicos (Meroni PL, 2002).

Se pueden clasificar en hidrofílicas (Pravastatina y Rosuvastatina) y lipofílicas (Simvastatina, Atorvastatina, Fluvastatina, Lovastatina y Pitavastatina). Las hidrofílicas, se caracterizan por una mayor selección hepática, menor paso a través de la barrera hematoencefálica y a otros tejidos. Por el contrario, las estatinas lipofílicas presentan mayor penetrancia a nivel hepático, sistema nervioso central y endotelio, lo que explica la existencia de un mayor porcentaje de efectos adversos con su empleo, pero también mayores efectos pleiotrópicos (Rosenson RS, 2004).

En cuanto a su potencia en el descenso del LDL-colesterol, la Rosuvastatina es superior a la Atorvastatina y Pitavastatina, siendo ambas superiores a Simvastatina, Lovastatina y Pravastatina. La Fluvastatina es la de menor potencia.

Ambos grupos, hidrofílicas y lipofílicas, conforman una terapia con una elevada seguridad y tolerabilidad. Las reacciones adversas más frecuentes son la afectación muscular en forma de mialgias (entre un 2 y un 11% de los pacientes) acompañada o no de rabdomiolisis (0.1% de los pacientes) y la afectación hepática en forma de



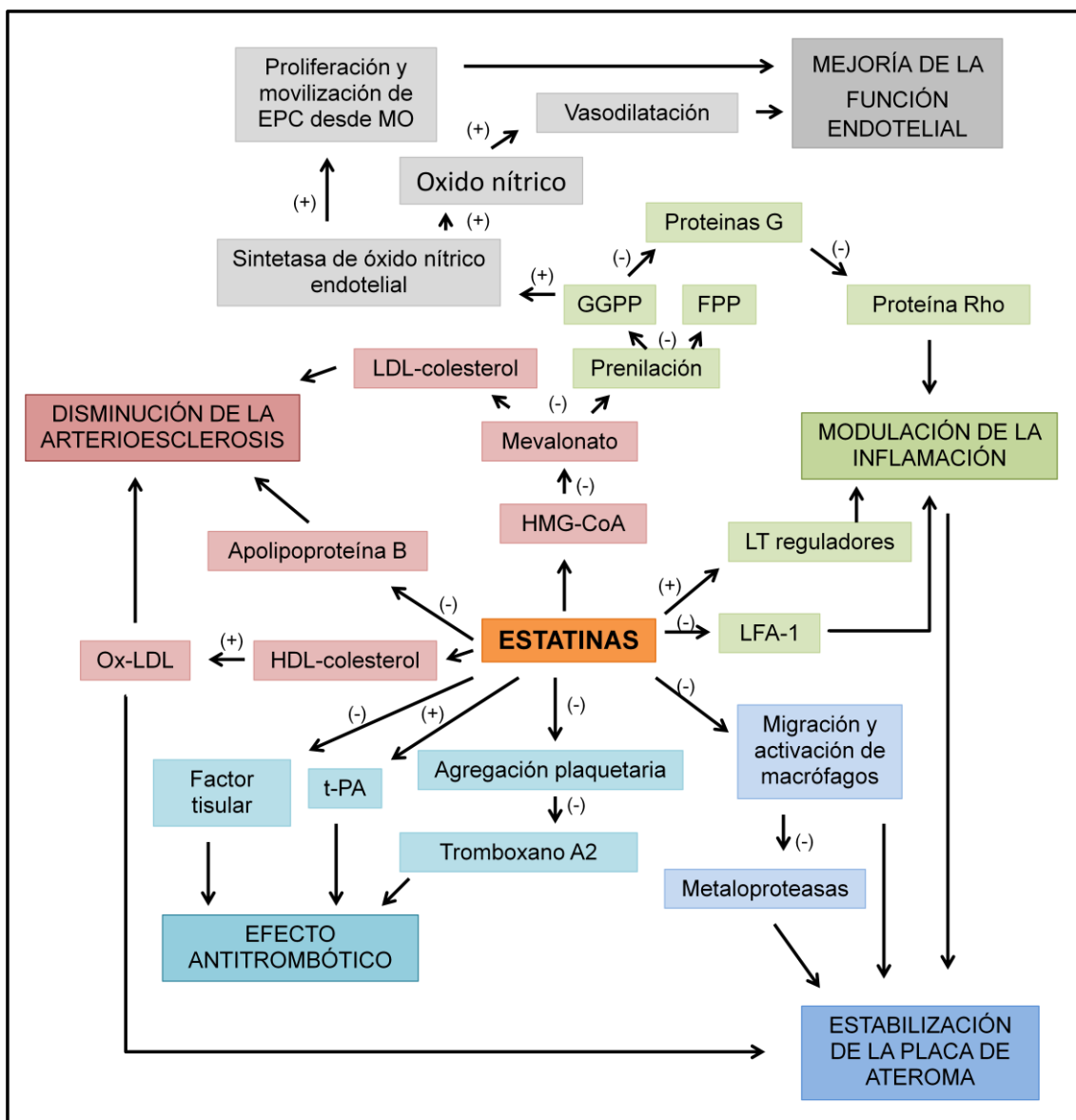
elevación asintomática de las transaminasas (en aproximadamente un 1% de los pacientes ocurre por encima de tres veces el límite superior de la normalidad) (Kashini A, 2006). Con una incidencia claramente menor se han descrito casos de lupus inducido por estatinas, proteinuria sin fallo renal asociado y un leve incremento de los casos de DM. Existe mucha controversia en la posibilidad de que puedan producir deterioro cognitivo, neuropatía periférica o cataratas (Muldoon MF, 2000; Grundy SM, 2005; Kho KK, 2010).

Importantes estudios demostraron el papel de las estatinas en prevención primaria. El Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS), que valoraba el papel de la Pravastatina frente a placebo, muestra una disminución del riesgo de IAM no fatal y muerte por enfermedad coronaria del 31% y una reducción del riesgo de muerte por cualquier causa cardiovascular del 32% (Shepherd J, 1995). En el estudio Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study (AFCAPS/TexCAPS) de prevención primaria con Lovastatina se incluyen mujeres postmenopáusicas en el análisis, obteniendo resultados similares al estudio previo (Downs JR, 1998).

Un subanálisis posterior del estudio WOSCOPS evidencia que la reducción del LDL-colesterol no explica completamente la reducción del riesgo obtenido. Se estima que el beneficio obtenido por la Pravastatina es, aproximadamente, un 31% superior al que presentarían los pacientes con un LDL-colesterol similar sin la toma de estatinas (WOSCOPS Study Group, 1998). Una conclusión semejante obtienen en el Anglo Scandinavian Cardiac Outcomes Trial – Lipid Lowering Atorvastatin (ASCOT-LLA), en el que se observa una reducción de eventos cerebrovasculares en pacientes que toman Atorvastatina incluyendo aquellos que partían de unas cifras de LDL-colesterol normales (Sever PS, 2003).

Por tanto, las estatinas poseen mecanismos no hipolipemiantes mediante los que se produce un beneficio a nivel cardiovascular (Figura 1). Múltiples estudios en población general han analizado estos mecanismos:

Figura 1. Diagrama de los diferentes mecanismos de acción de las estatinas.



(\*): Incrementa. (-): Reduce. HMG-CoA: 3hidroxi-3metil-glutaril Coenzima A reductasa. GGPP: Geranil geranil pirofosfato. FPP: Farnesilpirofosfato. LFA-1: Antígeno de función linfocitaria. LT reguladores: Linfocitos T reguladores. t-PA: Activador del plasminógeno tisular.

- Contribuyen a la estabilización de la placa de ateroma aumentando la fibrosis de la misma tras aproximadamente doce meses de tratamiento. Este cambio se produce mediante la inhibición de la proliferación macrofágica, que disminuye la expresión de metaloproteasas y factor tisular e incrementa el inhibidor de la metaloproteasa 1 (Crisby M, 2001; Davignon J, 2004).
- Producen regresión de la ateromatosis, evaluada angiográfica y ecográficamente, no sólo explicadas por la disminución del LDL-colesterol (Ballantyne CM, 1997; Yamazaki T, 2013).
- Inhiben la agregación plaquetaria y el Factor tisular, además de incrementar el Activador del plasminógeno tisular, lo que se traduce en un efecto antitrombótico (Meroni PL, 2002).
- Modulan la respuesta inflamatoria. Reducen los niveles de PCR de forma dosis dependiente (Ridker PM, 2001; Shing U, 2008). Aumentan los LT reguladores, existiendo además una correlación entre dicho aumento y un incremento de sus propiedades inhibitorias (Hu Z, 2007; Mausner-Fainberg K, 2008) Alteran la función de las células presentadoras de antígeno mediante la inhibición de la producción de mediadores inflamatorios, disminuyen la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (CMH-II) y de moléculas de adhesión (Greenwood J, 2006; Tristano AG, 2006; Ghittoni, 2006; Zhang X, 2008; Amuro H, 2010).
- Actúan sobre las células endoteliales. En trabajos in vitro se ha demostrado que las estatinas aumentan la proliferación y la movilización desde la médula ósea que se traduce en un incremento de CPE en sangre periférica (Dimmeler S, 2001; Llevadot J, 2001; Steinnetz M, 2013), producen un incremento de su capacidad migratoria y de adhesión (Walter DH, 2002), además de reducir la

apoptosis de las mismas (Kureishi Y, 2000; Llevadot J, 2001). En pacientes con enfermedad coronaria estable el tratamiento con Atorvastatina produce un incremento significativo de las CPE, estimula su funcionalidad (Vasa M, 2001) y disminuye el número de CAC (Schmidt-Lucke, 2010). De esta manera, las estatinas pueden contribuir a la neovascularización de tejidos isquémicos (Kureishi Y, 2000; Llevadot J, 2001) y favorecen el proceso de reendotelización (Walter DH, 2002).

- Reducen el estrés oxidativo. Aumentan la expresión de la óxido nítrico sintetasa endotelial, estimulando la producción de NO. Además, aumentan la capacidad antioxidante del HDL, que se traduce en una reducción del ox-LDL y, de forma secundaria, reduce la inhibición de NO producida por la Dimethylarginina (importante inhibidor de la NO-sintetasa). El aumento del NO se traduce en una mejora de la función endotelial y la reducción del ox-LDL limita el proceso de formación de la placa de ateroma (Singh U, 2008; Sozer V, 2013).

Tras el conocimiento de todos estos efectos de las estatinas sobre la arterioesclerosis a distintos niveles y su papel inmunomodulador, en los últimos años se ha comenzado a estudiar el papel de las estatinas en los pacientes con LES con resultados algo contradictorios. Es necesario aclarar el papel de éste fármaco que de forma teórica parece tan atractivo para incorporar al arsenal terapéutico del LES.

## *Objetivos*

Los pacientes con LES presentan una prevalencia superior a la de la población general de daño vascular y arterioesclerosis tanto clínica como subclínica, con presentación a edades más tempranas. Durante largo tiempo se han analizado los factores que expliquen este aumento de frecuencia de arterioesclerosis, encontrándose un mayor número de factores de riesgo cardiovascular clásicos y parámetros de la propia enfermedad que influyen en su aparición, incluidos marcadores inflamatorios. A ello se suma la existencia de una alteración en el balance entre reparación y daño a nivel endotelial.

Las estatinas, además de su efecto hipolipemiante, poseen una serie de acciones conocidas como “pleiotrópicas” entre las que destacan un efecto inmunomodulador y de reparación del endotelio vascular. Por este motivo, son fármacos que podrían tener un papel relevante en el tratamiento del LES debido a que actuarían a dos niveles claves: la restauración de la función endotelial con la consecuente prevención de la patología cardiovascular precoz y el control de la actividad de la enfermedad.

Los objetivos generales de este trabajo de investigación son:

- Objetivo principal: evaluar el efecto del tratamiento con Atorvastatina 20mg durante ocho semanas sobre marcadores de arterioesclerosis subclínica (rigidez arterial medida por velocidad onda de pulso, cuantificación de células progenitoras endoteliales circulantes, células apoptóticas endoteliales y

proteínas solubles) en pacientes con LES y la evolución de los mismos tras seis meses de suspensión del tratamiento.

- Objetivo secundario:

Valorar el efecto del tratamiento con Atorvastatina y su retirada, en pacientes con LES, sobre los factores de riesgo cardiovascular clásicos, marcadores inflamatorios y factores relacionados con el propio LES.

## *Material y métodos*



## **1. Pacientes:**

En el estudio se incluyeron 39 mujeres con diagnóstico de LES, que realizaban seguimiento en la Unidad de Enfermedades Autoinmunes del Servicio de Medicina Interna y en el Servicio de Reumatología del Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda.

Cumplían, al menos, cuatro criterios del American College of Rheumatology (ACR) para el diagnóstico de LES (Tabla 1). Todas ellas presentaban estabilidad clínica en el momento de la inclusión en el estudio y se preveía que continuaran estables durante todo el seguimiento.

Se excluyeron aquellas pacientes que hubiesen tomado estatinas en algún momento de la evolución de la enfermedad, aquellas que presentasen antecedentes de enfermedad cardiovascular previa a nivel coronario (infarto agudo de miocardio o angina), cerebral (ictus o accidente isquémico transitorio) o arteriopatía periférica, así como aquellas pacientes que tuviesen deseo de quedarse embarazadas a corto o medio plazo.

Todas las pacientes firmaron un Consentimiento Informado que había sido aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda.

Tabla 1. Criterios ACR para el diagnóstico de LES.

<b>Criterio</b>	<b>Definición</b>
Eritema malar	Eritema fijo, plano o elevado, sobre las eminencias malares, tendiendo a expandirse a los pliegues nasolabiales.
Eritema discoide	Placas elevadas eritematosas con descamación queratósica adherente y taponamiento folicular. Pueden quedar cicatrices atróficas en lesiones antiguas.
Fotosensibilidad	Eritema en la piel como resultado de una reacción inusual a la luz solar.
Úlceras orales	Ulceración oral o nasofaríngea, normalmente sin dolor, observada por un especialista.
Artritis	Artritis no erosiva afectando a 2 ó más articulaciones periféricas, caracterizadas por dolor, tumefacción o derrame.
Serositis	a) pleuritis: historia convincente de dolor pleurítico o roce oído por un especialista, o evidencia de derrame pleural. b) pericarditis: documentada por electrocardiograma, roce o evidencia de derrame pericárdico.
Alteración renal	a) proteinuria persistente > 0,5gr/24h o > de 3 cruces si no se cuantifica. b) cilindros celulares: eritrocitarios. Pueden ser granulares, tubulares o mixtos.
Alteración neurológica	a) convulsiones. b) psicosis. Ambos en ausencia de fármacos o alteraciones metabólicas conocidas como uremia, cetoacidosis o alteraciones de electrolitos.
Alteración hematológica	a) anemia hemolítica con reticulocitosis. b) leucopenia < 4.000/ml en 2 ó más ocasiones. c) linfopenia < 1.500/ml en 2 ó más ocasiones. d) trombopenia < 100.000/ml en ausencia de fármacos.
Alteración inmunológica	a) célula LE positiva. b) anticuerpos anti-ADN nativo con un título anormal. c) anticuerpos contra el antígeno nuclear Sm. d) test falso positivo para sífilis, siendo positivo durante al menos seis meses y confirmado por inmovilización de treponema pallidum o test de absorción con anticuerpo treponémico fluorescente.
Anticuerpos antinucleares	Título anormal de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia o una técnica equivalente, en cualquier momento y en ausencia de fármacos asociados a "lupus inducido por fármacos".

## 2. Protocolo y diseño:

Se trata de un estudio prospectivo realizado entre Marzo de 2011 y Diciembre de 2013.

Las 39 pacientes fueron reclutadas durante las visitas rutinarias a la consulta para seguimiento de su enfermedad. Durante 8 semanas, recibieron 20mg de Atorvastatina y se les realizó una visita basal (semana 0), una visita fin de tratamiento (semana 8) y una visita tras un periodo de 6 meses después de la suspensión del tratamiento (semana 32). Además, para asegurar la adherencia al tratamiento y control de posibles efectos adversos se les realizó un control telefónico en la semana 4.

Veinticinco de las pacientes procedían de un estudio preliminar realizado por nuestro grupo (Sollet A, 2012) en el que las pacientes tomaron Atorvastatina durante 8 semanas y se realizaron las visitas en la semana 0 y 8, así como el control telefónico en la semana 4. Posteriormente, continuaron el protocolo de la misma forma que las 13 pacientes restantes.

En cada una de las visitas, a todas las pacientes se les realizó una historia clínica y exploración física, que incluía peso, talla, perímetro abdominal y toma de tensión arterial (TA). Para el cálculo de la TA se realizaron tres tomas en reposo obteniéndose posteriormente la media de las tres, y con el peso y la talla se calculó el índice de masa corporal (IMC).

Así mismo, en todas las visitas se realizó una extracción sanguínea (tras, al menos, ocho horas de ayuno) y una medida de la arterioesclerosis subclínica mediante técnicas no invasivas. Las pacientes aportaron una muestra de la primera orina de la mañana. Con la analítica sanguínea se obtuvieron parámetros bioquímicos,

inmunológicos, factores asociados con la actividad de la enfermedad y marcadores biológicos.

De forma retrospectiva, se obtuvo información demográfica y de la evolución de la enfermedad mediante la revisión de las historias clínicas de las pacientes.

Se diseñó una base de datos para el posterior análisis estadístico.

## **2.1. Factores de riesgo cardiovascular clásicos.**

Durante la realización de la historia clínica se les interrogó sobre su hábito tabáquico. Las pacientes se clasificaron como fumadoras o no fumadoras, incluyendo en este último grupo aquellas pacientes que hubieran dejado de fumar hacía más de seis meses. Se les interrogó también sobre su estado menopáusico, así como sobre la presencia de antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular precoz (considerándose enfermedad cardiovascular precoz la de aquellos familiares de primer grado que hubieran presentado un IAM o un ictus isquémico a una edad inferior a 55 años en los hombres y 65 años en las mujeres).

Se consideró HTA, cuando la tensión arterial sistólica (TAS) era igual o superior a 140 mm Hg y/o la tensión arterial diastólica (TAD) igual o superior a 90 mm Hg, o cuando el paciente estuviera en tratamiento con fármacos antihipertensivos.

Entre los parámetros analizados en la muestra de sangre se incluía la determinación de glucosa (valores normales en nuestro laboratorio: 60-100 mg/dl), hemoglobina glicada (4,5-6,3%), colesterol total (150-200 mg/dl), LDL-colesterol (70-160 mg/dl), colesterol de alta densidad (HDL-colesterol) (45-90 mg/dl), triglicéridos (30-200 mg/dl), ácido úrico (2,5-6 mg/dl), creatinina (0,5-0,9 mg/dl), LDH (230-460 mg/dl),

proteínas totales (6-8 mg/dl), albúmina (3,5-5 mg/dl), urea (0,5-0,9 mg/dl), filtrado glomerular (calculado mediante la ecuación de MDRD-4) y el cociente microalbuminuria/creatinina (<30 mg/g).

Se consideró DM si el paciente presentaba niveles de glucemia basal iguales o superiores a 126 mg/dl o si se encontraba en tratamiento con antidiabéticos orales o insulina, y glucemia alterada en ayunas si presentaba cifras de glucosa basal entre 100 y 125 mg/dl.

Hipercolesterolemia se definió como cifras de colesterol total iguales o superiores a 190 mg/dl o LDL-colesterol igual o superior a 115mg/dl, así como la toma de fármacos hipolipemiantes.

Hipertrigliceridemia se consideró en aquellos pacientes con unos triglicéridos iguales o mayores a 150mg/dl o toma de fármacos hipolipemiantes.

Se evaluó en cada paciente la presencia de síndrome metabólico, empleando los criterios del Adult Treatment Panel III modificados por la American Heart Association (Grundy SM, 2005). En ellos, se considera síndrome metabólico la presencia de tres o más de los siguientes criterios:

- Perímetro abdominal mayor o igual a 102 cm en hombres y 88 cm en mujeres.
- Cifra de triglicéridos mayor o igual a 150 mg/dl o toma de fármacos que los reduzcan.
- HDL-colesterol menor de 40 mg/dl en hombres y menor de 50 mg/dl en mujeres o toma de fármacos que puedan elevarlos.

- Cifra de TAS superior o igual a 130 mm Hg o TAD superior o igual a 85 mm Hg o toma de fármacos hipotensores en un paciente con HTA conocida.
- Cifra de glucosa basal mayor o igual a 100 mg/dl o toma de tratamiento antidiabético.

Se calculó el riesgo de enfermedad cardiovascular mortal a 10 años mediante la edad, sexo, hábito tabáquico, presión arterial y los niveles de colesterol total en sangre. Para el cálculo se utilizó la aplicación disponible en la página Web: <http://www.heartscore.org/es/>.

## **2.2. Factores relacionados con el LES.**

De la revisión de las historias clínicas se obtuvo la edad al diagnóstico y el tiempo de evolución de la enfermedad. También el tipo de afectación, con la que se clasificó a las pacientes en tres grupos: afectación cutánea, visceral (que incluye la afectación articular) y mixta (cutánea y visceral).

En cada una de las visitas se calculó el índice de actividad de la enfermedad y de daño orgánico acumulado. Para el primero se empleó la modificación del Systemic lupus activity index (SLEDAI) realizada por el SELENA group, SELENA-SLEDAI (Tabla 2) (Petri M, 2005) y se consideró lupus inactivo un SELENA-SLEDAI igual o inferior a 4 puntos. Para el cálculo del daño acumulado se empleó el Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ American Collage of Rheumatology Damage Index (SLICC/ACR) (Tabla 3) (Gladman D, 1996), que evalúa el daño en relación a la propia enfermedad, el tratamiento de la misma y las enfermedades intercurrentes, incluida la arterioesclerosis.

Tabla 2. Formulario del índice de actividad del LES, SELENA-SLEDAI.

Valor	Descriptor	Definición
8	Crisis	Episodio reciente (en los últimos 10 días). Excluir las de causa metabólica, infecciosa o secundaria a fármacos, o las motivadas por un daño irreversible del sistema nervioso central.
8	Psicosis	Capacidad alterada para realizar una actividad normal causada por una alteración grave en la percepción de la realidad. Incluye alucinaciones; incoherencia; pérdida marcada de asociación; pensamiento empobrecido o ilógico; conducta desorganizada o catatónica. Excluir uremia o inducción por fármacos.
8	Síndrome orgánico cerebral	Función mental alterada con disminución en la orientación, memoria u otras funciones intelectuales, de rápida aparición y características fluctuantes. Incluye aturdimiento de la conciencia con capacidad reducida para la concentración e incapacidad para mantener la atención, más al menos dos de las siguientes características: alteración de la percepción, discurso incoherente, insomnio o somnolencia diurna, actividad psicomotora aumentada o disminuida. Excluir causas metabólicas, infecciosas o inducidas por fármacos.
8	Alteración visual	Cambios retinianos y del ojo secundarios a LES. Incluye cuerpos citoides, hemorragias retinianas, exudado seroso o hemorragias en la coroides, neuritis óptica, escleritis o epiescleritis. Excluir hipertensión, infección o inducción por fármacos.
8	Alteración de un nervio craneal	Nueva aparición de neuropatía sensorial o motora, implicando a los pares craneales. Incluir vértigo secundario a LES.
8	Cefalea lúpica	Dolor de cabeza grave y persistente: puede ser migrañoso, pero no debe responder a analgesia narcótica.
8	ACV	Nuevo accidente cerebrovascular. Excluir origen arterioesclerótico o hipertensivo.
8	Vasculitis	Ulceración, gangrena, nódulos dolorosos en los dedos, infarto periungueal, hemorragias en astilla o biopsia o angiograma con vasculitis probada.
4	Artritis	Más de dos articulaciones con dolor y signos de inflamación (tumefacción o derrame).
4	Miositis	Dolor/debilidad muscular proximal, asociado a elevación de CPK/aldolasa o cambios electromiográficos o una biopsia demostrando miositis.
4	Cilindros urinarios	Cilindros celulares hemo-granulares o eritrocitarios.

4	Hematuria	>5 hematíes/campo. Excluir cálculos, infección u otras causas.
4	Proteinuria	De nueva aparición o incremento de más de 0,5 gramos/24 horas.
4	Piuria	> 5 leucocitos/campo. Excluir infección.
2	Eritema	Eritema inflamatorio en curso.
2	Alopecia	Perdida de pelo parcheada o difusa secundaria a LES activo, en curso.
2	Úlceras mucosas	Úlceras orales o nasales secundarias a LES activo en curso.
2	Pleuritis	Dolor torácico pleurítico clásico, roce, derrame o engrosamiento pleural secundario a LES.
2	Pericarditis	Dolor pericárdico clásico, roce o derrame o confirmación electrocardiográfica.
2	Complemento bajo	Descenso en CH50, C3 o C4 por debajo del límite inferior normal según el laboratorio.
2	Incremento de unión de DNA	> 25% de unión por el ensayo de Farr, o por encima del rango normal según el laboratorio.
1	Fiebre	> 38°C. Excluir causa infecciosa.
1	Trombopenia	< 100.000 plaquetas/mm <sup>3</sup> .
1	Leucopenia	< 3.000 leucocitos/ mm <sup>3</sup> . Excluir secundaria a fármacos.



Tabla 3. Formulario del índice de daño del LES, SLICC/ACR.

Órgano afectado	Descripción	Valor
<b>Ocular</b>	Cataratas en algún momento en cualquier ojo (documentada por oftalmoscopio).	1
	Cambios en la retina o atrofia óptica (documentados por oftalmoscopio).	1
<b>Neuropsiquiátrico</b>	Déficit cognitivo (déficit de memoria, dificultad para el cálculo, concentración disminuida, dificultad para hablar o escribir) o psicosis mayor.	1
	Convulsiones necesitando tratamiento al menos 6 meses.	1
	Accidente cerebrovascular (puntuación de 2 si >1) o resección quirúrgica por causa no maligna.	1 (2)
	Neuropatía craneal o periférica (excluyendo óptica).	1
	Mielitis transversa.	1
<b>Renal</b>	Filtrado glomerular estimado o medido < 50%.	1
	Proteinuria $\geq 3,5$ g/24h.	1
	Enfermedad renal terminal (independientemente de diálisis o trasplante renal).	3
<b>Pulmonar</b>	Hipertensión pulmonar.	1
	Fibrosis pulmonar (examen físico o radiológico).	1
	Pérdida de volumen pulmonar (radiológico).	1
	Fibrosis pleural (radiológico).	1
	Infarto pulmonar (radiológico) o resección quirúrgica por causa no maligna.	1
<b>Cardiovascular</b>	Angina o bypass coronario.	1
	Infarto de miocardio (puntuación de 2 si >1).	1 (2)
	Miocardopatía con disfunción ventricular.	1
	Valvulopatías (soplo diastólico o sistólico >3/6).	1
	Pericarditis con tratamiento > 6 meses o pericardiectomía.	1
<b>Vascular periférico</b>	Claudicación > 6 meses.	1
	Pérdida de tejido menor (ulceración de pulpa de los dedos) por mala circulación periférica.	1
	Pérdida de tejido significativa (pérdida de dedos) por mala circulación periférica (puntuación de 2 si >1 sitio).	1 (2)
	Trombosis venosa con ulceración, inflamación o estasis venoso.	1
<b>Gastro-intestinal</b>	Infarto o resección de parte del intestino, bazo, hígado o vesícula por cualquier causa (puntuación de 2 si >1 sitio).	1 (2)

	Angina mesentérica.	1
	Peritonitis crónica.	1
	Estenosis esofágica o cirugía del tracto gastrointestinal superior.	1
	Insuficiencia pancreática que precise sustitución enzimática.	1
<b>Musculo-esquelético</b>	Debilidad o atrofia muscular.	1
	Artritis erosiva o deformante (incluye deformidades reversibles).	1
	Osteoporosis con fractura o colapso vertebral.	1
	Necrosis avascular (diagnosticada por técnica de imagen) (puntuación de 2 si >1).	1 (2)
	Osteomielitis.	1
	Rotura tendinosa.	1
<b>Piel</b>	Alopecia crónica cicatricial.	1
	Cicatrices extensas o paniculitis distintas al cuero cabelludo o pulpejos.	1
	Ulceración de la piel (excluyendo trombosis) por más de 6 meses.	1
<b>Fallo gonadal prematuro</b>	Amenorrea secundaria antes de los 40 años.	1
<b>Diabetes mellitus</b>	Independientemente del tratamiento.	1
<b>Cáncer</b>	Excluyendo displasia (puntuación de 2 si >1 sitio).	1 (2)

Además, se recogió el tratamiento con el que se encontraban las pacientes en cada una de las visitas, tanto el específico del LES como toda la medicación concomitante para otras patologías. Se consideró tratamiento inmunosupresor cualquiera de los siguientes fármacos: corticoides, azatioprina, ciclosporina, ciclofosfamida, metotrexato y micofenolato de mofetilo.

Los parámetros analíticos relacionados con la enfermedad, y el rango de normalidad de los mismos, incluían un hemograma: leucocitos (4-11,5 x10E3/microL), linfocitos (1,2-4 x10E3/microL), neutrófilos (1,5-7,5 x10E3/microL), monocitos (0,2-1 x10E3/microL), eosinófilos (0-0,4 x10E3/microL), basófilos (0-0,2 x10E3/microL),

plaquetas (150-400 x10E3/microL), hemoglobina (12-16 g/dl), VCM (82-97 fL); una coagulación: actividad protrombina (70-120%), TTPA (29,2-39 seg); velocidad de sedimentación globular (0-25 mm); y pruebas inmunológicas: anticuerpos antinucleares (inmunofluorescencia; ANA, positivo si >1/40) y su patrón, anticuerpos anti-DNA (ELISA, positivo si > 15 U/ml)), niveles de C3 (90-180 mg/dl), C4 (10-40 mg/dl), anticuerpos anti-ENA (ELISA) y su especificidad, anticoagulante lúpico (veneno de víbora de Russell; ratio confirmatorio 0-1,12), anticuerpos anticardiolipina (ELISA; IgM, IgG; positivo si >18 U/ml) y anticuerpos anti-β<sub>2</sub>glicoproteína 1 (ELISA; IgM, IgG; positivo si >18 U/ml).

También se analizó el sedimento urinario y se realizó un cociente microalbuminuria-cratinina (30-299 mg/g).

Se determinaron los siguientes marcadores inflamatorios: homocisteína (nefelometría; 4,6-12,5 μmol/L), proteína C reactiva ultrasensible (PCRus) (inmunoturbimetría; 0,1-10 mg/L), dímero D (inmunoturbimetría; 0,1-0,5 μg/L) y fibrinógeno (método derivativo; 150-450 mg/dl).

### **3. Evaluación de la arterioesclerosis subclínica. Medida de la elasticidad mediante velocidad de onda de pulso (VOP):**

La medida de la VOP aórtica o en el segmento carótido-femoral (desde la carótida común en región supraclavicular a la arteria femoral en el pliegue inguinal) es aceptada de forma general como el método más simple, no invasivo y reproducible para determinar la elasticidad arterial.

Para la determinación de la VOP en las pacientes del estudio, se intentaron reproducir una serie de condiciones que garantizan una correcta realización de la técnica, como son el mantener una temperatura ambiente a  $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$  y no hablar durante el procedimiento. Las pacientes no debían haber fumado ni comido al menos durante las 3 horas previas al procedimiento y no debían haber consumido alcohol las últimas 10 horas.

Se dispuso de un prototipo de Software de análisis morfo-temporal (Jiménez C, 2003) para análisis de onda con Velocimetría Doppler, que nos permite conocer el tiempo de llegada en cualquier punto arterial del pie de la onda de velocidad Doppler a partir de la onda R del electrocardiograma (EKG). De este modo se calcula la diferencia que tarda la onda de presión en recorrer el segmento arterial comprendido entre los puntos carotídeo y femoral determinados, mediante la resta de ambos tiempos. Los valores se promediaron de 15 señales consecutivas en cada toma.

La distancia entre los puntos de muestreo carotídeo y femoral se determina mediante cinta métrica desde el manubrio esternal hasta la cicatriz umbilical, sumándole la distancia entre este último punto y el punto de determinación de la señal en la femoral a nivel del pliegue inguinal.

Una vez calculada la diferencia de tiempo de tránsito de la onda de pulso entre carótida común y arteria femoral, y conocida la distancia entre dichos puntos, la VOP se calcula dividiendo el espacio recorrido en centímetros por el tiempo de tránsito en milisegundos. El valor de la VOP se expresa en metros por segundo.

## **4. Estudio y cuantificación de células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales.**

### **4.1. Obtención de las muestras:**

De cada paciente se extrajeron 20 ml de sangre venosa en tubos Venoject con 150 U de heparina de litio (Terumo Europe N.V.) de la que se obtuvieron las células mononucleares y 10 ml en tubos Vacuette sin anticoagulante (Greiner bio-one GmbH) para la obtención de suero. El procesamiento de las muestras se realizó en las tres horas posteriores a su extracción.

#### Obtención de las células mononucleares de sangre periférica (CMSP):

La muestra extraída con heparina, se diluyó al 50% con suero salino fisiológico (B. Braun Medical SA) y se aislaron las CMSP (linfocitos, monocitos y células NK) mediante centrifugación (400g, 30 minutos a temperatura ambiente) en un gradiente de densidad sobre Ficoll-Hypaque (Lymphoprep TM, Axis Shield PoC AS) (Böyum AJ, 1968). Se recogió la fase conteniendo las CMSP y se lavó dos veces con suero salino. La concentración celular se valoró mediante recuento con un microscopio óptico utilizando una cámara de Neubauer.

#### Obtención del suero:

Las muestras de sangre periférica extraídas sin anticoagulante se centrifugaron (800g, 10 minutos a temperatura ambiente), se recogió el suero en varias alícuotas y se conservó a -80°C hasta su posterior utilización.

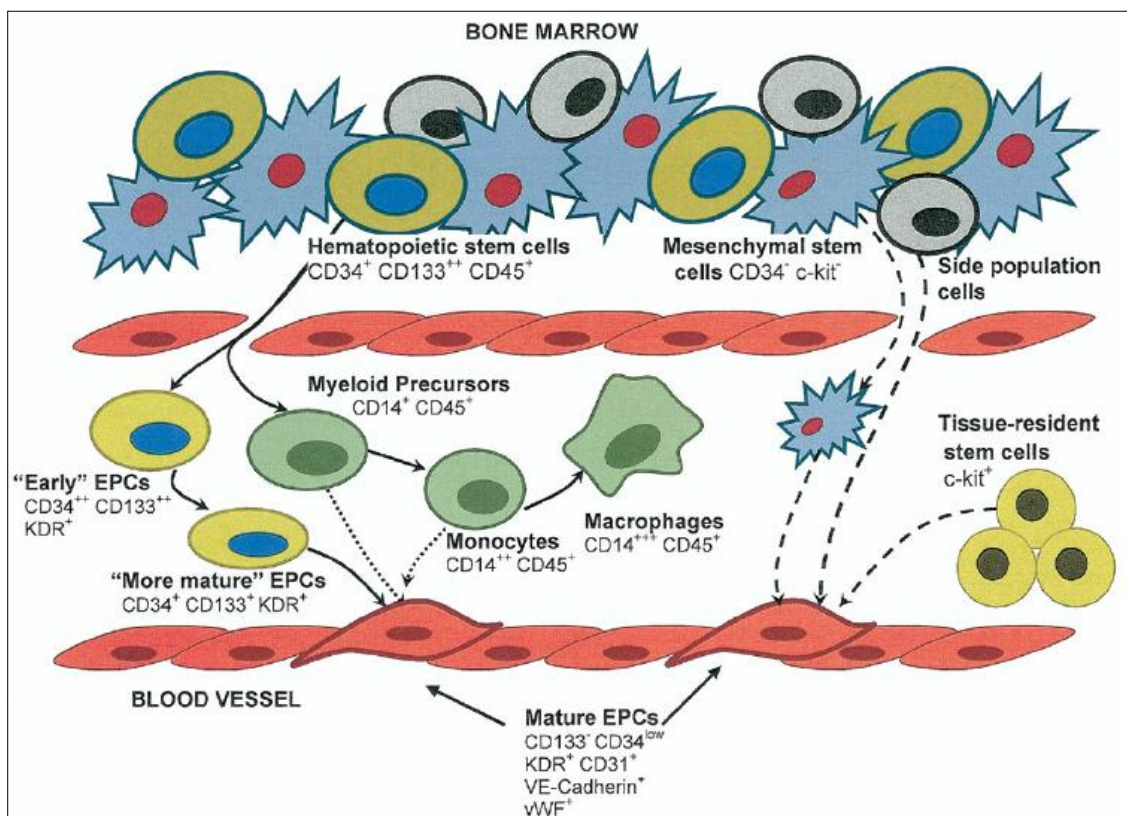
#### **4.2. Determinación de células endoteliales circulantes: estudio de la subpoblación de células apoptóticas:**

La identificación de las CE se realizó mediante inmunofluorescencia directa y análisis por citometría de flujo de la expresión diferencial de moléculas específicas en la superficie celular. Para ello las CMSP obtenidas de cada paciente se resuspendieron en PBS/EDTA (PBS/0,5% BSA-2mM EDTA) a una concentración de  $1 \times 10^6$  células/ml y se incubaron con el anticuerpo anti-CD146 (P1H12) conjugado con ficoeritrina (PE) (BD Pharmingen). Este marcador permite identificar específicamente las CE y es especialmente útil cuando se usa en combinación con otros anticuerpos monoclonales, como anti-CD45/anti-CD3 conjugados con alofocianina (APC), para excluir la subpoblación de linfocitos T activados que expresan CD146 en la superficie celular (Elshal M, 2009). Simultáneamente, se realizó un marcaje con los correspondientes controles isotipo que determinan las uniones inespecíficas de los anticuerpos. Tras un lavado con PBS/EDTA, se valoró la apoptosis incubando las células con Anexina V conjugada con isotiocianato de fluoresceína (FITC) (BD Pharmingen) en presencia del buffer de unión rico en  $\text{Ca}^{+2}$  y 7- aminoactinomicina D (7-AAD) para excluir las células necróticas. El análisis de los datos se llevó a cabo con un citómetro FACScalibur y con el software FACSDiva (BD Bioscience). Se consideraron células endoteliales apoptóticas las dobles positivas para el marcaje realizado (CD146+AnexinaV+) en la región de células con marcaje negativo para CD45/CD3 y 7-AAD. Los resultados se expresaron como porcentajes en base al conteo de CMSP.

### 4.3. Determinación de las células progenitoras endoteliales circulantes:

Las CPE se han definido como una subpoblación celular que coexpresan los marcadores CD34, CD309 (VEGFR-2/KDR en humanos) y CD133. El marcador CD34 lo expresan todas las células progenitoras hematopoyéticas. La expresión del antígeno CD133 parece estar restringida a las CPE más tempranas y se pierde durante el proceso de maduración a células endoteliales. El análisis diferencial de la expresión de estos marcadores permite identificar el estado de maduración de las CPE. La frecuencia de células CD34+ que coexpresan KDR y CD133 en la sangre periférica de un individuo sano es tan sólo alrededor del 0,4% del total de la población CD34+ (0,002% del total de las CMSP) (Peichev M, 2000).

Figura 2. Origen y diferenciación de las células progenitoras endoteliales (Shantsila E, 2007).





La cuantificación de esta subpoblación celular tan escasa en sangre periférica se realizó usando una nueva herramienta específicamente diseñada que permite enriquecer la muestra en precursores CD34+ por un sistema de selección inmunomagnética (EPC Enrichment and Enumeration Kit, Miltenyi Biotec). Posteriormente, la fracción enriquecida de células CD34+ se incubó con suero bloqueante del receptor Fc que inhibe las uniones inespecíficas y con el siguiente coctel de anticuerpos a las concentraciones recomendadas por el fabricante: anticuerpos anti-CD34 (FITC), anti-CD133/2 (293C3) (PE), anti- CD14 (PE-Cy5) y anti-KDR (APC) o con los correspondientes controles isotipo. Tras un lavado con PBS/EDTA, se añadió a la suspensión celular un colorante vital como el yoduro de propidio (IP) que permite excluir del análisis las células necróticas. El análisis de los datos se llevó a cabo con un citómetro FACScalibur y con el software FACSDiva (BD Bioscience) siguiendo las recomendaciones para la detección y cuantificación de CPE con esta metodología (Khan SS, 2005). Se consideraron CPE las triples positivas para el marcaje realizado (CD34+CD133+KDR+) y negativas para el marcaje con CD14 e IP. Del mismo modo, se cuantificó la subpoblación de células progenitoras endoteliales en un estado de maduración avanzado como las células CD34+KDR+CD133- en la región con marcaje negativo para CD14 e IP. Los resultados obtenidos en cada paciente se expresaron como porcentajes en base al conteo de CMSP.

## 5. Estudio de la expresión de factores solubles en el suero.

Se determinó la concentración de los factores solubles considerados como marcadores de activación endotelial y de los que disponemos de datos previos de su implicación en la disfunción endotelial de los pacientes con LES:

- Citocinas inflamatorias: IL-2, IL-6, IFN $\gamma$  y TNF.
- Citocinas antiinflamatorias: IL-4 e IL-10.
- Factores de crecimiento: ET-1 y VEGF.
- Moléculas de adhesión solubles: sVCAM-1.

La cuantificación de la ET-1, sVCAM-1 y VEGF, se llevó a cabo mediante la técnica de enzimo-inmunoensayo (ELISA) siguiendo las instrucciones del fabricante (Assay designs, Stressgen y R&D System). En la placa que contiene fijado anticuerpo de alta afinidad específico de la proteína a determinar, se incubaron en paralelo ocho concentraciones conocidas de la proteína y una muestra de suero de cada una de las pacientes, durante el tiempo indicado. Posteriormente se lavó y se incubó de nuevo con un anticuerpo específico de la proteína problema conjugado con peroxidasa. Tras un nuevo lavado para eliminar el exceso de anticuerpo se añadió el sustrato, dando lugar a un producto coloreado cuya intensidad es proporcional a la concentración de la proteína presente en la muestra. La densidad óptica (DO) se determinó a una longitud de onda de 450nm. Se realizó una recta patrón enfrentando la DO con la concentración de las muestras de las que se conocía la cantidad de proteína y se calculó su concentración de los sueros de las pacientes extrapolando las DO correspondientes. El rango de detección para la ET-1 fue de 0,008-0,1 ng/ml, para la VEGF: 0,01-2 ng/ml y para sVCAM-1: 0,17-1,26 ng/ml.

La concentración sérica del resto de proteínas (IFN $\gamma$ , TNF, IL-2, IL-4, IL-6 e IL-10) se cuantificó mediante citometría de flujo con el método CBA (Cytometric Bead Array) (BD Bioscience), que permite la cuantificación simultánea de varias proteínas con una sensibilidad similar a un ELISA. El sistema emplea una combinación de microesferas fluorescentes unidas covalentemente con anticuerpos dirigidos específicamente frente a las diferentes proteínas solubles que se pretenden determinar. Posteriormente, las proteínas presentes en el suero unidas a las microesferas se detectan mediante el marcaje con anticuerpos específicos para cada una de las moléculas a determinar conjugados con el fluorocromo PE. Finalmente, se determinó la concentración de las proteínas de interés presentes en el suero de las pacientes, extrapolando los valores de la intensidad media de fluorescencia obtenidos de cada una de las muestras en la curva patrón construida a partir de controles de concentración conocida de las proteínas (de manera similar a como se calcula en un ELISA). Las microesferas tienen un rango de detección de 0,002-5 ng/ml y el análisis de los resultados se llevó a cabo con el software FCAP Array (BD Bioscience).

## 6. Parámetros de seguridad del tratamiento con estatinas.

De forma previa al inicio de la toma de estatinas, se interrogó a las pacientes sobre su ingesta de alcohol (gramos/día), antecedentes personales de enfermedad hepática, insuficiencia renal o hipotiroidismo, así como los antecedentes familiares o personales de enfermedades musculares hereditarias.

Además, al interrogar sobre el tratamiento habitual, se tomó especial interés en la toma de fármacos que pudiesen contribuir al riesgo de desarrollo de rabdomiolisis, como son la ciclosporina, eritromicina, claritromicina, itraconazol, ketoconazol, nefazodona, niacina, gemfibrocilo e inhibidores de la proteasa, así como sobre la ingesta habitual de zumo de pomelo.

En la analítica extraída se incluía las determinaciones bioquímicas de TSH (0,35-5 microIU/ml), T4 (1,7-1,98 microIU/ml), bilirrubina (0,3-1,1 mg/dl), CPK (24-170 U/L), ALT (40-60 U/L), AST (40-60 U/L), GGT (6-36 U/L) y fosfatasa alcalina (35-104 U/L).

## 7. Metodología estadística.

En un primer paso se llevó a cabo un análisis descriptivo de los datos expresado como media y desviación estándar para las variables cuantitativas y número absoluto (porcentaje) para las cualitativas. En todos los casos se comprobó la distribución de la variable frente a los modelos teóricos, mediante el test de Kolmogorov–Smirnov para determinar la normalidad.

Para comparar las variables cuantitativas se utilizó el test t de Student para las variables que seguían una distribución normal y el test de Mann-Whitney cuando la distribución fue no paramétrica. El análisis de la varianza (ANOVA) de un factor se empleó para comparar varios grupos en una variable cuantitativa.

El análisis de la modificación de las variables tras la intervención terapéutica o después de los seis meses de finalizar el tratamiento se llevó a cabo con el test t de Student para muestras relacionadas o con el contraste no paramétrico de Wilcoxon en el caso de que la variable no siguiera una distribución normal.

Cuando la comparación se realizó entre variables cualitativas, se utilizó el test estadístico Chicuadrado de Pearson ( $\chi^2$ ), corregida por Yates en caso de frecuencias esperadas menores a 5.

Para todas las pruebas se aceptó un valor de significación estadística inferior a 0,05 en contraste bilateral. El análisis se realizó mediante el programa estadístico SPSS (Statistical Package for Social Science for Windows, versión 15.0. SPSS Inc., Chicago, USA).

## *Resultados*

De las 39 mujeres que entraron en el estudio, una paciente suspendió el tratamiento con Atorvastatina a los 3 días del inicio por una posible reacción alérgica al fármaco y otra abandonó de forma voluntaria el ensayo clínico por decisión propia. Las 37 pacientes restantes completaron el protocolo.

## 1. Características basales de la población:

Al inicio del estudio, las pacientes tenían una mediana de edad de 47 años (23-80 años).

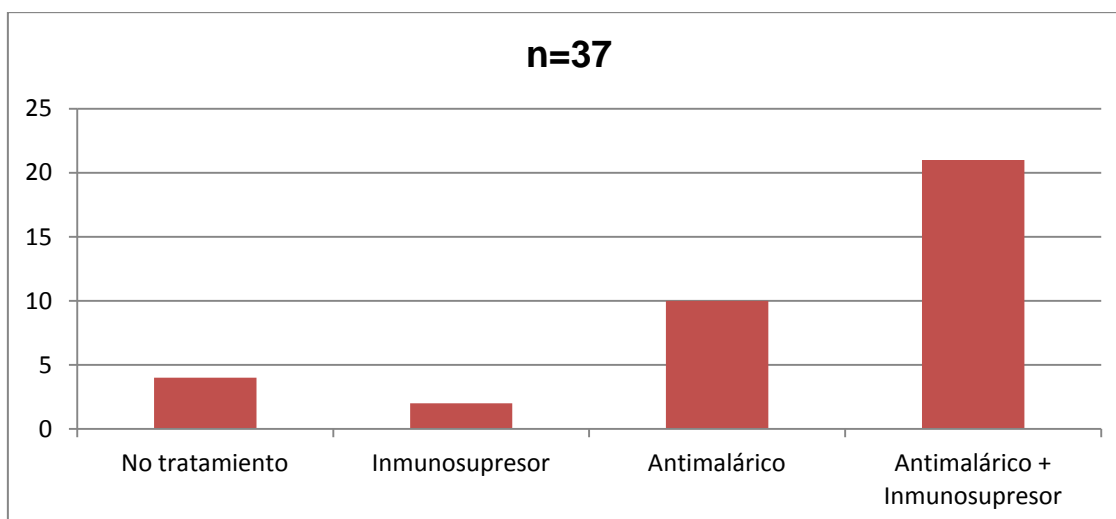
El tiempo medio de evolución de la enfermedad era de 14,46 años (1-44 años), con una forma de presentación mixta (visceral y cutánea) en un 81,08% (n=30), visceral el 16,22% (n=6) y exclusivamente cutánea en una paciente. Un 5,4% (n=2) de las pacientes cumplían criterios de síndrome antifosfolipídico. En el momento del estudio, el 91,7% (n=33) de las pacientes presentaban ANA positivos, con anticuerpos anti-DNA en el 25% (n=9). Solamente el 18,9% de las pacientes (n=7) presentaban actividad de la enfermedad (SLEDAI>4), con datos serológicos de actividad (complemento bajo y/o Anti-DNA) en un 48,6% (n=18) de las pacientes. El 70,3% (n=26) presentaban daño en relación a la enfermedad (SLICC/ACR≥1).

Sólo 4 pacientes (10,8%) no recibían tratamiento específico para el LES. De las pacientes tratadas, el 83,8% (n=31) tomaba antimaláricos de forma habitual, ya fuese como tratamiento exclusivo (n=10) o combinado con un inmunosupresor (n=21); el 62,2% (n=23) estaba en tratamiento con algún inmunosupresor, incluyendo en este grupo a los corticoides que los recibían 21 pacientes, 4 pacientes tomaban

Azatioprina, 4 Metotrexato y 5 Micofenolato de mofetilo. Ninguna paciente tomaba en la actualidad ciclosporina o ciclofosfamida.

De las 23 pacientes que tomaban algún tipo de inmunosupresión, el 21,74% (n=5) presentaba actividad de la enfermedad (SLEDAI>4) y el 78,26% (n=18) se encontraban inactivas (SLEDAI≤4).

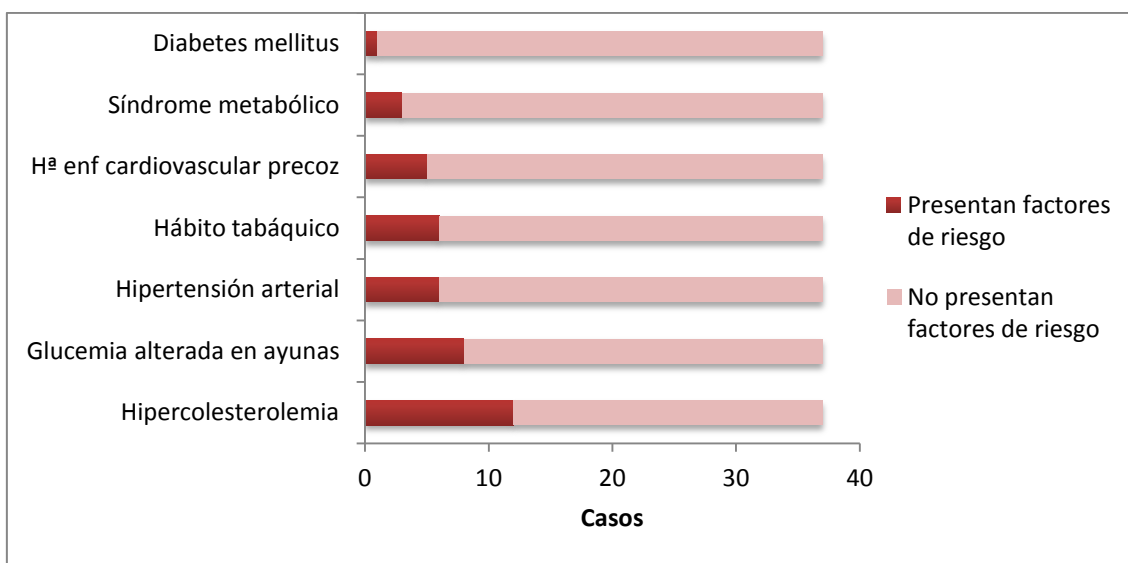
**Figura 3. Distribución de los tratamientos en la visita basal.**



En cuanto a los factores de riesgo cardiovascular, el 13,9% (n=5) de las pacientes tenía antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular precoz, la frecuencia de hábito tabáquico e HTA fue similar (16,2%, n=6), una paciente era diabética (2,7%), el 21,6% (n=8) presentaban glucemia alterada en ayunas, el 32,4% (n=12) presentaban hipercolesterolemia y 8,1% (n=3) tenían una cifra de triglicéridos elevada. Sólo 3 pacientes (8,1%) cumplían criterios diagnósticos de síndrome metabólico (Figura 4).

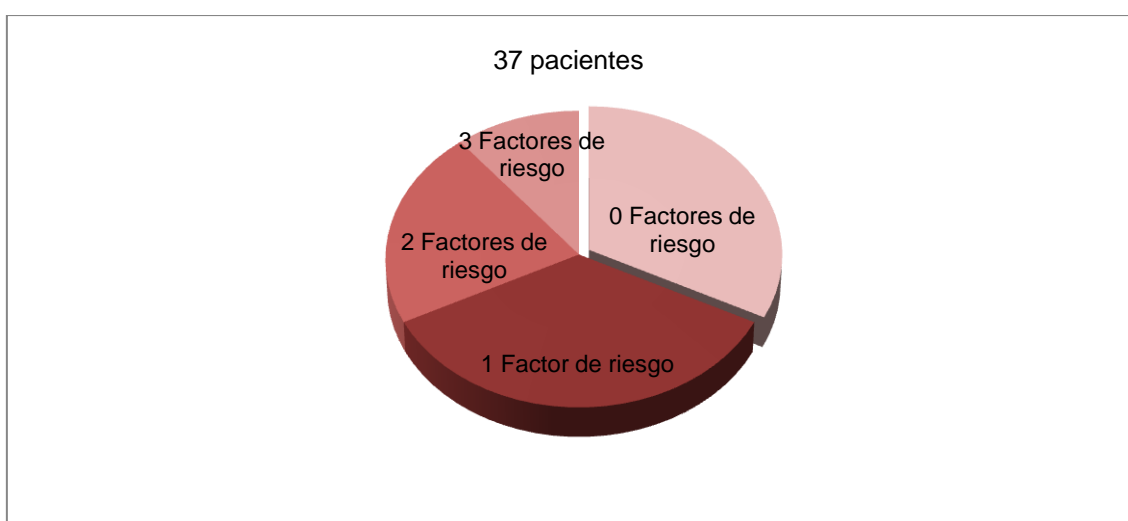


**Figura 4. Distribución en la población de los factores de riesgo cardiovascular en la visita basal.**



La distribución de los factores de riesgo en cada una de las pacientes era la siguiente: el 35,1% (n=13) de las pacientes presentaban un factor de riesgo cardiovascular, el 21,6% (n=8) presentaban dos y el 10,8% (n=4) tres factores de riesgo (Figura 5).

**Figura 5. Distribución de los factores de riesgo cardiovascular en la población.**

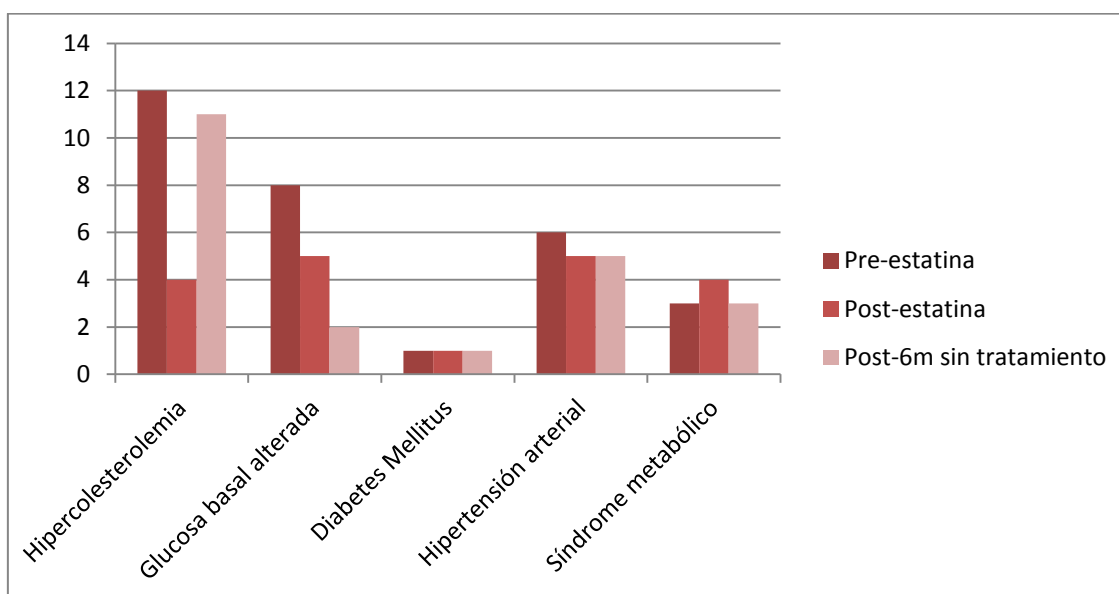


El riesgo de mortalidad de origen cardiovascular calculado a diez años fue bajo, presentando el 78,38% (n=29) de las pacientes un riesgo del 1% y ninguna paciente tuvo un riesgo superior al 5%.

## 2. Modificación de los factores de riesgo cardiovascular a lo largo del seguimiento:

El periodo de tratamiento con Atorvastatina redujo el porcentaje de pacientes que se consideraban hipercolesterolémicos, según sus cifras de colesterol plasmático, de 12 pacientes (32,43%) a 4 pacientes (10,81%), volviendo a cifras similares (11 pacientes, 29,73%) tras la suspensión del tratamiento durante 6 meses. También se vio reducido el número de pacientes con glucosa alterada en ayunas de 8 (21,62%) al inicio del estudio a 5 (13,51%) tras el periodo de tratamiento y, prosiguió el descenso tras la suspensión del tratamiento, con una cifra al final del seguimiento de 2 pacientes (5,40%). El porcentaje de pacientes con DM no sufrió modificación a lo largo del tiempo, así como el de hipertensos o con síndrome metabólico (Figura 6).

Figura 6. Evolución de los factores de riesgo cardiovascular.



Al evaluar los factores de riesgo cardiovascular modificables como variables cuantitativas, tras el tratamiento con estatinas, sólo se modificó la cifra de colesterol total y de LDL-colesterol. Ambos regresaron a valores similares a los basales tras el periodo de 6 meses sin estatinas.

El resto de factores como son la obesidad, la TAS, la glucemia basal en ayunas, el HDL-colesterol, los triglicéridos o la microalbuminuria no sufrieron modificaciones significativas en cuanto a sus valores medios con el tratamiento. Sin embargo, se objetiva un descenso significativo de la glucemia basal así como un aumento del HDL-colesterol tras la finalización del estudio con respecto a las cifras al inicio del mismo. Las cifras de TAD y el filtrado glomerular, muestran una tendencia a la reducción sin alcanzar la significación estadística. La Tabla 4 resume los datos obtenidos.

Tabla 4. Evolución de los factores de riesgo cardiovascular modificables.

	Pre-estatina media (DS)	Post-estatina media (DS)	Post-6 meses sin tratamiento media (DS)	p*	p**	p***
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24,80 (4,23)	24,79 (4,18)	24,84 (4,35)	NS	NS	NS
TAS (mmHg)	118,03 (13,19)	117,42 (17,81)	115,27 (12,62)	NS	NS	NS
TAD (mmHg)	72,78 (7,94)	70,75 (8,69)	70,44 (6,13)	NS	NS	0,055
Glucemia basal (mg/dl)	93,50 (16,08)	92,94 (17,94)	89,39 (11,45)	NS	NS	0,023
Hb glicada (%)	5,32 (0,50)	5,40 (0,39)	5,43 (0,53)	NS	NS	NS
Col total (mg/dl)	178,03 (34,72)	132,00 (30,55)	179,36 (33,05)	<0,001	<0,001	NS
LDL col (mg/dl)	103,03 (30,09)	63,59 (25,96)	99,71 (29,54)	<0,001	<0,001	NS
HDL col (mg/dl)	55,17 (17,40)	53,90 (14,29)	60,64 (14,51)	NS	<0,001	0,001
Triglicéridos (mg/dl)	79,63 (38,54)	85,17 (39,21)	91,97 (39,15)	NS	NS	NS
Creatinina (mg/dl)	0,74 (0,20)	0,76 (0,18)	0,76(0,20)	NS	NS	NS
Urea (mg/dl)	35,72 (12,16)	35,83 (11,11)	34,42 (9,22)	NS	NS	NS
Ác úrico (mg/dl)	4,63 (1,76)	4,58 (1,49)	4,49 (1,54)	NS	NS	NS
Microalb/Cr (mg/g)	30,75 (56,90)	25,49 (73,74)	28,38 (69,54)	NS	NS	NS
Acl Creat (ml/min)	95,64(24,06)	92,84 (22,51)	91,75 (22,22)	NS	NS	0,063

IMC: Índice de masa corporal. TAS: Tensión arterial sistólica. TAD: Tensión arterial diastólica. Hb glicada: Hemoglobina glicosilada. Col total: Colesterol total. LDL col: LDL- colesterol LDL. HDL col: HDL-colesterol. Ac úrico: Ácido úrico. Microalb/Cr: Cociente microalbúmina-creatinina. Acl Creat: Aclaramiento de creatinina según método MDRD4.

\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con estatina con la media posterior al tratamiento con estatina.  
 \*\*Significación estadística al comparar la media posterior al tratamiento con estatina con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 \*\*\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 NS: No significativo.

### **3. Modificación de los factores relacionados con el LES a lo largo del seguimiento:**

Durante todo el seguimiento, no hubo ninguna modificación en cuanto a los parámetros de hemograma y coagulación. Tampoco se modificó el valor medio de la VSG.

Tras el tratamiento con Atorvastatina, se evidencia una tendencia al descenso del valor de SLEDAI medio de las pacientes ( $2,44 \pm 2,72$  vs  $1,72 \pm 1,70$ ,  $p=0,072$ ) así como a un incremento del valor de complemento C3 ( $106,16 \pm 27,60$  vs  $109,40 \pm 22,79$ ,  $p=0,058$ ), sin modificarse el valor del complemento C4. Tras la suspensión durante seis meses del tratamiento, el valor del SLEDAI medio y las cifras de complemento C3 se mantienen estables con respecto a la segunda determinación ( $1,72 \pm 1,70$  mg/dl vs  $2,28 \pm 2,68$  mg/dl;  $p=0,20$  y  $109,40 \pm 22,79$  mg/dl vs  $109,99 \pm 25,34$  mg/dl;  $p=0,76$ , respectivamente). El porcentaje de pacientes que presentaban ANA, anticuerpos anti-DNA y anti-ENA no se modificó tras el tratamiento con Atorvastatina. Tampoco varió el porcentaje de pacientes con anticuerpos antifosfolípido o anticoagulante lúpico. Del mismo modo, dichos valores se mantuvieron sin cambios tras los seis meses de la suspensión del tratamiento.

Si analizamos la actividad de la enfermedad como el porcentaje de pacientes que presentan un SLEDAI >4 (enfermedad activa) en relación a aquellas que presentan un SLEDAI ≤4 (enfermedad inactiva), observamos que el porcentaje de pacientes inactivas pasa de ser de un 80,6% (29 pacientes) al inicio del estudio a un 97,6% (35 pacientes) tras el periodo de tratamiento y nuevamente desciende a un 80,6% (29 pacientes) seis meses más tarde. Ninguna de estas variaciones alcanza la significación estadística.

Todas las pacientes permanecieron estables en cuanto al valor de SLICC/ACR durante todo el estudio.

La Tabla 5 muestra los valores obtenidos de cada uno de estos parámetros.

**Tabla 5. Evolución de las determinaciones inmunológicas cuantitativas.**

	Pre-estatina media (DS)	Post-estatina media (DS)	Post-6 meses sin tratamiento media (DS)	p <sup>*, **; ***</sup>
<b>SLEDAI</b>	2,44 (2,72)	1,72 (1,70)	2,28 (2,68)	NS
<b>SLICC/ACR</b>	1,25 (1,05)	1,19 (1,06)	1,31 (1,064)	NS
<b>Complemento C3 (mg/dl)</b>	106,15 (25,07)	109,40 (22,79)	109,99 (25,34)	NS
<b>Complemento C4 (mg/dl)</b>	16,90 (8,77)	17,22 (8,89)	17,61 (9,32)	NS

\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con estatina con la media posterior al tratamiento con estatina.  
 \*\*Significación estadística al comparar la media posterior al tratamiento con estatina con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 \*\*\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 NS: No significativo.

En cuanto a los marcadores inflamatorios, no existen cambios a nivel de los valores de homocisteína, PCRus, Dímero D y Fibrinógeno, encontrándose todos dentro de los rangos de normalidad de forma basal, tras el periodo de tratamiento y transcurridos los seis meses sin tratamiento (Tabla 6).

Los tratamientos específicos para el LES no sufrieron modificaciones durante el seguimiento, como era de esperar, por ser la estabilidad clínica un criterio de inclusión del estudio.

Tabla 6. Evolución de los marcadores inflamatorios.

	Pre-estatina media (DS)	Post-estatina media (DS)	Post-6meses sin tratamiento media (DS)	p <sup>*</sup> ; **; ***
<b>Homocisteína (μmol/L)</b>	11,77 (5,80)	11,76 (3,44)	11,35 (3,98)	NS
<b>PCR us (mg/L)</b>	2,03 (3,95)	3,57 (8,59)	2,67 (4,82)	NS
<b>Dímero D (μg/L)</b>	0,49 (0,46)	0,51 (0,39)	0,57 (0,40)	NS
<b>Fibrinógeno (mg/dl)</b>	339,86 (68,24)	341,29 (72,26)	330,00 (88,02)	NS

\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con estatina con la media posterior al tratamiento con estatina.  
 \*\*Significación estadística al comparar la media posterior al tratamiento con estatina con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento. \*\*\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 NS: No significativo.



#### 4. Evolución de los parámetros de arterioesclerosis subclínica:

Al analizar la VOP media de todas las pacientes, ésta no sufrió cambios tras el periodo de tratamiento con Atorvastatina, siendo la previa al tratamiento de  $7,45\pm 1,83$  m/s y tras el tratamiento de  $7,29\pm 1,89$  m/s ( $p=0,34$ ). Tampoco se modificó la VOP media tras el periodo sin estatinas ( $7,14\pm 2,03$  m/s;  $p=0,49$ ).

Tras observar la ausencia de resultados en nuestra población y dado que existe una importante variabilidad en la edad de las pacientes del estudio, que oscila entre los 23 y los 80 años, realizamos un subanálisis de la evolución de la VOP tras el tratamiento y al finalizar el periodo de seis meses tras la suspensión del mismo, dividiendo a las pacientes en tres subgrupos de edad:

- Pacientes menores de 35 años.
- Pacientes entre 36 y 59 años.
- Pacientes mayores de 60 años.

No observamos diferencias en estos tres grupos de edad en cuanto a factores de riesgo cardiovascular clásicos.

En el grupo de edad intermedia, entre los 36 y 59 años, existe una tendencia al descenso de la cifra media de la VOP, que prácticamente alcanza significación estadística al comparar el valor basal y tras la finalización de todo el periodo de seguimiento.

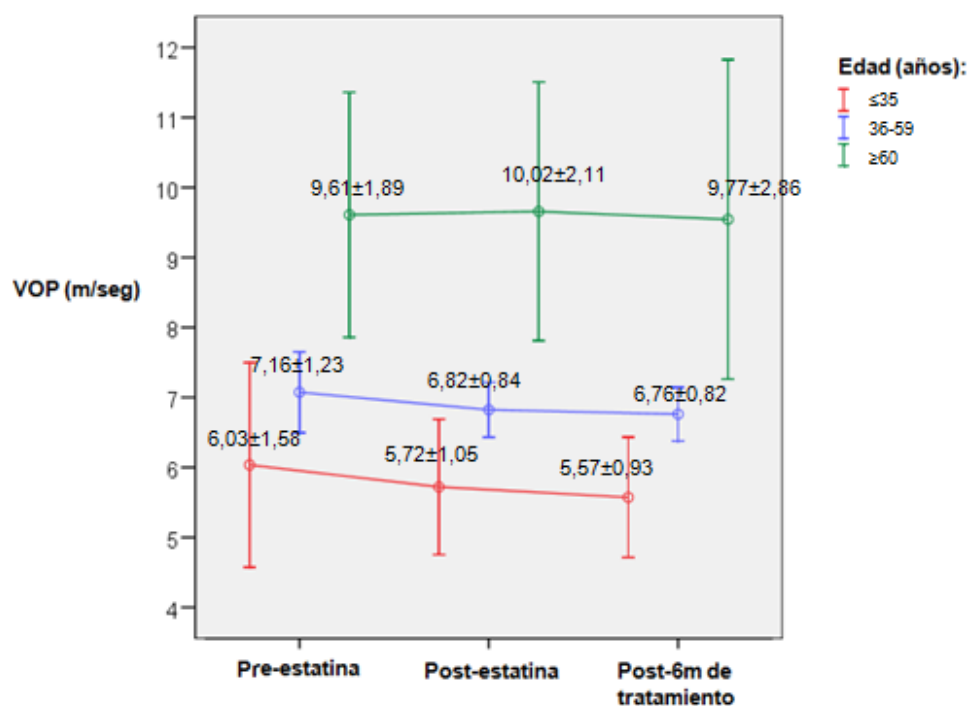
La Tabla 7 y la Figura 7 muestran la evolución de la cifra media de la VOP en los distintos grupos de edad.

Tabla 7. Cifras medias de la VOP en los distintos grupos de edad.

Grupo de edad (años)	VOP (m/s)			p*	p**	p***
	Pre-estatina media (DS)	Post-estatina media (DS)	Post-6 meses sin tratamiento media (DS)			
≤35	6,03 (1,58)	5,72 (1,05)	5,57 (0,93)	NS	NS	NS
36-59	7,16 (1,23)	6,82 (0,84)	6,76 (0,82)	NS	NS	0,058
≥60	9,61 (1,89)	10,02 (2,11)	9,77 (2,86)	NS	NS	NS

\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con estatina con la media posterior al tratamiento con estatina.  
 \*\*Significación estadística al comparar la media posterior al tratamiento con estatina con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 \*\*\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 NS: No significativo.

Figura 7. Evolución de la VOP en los distintos grupos de edad.



Representa la media y desviación estándar de la VOP previa al tratamiento con estatinas, tras el tratamiento y tras 6 meses de la finalización del tratamiento.

A continuación, quisimos analizar si la VOP, normal o patológica, podía influir en la respuesta a las estatinas. Para ello, clasificamos la VOP basal (previa al

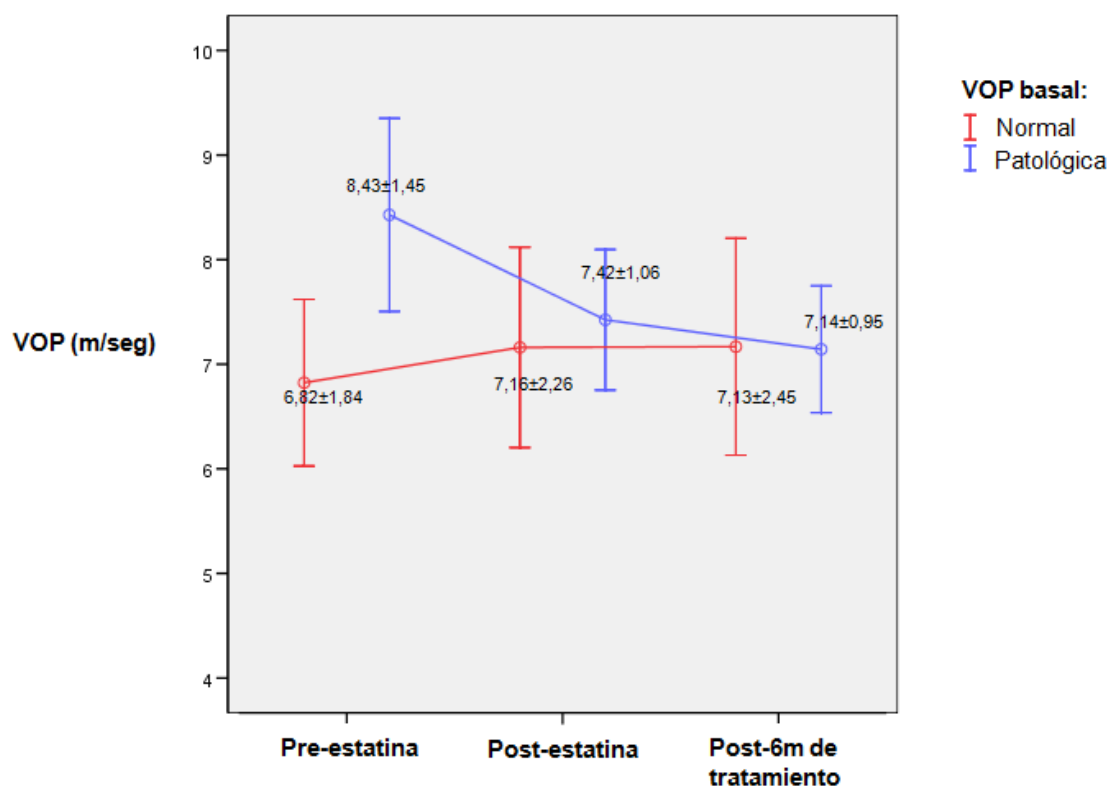
tratamiento con estatinas) de cada una de las pacientes como normal o patológica, realizando un ajuste según su TA y edad, mediante las recomendaciones realizadas por la Sociedad Europea de Cardiología publicadas en 2010 (Mattace-Raso F, 2010). Según esta clasificación, doce de las pacientes presentaban una VOP patológica al inicio del estudio, mientras que 25 de las pacientes presentaban una VOP normal de acuerdo a su TA y edad.

No existían diferencias en el porcentaje de pacientes con una VOP patológica en los distintos grupos de edad.

De las 12 pacientes que presentaron una VOP patológica, 7 se normalizaron tras el periodo de tratamiento con Atorvastatina 20mg, manteniéndose 6 de ellas en el rango de la normalidad tras el periodo de 6 meses sin tratamiento. Seis de estas 7 pacientes respondedoras pertenecían al grupo de edad de entre 36 y 59 años y sólo una tenía más de 60 años. Del grupo de las pacientes que presentaban una VOP normal para su edad y TA al inicio del estudio (n=25), todas se mantuvieron en el rango de la normalidad salvo 3 que se incrementaron tras la toma de estatinas pasando a presentar una VOP patológica.

En la Figura 8 se ve representada la evolución de las cifras medias de VOP en estos dos grupos a lo largo del tiempo, pudiéndose observar un descenso significativo tras la toma de estatinas en el grupo de pacientes con VOP patológica ( $8,43 \pm 1,45$  m/s vs  $7,42 \pm 1,06$  m/s;  $p=0,002$ ), que se mantiene estable tras el periodo sin estatinas ( $8,43 \pm 1,45$  m/s vs  $7,14 \pm 0,95$  m/s;  $p=0,002$ ).

Figura 8. Evolución de la VOP según su clasificación normal o patológica en la visita basal.



Representa la media y desviación estándar de la VOP previa al tratamiento con estatinas, tras el tratamiento y tras 6 meses de la finalización del tratamiento.

## **5. Evolución del porcentaje células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales a lo largo del seguimiento:**

El tratamiento durante 8 semanas con Atorvastatina se tradujo en una reducción significativa del porcentaje de CPE. Este descenso se puso de manifiesto tanto en las CPE totales (CD34+KDR+), que incluyen todos los estadios madurativos, en las CPE triple positivas (CD34+CD133+KDR+) así como en las CPE maduras (CD34+CD133-KDR+).

No se modificaron tras el tratamiento el porcentaje de células apoptóticas circulantes (CD146+AnexinaV+) ni el porcentaje de células progenitoras hematopoyéticas (CD34+).

Tras la suspensión del tratamiento con Atorvastatina durante seis meses, el porcentaje de CPE totales (CD34+KDR+) se incrementó de forma significativa hasta alcanzar niveles similares a los basales. Del mismo modo, se objetivó un ascenso significativo en el porcentaje de CPE triple positivas (CD34+CD133+KDR+) y una tendencia al incremento de las CPE maduras (CD34+CD133-KDR+).

El porcentaje de células apoptóticas circulantes (CD146+AnexinaV+) sufrió un descenso con respecto a la segunda determinación, mientras que el porcentaje de células progenitoras hematopoyéticas (CD34+) no se modificó tras el periodo sin tratamiento.

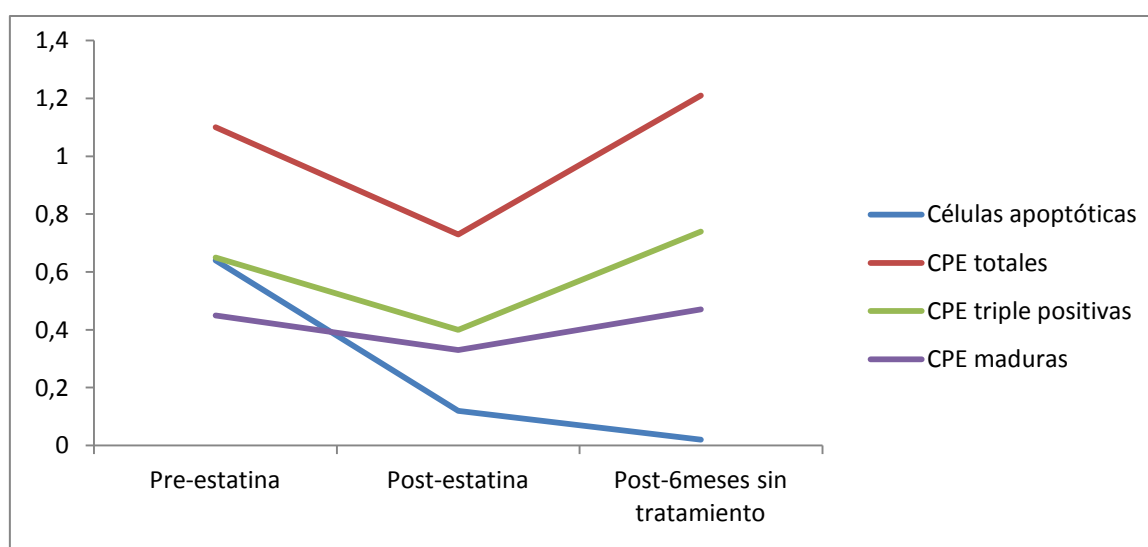
La Tabla 8 reúne todos los valores y en la Figura 9 se ve representada la evolución de estos parámetros.

**Tabla 8. Cuantificación de las células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales.**

Subpoblación celular (%)	Pre-estatina media (DS)	Post-estatina media (DS)	Post-6meses sin tratamiento media (DS)	p*	p**	p***
CD146+AnexinaV+	0,64 (0,10)	0,12 (0,24)	0,02 (0,10)	NS	0,045	NS
CD34+	11,44 (9,24)	12,15 (7,36)	12,97 (11,57)	NS	NS	NS
CD34+KDR+	1,10 (0,92)	0,73 (0,44)	1,21 (0,84)	0,014	0,001	NS
CD34+CD133+KDR+	0,65 (0,67)	0,40 (0,31)	0,74 (0,46)	0,023	<0,001	NS
CD34+CD133-KDR+	0,45 (0,29)	0,33 (0,20)	0,47 (0,49)	0,024	0,09	NS

\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con estatina con la media posterior al tratamiento con estatina.  
 \*\*Significación estadística al comparar la media posterior al tratamiento con estatina con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 \*\*\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 NS: No significativo.

**Figura 9. Evolución de las células apoptóticas y células progenitoras endoteliales a lo largo del seguimiento.**



CPE: Célula progenitora endotelial.

Realizamos además un subanálisis de la evolución del porcentaje de CPE y células endoteliales circulantes en los distintos grupos de edad, del mismo modo en que lo hicimos con la VOP.

En el grupo de pacientes con edad comprendida entre los 36 y 59 años (n=21), tras el periodo de tratamiento con Atorvastatina se observa un descenso en el porcentaje de las CPE triple positivas (CD34+CD133+KDR+), así como una tendencia al descenso en el de CPE totales (CD34+KDR+) y de CPE maduras (CD34+CD133-KDR+) que no obtiene significación estadística.

En este mismo grupo de edad, tras el periodo de 6 meses sin tratamiento, las cifras de CPE totales (CD34+KDR+) y CPE triple positivas (CD34+CD133+KDR+) vuelven a ascender alcanzando cifras similares a las del inicio del estudio. Las CPE maduras (CD34+CD133-KDR+) aunque ascienden nuevamente no alcanzan la significación estadística. No se ven modificadas ni el porcentaje de células apoptóticas circulantes (CD146+AnexinaV+) ni el de células progenitoras hematopoyéticas (CD34+) a lo largo de todo el periodo (Tabla 9).

**Tabla 9. Cuantificación de las células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales en el grupo de edad entre 36 y 59 años.**

Subpoblación celular (%)	Pre-estatina media (DS)	Post-estatina media (DS)	Post-6meses sin tratamiento media (DS)	p*	p**	p***
CD146+AnexinaV+	0,07 (0,12)	0,12 (0,25)	0,03 (0,13)	NS	NS	NS
CD34+	11,50 (9,26)	11,62 (7,56)	11,82 (11,18)	NS	NS	NS
CD34+KDR+	1,13 (1,08)	0,70 (0,49)	1,27 (0,97)	0,071	0,006	NS
CD34+CD133+KDR+	0,72 (0,79)	0,37 (0,31)	0,74 (0,43)	0,043	<0,001	NS
CD34+CD133-KDR+	0,42 (0,31)	0,33 (0,24)	0,42 (0,31)	NS	NS	NS

\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con estatina con la media posterior al tratamiento con estatina.  
 \*\*Significación estadística al comparar la media posterior al tratamiento con estatina con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento. \*\*\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 NS: No significativo.

En los otros dos grupos (pacientes menores de 36 años y mayores de 59 años), las tres poblaciones de CPE tienden a reducir su número tras el periodo de tratamiento y a aumentar tras la suspensión del mismo sin alcanzar la significación estadística, exceptuando el descenso tras el tratamiento de las CPE maduras (CD34+CD133-KDR+) en el grupo de pacientes menores de 36 años y el ascenso de las mismas tras el periodo sin tratamiento en el grupo de pacientes mayores de 59 años que sí son significativos.

El porcentaje de células progenitoras hematopoyéticas (CD34+) asciende tras el tratamiento en el grupo de pacientes más jóvenes, con una tendencia a seguir incrementándose tras el periodo sin tratamiento.

No existen variaciones a lo largo del tiempo en las células apoptóticas circulantes (CD146+AnexinaV+) en ninguno de estos dos grupos.

Las Tablas 10 y 11 muestran los datos.

**Tabla 10. Cuantificación de las células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales en el grupo de pacientes menores de 36 años.**

Subpoblación celular (%)	Pre-estatina media (DS)	Post-estatina media (DS)	Post-6meses sin tratamiento media (DS)	p*	p**	p***
CD146+AnexinaV+	0,07 (0,09)	0,06 (0,14)	0,00 (0,00)	NS	NS	NS
CD34+	10,85 (11,02)	13,86 (7,94)	16,94 (14,94)	0,037	NS	NS
CD34+KDR+	0,95 (0,43)	0,80 (0,42)	1,04 (0,58)	NS	NS	NS
CD34+CD133+KDR+	0,51 (0,38)	0,45 (0,31)	0,53 (0,41)	NS	NS	NS
CD34+CD133-KDR+	0,44 (0,19)	0,35 (0,13)	0,51 (0,19)	NS	0,045	NS

\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con estatina con la media posterior al tratamiento con estatina.  
 \*\*Significación estadística al comparar la media posterior al tratamiento con estatina con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 \*\*\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 NS: No significativo.



**Tabla 11. Cuantificación de las células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales en el grupo de pacientes mayores de 59 años.**

Subpoblación celular (%)	Pre-estatina media (DS)	Post-estatina media (DS)	Post-6meses sin tratamiento media (DS)	p*	p**	p***
CD146+AnexinaV+	0,03 (0,05)	0,18 (0,35)	0,00 (0,00)	NS	NS	NS
CD34+	11,89 (8,47)	11,81 (6,90)	12,50 (10,06)	NS	NS	NS
CD34+KDR+	1,16 (0,90)	0,75 (0,35)	1,22 (0,72)	NS	NS	NS
CD34+CD133+KDR+	0,61 (0,61)	0,42 (0,33)	0,92 (0,55)	NS	0,070	NS
CD34+CD133-KDR+	0,55 (0,32)	0,32 (0,14)	0,30 (0,27)	0,041	NS	NS

\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con estatina con la media posterior al tratamiento con estatina.  
 \*\*Significación estadística al comparar la media posterior al tratamiento con estatina con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 \*\*\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 NS: No significativo.

De forma similar al análisis que realizamos en la VOP, determinamos la evolución de las poblaciones celulares agrupando a las pacientes según presentaban una VOP patológica o normal al inicio del estudio.

En el grupo de pacientes con VOP patológica en la determinación basal (n=12), observamos un descenso en las tres poblaciones de CPE, que sólo alcanza la significación estadística en el porcentaje de las CPE maduras (CD34+CD133-KDR+). Todas ellas tienden a aumentar tras el periodo sin tratamiento, sin alcanzar significación en ningún caso. El porcentaje de células apoptóticas circulantes (CD146+AnexinaV+) no sufre ninguna variación durante todo el seguimiento y las células progenitoras hematopoyéticas (CD34+), no se modifican tras el tratamiento pero descienden tras el periodo de seis meses sin tratamiento con respecto a la primera determinación (Tabla 12).

**Tabla 12. Cuantificación de las células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales en el grupo de pacientes con VOP patológica en la visita basal.**

Subpoblación celular (%)	Pre-estatina media (DS)	Post-estatina media (DS)	Post-6meses sin tratamiento media (DS)	p*	p**	p***
CD146+AnexinaV+	0,03 (0,05)	0,09 (0,19)	0,06 (0,18)	NS	NS	NS
CD34+	12,63 (10,33)	13,50 (8,13)	9,07 (7,60)	NS	NS	0,048
CD34+KDR+	1,38 (1,27)	0,72 (0,52)	1,09 (1,15)	0,074	NS	NS
CD34+CD133+KDR+	0,87 (0,94)	0,43 (0,40)	0,67 (0,55)	NS	NS	NS
CD34+CD133-KDR+	0,52 (0,36)	0,28 (0,19)	0,42 (0,63)	0,040	NS	NS

\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con estatina con la media posterior al tratamiento con estatina.  
 \*\*Significación estadística al comparar la media posterior al tratamiento con estatina con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 \*\*\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 NS: No significativo.

**Tabla 13. Cuantificación de las células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales en el grupo de pacientes con VOP normal en la visita basal.**

Subpoblación celular (%)	Pre-estatina media (DS)	Post-estatina media (DS)	Post-6meses sin tratamiento media (DS)	p*	p**	p***
CD146+AnexinaV+	0,07 (0,12)	0,10 (0,23)	0,00 (0,00)	NS	NS	NS
CD34+	11,65 (8,79)	13,50 (8,13)	15,44 (12,84)	NS	NS	NS
CD34+KDR+	0,98 (0,71)	0,75 (0,42)	1,30 (0,67)	NS	0,001	NS
CD34+CD133+KDR+	0,56 (0,50)	0,40 (0,27)	0,79 (0,42)	NS	0,001	NS
CD34+CD133-KDR+	0,41 (0,25)	0,35 (0,21)	0,51 (0,43)	NS	NS	NS

\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con estatina con la media posterior al tratamiento con estatina.  
 \*\*Significación estadística al comparar la media posterior al tratamiento con estatina con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 \*\*\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.  
 NS: No significativo.

Al analizar el grupo de pacientes con VOP normal al inicio del estudio (n=23), aunque ninguna de las poblaciones de CPE sufre variaciones significativas, se observa un descenso del porcentaje tras el tratamiento con estatinas y un posterior

ascenso tras la suspensión de las mismas, que llega incluso a hacerse significativo en el caso de las CPE totales (CD34+KDR+) y las triple positivas (CD34+CD133+KDR+). No se observan cambios en las células apoptóticas circulantes (CD146+AnexinaV+) ni en las células progenitoras hematopoyéticas (CD34+) (Tabla 13).

## **6. Modificación de la cuantificación de proteínas solubles a lo largo del tiempo:**

En cuanto a las proteínas solubles, se objetivó un descenso significativo del VEGF ( $318,73 \pm 226,89$  vs  $294,46 \pm 203,89$ ;  $p=0,011$ ) y un incremento del IFN- $\gamma$  ( $2,65 \pm 1,77$  vs  $4,17 \pm 3,83$ ;  $p=0,015$ ) tras las ocho semanas de tratamiento con Atorvastatina. Tras el periodo sin tratamiento, el VEGF muestra una tendencia nuevamente al ascenso, mostrando valores similares a los basales ( $318,73 \pm 226,89$  vs  $318,87 \pm 249,96$ ;  $p=0,94$ ). El IFN- $\gamma$ , no sufrió variaciones tras el periodo sin estatinas ( $4,17 \pm 3,83$  vs  $4,48 \pm 7,92$ ;  $p=0,83$ ).

El valor de sVCAM-1 que no se modificó tras el periodo de tratamiento ( $1055,34 \pm 572,54$  vs  $958,50 \pm 527,99$ ;  $p=0,16$ ), mostró un descenso significativo tras la finalización del periodo sin tratamiento ( $958,50 \pm 527,99$  vs  $860,33 \pm 426,78$ ;  $p=0,01$ ). Descenso que también fue significativo al comparar con las cifras basales ( $1055,34 \pm 572,54$  vs  $958,50 \pm 527,99$ ;  $p=0,008$ ).

No hubo variación en la concentración sérica del resto de proteínas solubles a lo largo del tiempo.

La Tabla 14 muestra los datos.

**Tabla 14. Concentración sérica de las proteínas solubles previa y tras el tratamiento con Atorvastatina.**

Proteínas solubles (pg/ml)	Pre-estatina media (DS)	Post-estatina media (DS)	Post-6meses sin tratamiento media (DS)	p*	p**	p***
<b>IFN<math>\gamma</math></b>	2,65 (1,77)	4,17 (3,83)	4,48 (7,92)	0,015	NS	NS
<b>TNF</b>	4,26 (8,38)	4,10 (7,46)	4,95 (8,29)	NS	NS	NS
<b>IL-2</b>	3,31 (6,08)	3,80 (6,31)	4,36 (7,30)	NS	NS	NS
<b>IL-6</b>	8,85 (13,24)	8,34 (14,25)	6,60 (9,09)	NS	NS	NS
<b>IL-4</b>	3,63 (5,48)	3,39 (4,92)	3,73 (5,25)	NS	NS	NS
<b>IL-10</b>	4,95 (11,09)	5,52 (16,83)	5,04 (13,23)	NS	NS	NS
<b>ET-1</b>	40,20 (122,57)	41,38 (112,06)	34,37 (63,22)	NS	NS	NS
<b>VEFG</b>	318,73 (226,89)	291,46 (203,90)	318,87 (249,96)	0,011	0,019	NS
<b>sVCAM-1</b>	1055,34 (572,54)	958,50 (527,99)	860,33 (426,78)	NS	0,01	0,008

\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con estatina con la media posterior al tratamiento con estatina.

\*\*Significación estadística al comparar la media posterior al tratamiento con estatina con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento. \*\*\*Significación estadística al comparar la media previa al tratamiento con la media posterior a los 6 meses sin tratamiento.

NS: No significativo.

## 7. Parámetros de seguridad:

Ninguna de las pacientes incluidas en el estudio consumía alcohol de forma habitual ni tenía antecedentes personales o familiares de enfermedades musculares hereditarias. Ni al inicio del estudio ni durante el seguimiento las pacientes tomaron fármacos que pudieran aumentar el riesgo de rhabdomiolisis.

Todas ellas presentaban en el momento del reclutamiento una función tiroidea normal, aunque 6 de las pacientes padecían hipotiroidismo en tratamiento sustitutivo. Tres, tenían antecedentes personales de enfermedad hepática y 2 insuficiencia renal crónica, pero en ningún caso las pruebas de función hepática ni el filtrado glomerular contraindicaron el empleo de Atorvastatina.

Una paciente presentó una reacción alérgica con afectación exclusivamente cutánea tras el inicio del tratamiento con Atorvastatina, que se resolvió tras la retirada del fármaco sin precisar atención hospitalaria. Ninguna paciente presentó mialgias durante el periodo de tratamiento.

En cuanto a las pruebas de función hepática, sólo se objetivó un incremento significativo de las cifras medias de Fosfatasa alcalina tras el periodo de tratamiento ( $61,92 \pm 16,91$  U/L vs  $66,89 \pm 17,80$  U/L;  $p=0,007$ ), sin que en ningún caso se superara el doble del límite alto de la normalidad. Tampoco se vieron modificadas de forma significativa las cifras medias de CPK. La Tabla 15 incluye la evolución de todos los parámetros de seguridad.

**Tabla 15. Evolución de los parámetros de seguridad tras las ocho semanas de tratamiento con Atorvastatina.**

	Pre-estatina media (DS)	Post-estatina media (DS)	p
<b>CPK (U/L)</b>	80,16 (46,26)	76,72 (47,76)	NS
<b>Bilirrubina total (U/L)</b>	0,63 (0,42)	0,67 (0,46)	NS
<b>ALT (U/L)</b>	23,58 (12,77)	24,67 (13,07)	NS
<b>AST (U/L)</b>	23,36 (6,25)	23,25 (7,31)	NS
<b>GGT (U/L)</b>	17,33 (11,91)	19,56 (15,18)	NS
<b>Fosfatasa alcalina (U/L)</b>	61,92 (16,91)	66,89 (17,80)	0,007

NS: No significativo.

## *Discusión*



El mayor y más preciso conocimiento sobre el LES en el último medio siglo y, más concretamente, la aparición de técnicas que permiten realizar un diagnóstico más precoz y el empleo de nuevos tratamientos (tanto para la propia enfermedad, como para las complicaciones asociadas), se ha traducido en un descenso progresivo de la mortalidad global de los pacientes a expensas de la reducción de la mortalidad de causa renal e infecciosa. Este incremento de la esperanza de vida de los pacientes ha ido acompañado de un aumento de la morbi-mortalidad de origen cardiovascular (Bernatsky S, 2006), observándose además una incidencia de enfermedad cardiovascular subclínica superior a la de la población general (Lima DS, 2002; Roman M, 2003; Colombo BM, 2007; Kiani AN, 2012).

La detección de este problema creciente ha llevado a la realización de estudios de cohortes en los que se ha evidenciado que los pacientes con LES tienen mayor número de factores de riesgo cardiovascular que los controles (Petri M, 1992; Bruce IN, 2003; Urowitz M, 2007) pero que este incremento del riesgo no justifica completamente la alta tasa de eventos cardiovasculares observados (Esdaile J, 2001; Rahman P, 1999). Cuando se analiza la correlación con parámetros de la propia enfermedad, los resultados apoyan la hipótesis de que la inflamación mantenida a lo largo del tiempo es un factor que contribuye al proceso de arterioesclerosis acelerada (Roman M, 2003; Leeuw K, 2009; Kiani AN, 2011; Romero-Díaz J, 2012).

El proceso arterioesclerótico se inicia con la lesión del endotelio por la alteración del balance entre daño y reparación. Ante una agresión a nivel endotelial, se liberan CPE de médula ósea que se diferencian en CE en el lugar de la lesión para su reparación. Un número reducido de CPE en sangre periférica se ha asociado a un

incremento de la incidencia de eventos cardiovasculares y mortalidad de origen cardiovascular en población general (Werner N, 2005). Tras el daño endotelial, se activa el proceso inflamatorio responsable de la formación de la placa de ateroma.

En el caso del LES, hay evidencia de que existe un descenso en el número de CPE (por disminución de su producción por parte de la médula ósea o por aumento de la apoptosis en sangre periférica) (Westerweel PE, 2007; Moonen JR, 2007; Lee PY, 2007; Ebner P, 2010; Baker JF, 2012), además de una alteración en la funcionalidad de las mismas (Moonen JR, 2007; Denny MF, 2007; Grisar J, 2008; Ebner P, 2010; Deng XL, 2010), por lo que se produciría una modificación del balance en el proceso reparativo.

Por otra parte, las estatinas, además de su conocido efecto hipolipemiante, imprescindible en la prevención primaria de los eventos cardiovasculares (Sephhered J, 1995; Downs JR, 1998; Sever PS, 2003), poseen múltiples efectos independientes de los producidos sobre el metabolismo lipídico. Son los llamados efectos “pleiotrópicos”, que incluyen la estabilización y la regresión de la placa de ateroma (Ballantyne CM, 1997; Crisby M, 2001; Davignon J, 2004; Yamazaki T, 2013), el incremento de la actividad fibrinolítica (Davignon J, 2004), la modulación de la respuesta inflamatoria (Greenwood J, 2006; Tristano AG, 2006) y la reducción del estrés oxidativo (Singh U, 2008; Sozer V, 2013), además del aumento del número y la funcionalidad de las CPE (Kureishi Y, 2000; Llevadot J, 2001; Dimmeler S, 2001).

Con estos datos, las estatinas son un fármaco que potencialmente actuaría de forma beneficiosa sobre aspectos fundamentales en el tratamiento de los pacientes con LES: por una parte sobre la actividad inflamatoria de la propia enfermedad y por otra, sobre la alteración de la función endotelial y la prevención de la arterioesclerosis.

En los últimos años se han realizado algunos trabajos que evalúan el efecto de las estatinas en los pacientes con LES con resultados discretos. Se ha observado una mejoría de la disfunción endotelial medida mediante dilatación mediada por flujo (Ferreira GA, 2007) y un cese de la progresión de la arterioesclerosis subclínica en cuanto a GIM arterial en adultos (Petri M, 2011; Mok CC, 2011), pero no en niños y adolescentes (Schanberg LE, 2012). Existen resultados discrepantes en su acción sobre la placa arterioesclerótica y la calcificación de la misma (Petri M, 2011; Plazak W, 2011), así como en la reducción de los niveles de mediadores inflamatorios (De Kruif MD, 2009; Ferreira GA, 2010; Ruiz-Limon P, 2014) y en cuanto al efecto sobre la actividad de la enfermedad (Ferreira GA, 2007; Fernández M, 2008; Petri M, 2011; Ruiz-Limon P, 2014).

Considerando que, la VOP es el “gold standard” para la medida de rigidez arterial, que se ha sugerido que las CPE son un buen biomarcador de daño endotelial y que ambas tienen una buena correlación (Castejón R, 2014) hemos empleado para la realización de este trabajo estos dos parámetros, no utilizados previamente, con el objetivo de evaluar el efecto de un periodo corto de tratamiento con estatinas sobre la arterioesclerosis subclínica. Además hemos analizado su efecto sobre los factores de riesgo cardiovascular modificables, los factores de la propia enfermedad y las proteínas solubles en suero implicadas en la disfunción endotelial de pacientes con LES, al igual que en los trabajos anteriormente comentados.

Por último, hemos determinado estos parámetros tras la suspensión del tratamiento con estatinas. La determinación de los parámetros tras la suspensión durante 6 meses del tratamiento con estatinas nos permite objetivar la duración de los efectos obtenidos a lo largo del tiempo, además de actuar como control para algunos

parámetros. Este aspecto no había sido evaluado con anterioridad en pacientes con LES y, tras una búsqueda exhaustiva en la literatura, sólo encontramos dos artículos realizados por el mismo grupo de trabajo que analizan en población sana la acción de un fármaco hipolipemiante sobre la función endotelial y su evolución tras la suspensión del mismo, empleando para su medición las técnicas de dilatación mediada por flujo y VOP por ecografía doppler. En ellos se objetiva una mejoría de los parámetros de arterioesclerosis subclínica que se mantienen meses después de la suspensión del tratamiento (Lunder M, 2011; Lunder M, 2012). Por ello, hemos considerado de interés analizar este aspecto nunca evaluado en pacientes con LES.

## **1. Características basales de las pacientes:**

Al analizar las características de las poblaciones estudiadas en los distintos trabajos que evalúan el efecto de las estatinas sobre marcadores de arterioesclerosis subclínica (Ferreira GA, 2007; Petri M, 2011; Mok CC, 2011; Plazak W, 2011), podemos observar que son similares a nuestra población en cuanto a edad media de los pacientes y tiempo de evolución de la enfermedad, excluyendo el trabajo de Schanberg et al que se realizó con niños y adolescentes hasta los 21 años de edad (Schanberg LE, 2012). Salvo el trabajo de Ferreira et al, en el que exclusivamente incluyen mujeres en el análisis, el resto poseen un pequeño porcentaje de varones (siempre inferior al 10%). En todos los estudios el valor medio del SLEDAI era bajo, al igual que en nuestro trabajo en el que sólo un 18,9% de las pacientes presentaban un valor superior a 4.

Con respecto al tratamiento específico para el LES, llama la atención que el porcentaje de pacientes con antimaláricos es claramente inferior al nuestro, mientras que el porcentaje con tratamiento esteroideo e inmunosupresor es similar en los distintos estudios.

Es importante destacar que, al igual que nuestro trabajo, ninguno de ellos incluye pacientes con eventos cardiovasculares o cerebrovasculares previos. En cuanto a los factores de riesgo cardiovascular, es difícil realizar una comparativa debido a la variabilidad de los datos que aportan los distintos estudios. El trabajo de Ferreira et al (Ferreira GA, 2007), excluye a las pacientes postmenopáusicas, fumadoras, con DM, insuficiencia renal e historia de enfermedad cardiovascular precoz y en el Lupus Atherosclerosis Prevention Study (LAPS) (Petri M, 2011) a los que presentan cifras elevadas de triglicéridos y LDL-colesterol. A pesar de que en nuestro trabajo los factores de riesgo cardiovascular no fueron una limitación en la inclusión de

las pacientes, el riesgo global de muerte cardiovascular en todas ellas fue bajo (del 1% en casi el 80% de las pacientes y siempre inferior al 5%). Los porcentajes de HTA, dislipemia, DM y hábito tabáquico son similares a los nuestros, salvo el trabajo de Ferreira et al que como hemos dicho excluye fumadores y diabéticos y en el de Plazak et al en el que la proporción de todos estos factores de riesgo cardiovascular es inferior (Plazak W, 2011).

## **2. Efecto del tratamiento con Atorvastatina sobre los factores de riesgo cardiovascular:**

Las estatinas han demostrado en población general un descenso del LDL-colesterol y de los triglicéridos, junto a un incremento del HDL-colesterol, con la consiguiente utilidad en prevención primaria y secundaria de eventos cardiovasculares (Shepherd J, 1995; Downs JR, 1998). También reducen las cifras de TA, fundamentalmente en pacientes hipertensos (Sposito AC, 1999; Ferrier KE, 2002). No se conocen otras propiedades positivas sobre otros factores de riesgo cardiovascular modificables. Aunque se han descrito la proteinuria sin alteración del filtrado glomerular y la resistencia insulínica, se consideran efectos adversos poco frecuentes y poco relevantes clínicamente (Grundy SM, 2005; Kho KK, 2010).

Como era esperable, el tratamiento con Atorvastatina redujo en nuestro estudio la cifra de colesterol total y de LDL-colesterol, como ocurre en todos los estudios publicados en los que se administran estatinas a pacientes con LES (Costembarder KH, 2007; Ferreira GA, 2007; De Kruif MD, 2009; Mok CC, 2011; Plazak W, 2011; Petri M, 2011; Schanberg LE, 2012). Con tan sólo 8 semanas de tratamiento no se objetivaron cambios en las cifras de triglicéridos ni de HDL-colesterol.

La reducción del número de pacientes con glucosa alterada en ayunas junto a la tendencia a la reducción de las cifras medias de glucosa basal tras el periodo de tratamiento fue un hallazgo inesperado, cuando, como hemos comentado anteriormente, se ha atribuido a las estatinas un incremento en la resistencia a la insulina que se traduce en un aumento de las cifras de glucosa e incluso, en algunos casos, en la aparición de DM. No se describen cambios en las cifras de glucosa en los

trabajos que administran estatinas a pacientes con LES. Esto hace pensar que este hallazgo no se encuentra relacionado con el tratamiento hipolipemiente, y, mucho menos, cuando este descenso no se acompaña de cambios en las cifras de hemoglobina glicosilada, del IMC ni en el porcentaje de pacientes con síndrome metabólico.

En cuanto a la proteinuria y el filtrado glomerular, nosotros no observamos cambios significativos tras el periodo de tratamiento, al igual que sucede en la publicación de De Kruif et al tras tres meses de tratamiento con Rosuvastatina (De Kruif MD, 2009). Por el contrario, Abud-Mendoza et al demuestran una reducción de la proteinuria con estabilidad del filtrado glomerular, en tres pacientes con afectación renal grave (Abud-Mendoza C, 2003), de forma contraria a lo que se ha descrito de forma infrecuente en población general (Grundy SM, 2005). Nuestros resultados pueden estar condicionados por el hecho de que las cifras medias de microalbuminuria-creatinina de las pacientes se encontraban dentro del rango de la normalidad.

Tras el periodo de suspensión del fármaco, en primer lugar objetivamos que las cifras de LDL-colesterol vuelven a las cifras basales, lo que avala el buen cumplimiento terapéutico de nuestras pacientes durante el periodo de estudio.

También objetivamos una tendencia a la reducción de la cifra media de TAD durante todo el seguimiento que se hace prácticamente significativa al finalizar los 6 meses sin tratamiento, al igual que se ha descrito en la población general. Esta tendencia no se acompaña de una reducción en el porcentaje de pacientes considerados hipertensos. Salvo el trabajo de Ferreira et al, que menciona de forma expresa que las cifras de TA tanto sistólica como diastólica no se ven modificados tras



el tratamiento con estatinas (Ferreira GA, 2007), ninguno de los trabajos de intervención terapéutica realizados de forma previa describe la evolución de estos parámetros.

Del mismo modo que el descenso de la TAD se produce tras los seis meses de suspensión del fármaco, los niveles de HDL-colesterol plasmáticos se incrementan de forma significativa en el mismo periodo, lo que hace pensar en un efecto prolongado del fármaco.

### **3. Efecto del tratamiento con Atorvastatina sobre los factores relacionados con el LES:**

La tendencia en nuestras pacientes hacia una disminución del SLEDAI y al aumento del complemento C3 hace pensar que existe una acción beneficiosa del tratamiento con Atorvastatina sobre la actividad de la enfermedad, aunque no se vio modificado el porcentaje de pacientes que presentaban unos anticuerpos anti-DNA positivos.

En los estudios de efecto de las estatinas sobre pacientes con LES, tres de ellos evidencian un descenso del valor del SLEDAI. El primero, es un estudio preliminar de 8 pacientes, en los que se reduce significativamente el SLEDAI medio tras 4 semanas de tratamiento con Simvastatina (Kotyla PJ, 2006). Posteriormente, Ferreira et al, evidencian una disminución en la puntuación del mismo en el 43,7% de los pacientes tratados con Atorvastatina (Ferreira GA, 2007). Recientemente, Ruiz-Limon et al, tras administrar Fluvastatina durante un mes objetivan un descenso en el SLEDAI y en los niveles séricos de anticuerpos anti-DNA (Ruiz-Limon P, 2014). En el análisis del efecto sobre la actividad de la enfermedad en la cohorte LUMINA, en el estudio LAPS y en los trabajos de Mok et al y Plazak et al, no se observa un descenso de los índices de actividad de los pacientes con LES tras el periodo de tratamiento, medida mediante el Systemic Lupus Activity Measure – Revised (SLAM-R) en el primero de ellos y SLEDAI en los siguientes trabajos (Fernández M ,2008; Petri M, 2011; Mok CC, 2011; Plazak W, 2011). Por otra parte, De Kruif et al no objetivan cambios en los niveles de C3 y C4 ni en los de anticuerpos anti-DNAs tras un periodo de tratamiento con Rosuvastatina (De Kruif MD, 2009).

Existe por tanto controversia acerca de si el conocido efecto inmunomodulador de las estatinas se traduce en una mejoría de los datos de actividad de los pacientes con lupus. Nuestro trabajo aportaría un argumento favorable a esta teoría.

Los marcadores inflamatorios incluídos en nuestro estudio (PCRus, homocisteína, dímero D y fibrinógeno) no sufrieron variaciones con el tratamiento con Atorvastatina. En población general, varias publicaciones han demostrado un descenso de la PCR tras el tratamiento con estatinas (Ridker PM, 1999; Ridker PM, 2001a; Ridker PM, 2001b). La mayoría de trabajos de la literatura de diseño similar que evalúan este aspecto en pacientes con LES tampoco encuentran cambios en la cuantificación de PCR ni en la de homocisteína, sin analizar otros marcadores inflamatorios (Costenbader KH, 2007; De Kruif MD, 2009; Petri M, 2011; Schamberg LE, 2012). Exclusivamente Ferreira et al, demuestra un descenso significativo en los niveles de homocisteína tras administrar Atorvastatina 20mg durante 8 semanas (Ferreira GA, 2007), Plazak et al en los niveles de PCR tras administrar Atorvastatina 40mg durante un año y Mok et al también en la PCR tras administrar Rosuvastatina 10mg durante 1 año (Mok CC, 2011). En todos ellos, al igual que en el nuestro, las cifras de homocisteína y PCRus antes de comenzar el tratamiento con estatinas se encontraban dentro del rango de la normalidad.

También en población general, se ha sugerido que el efecto de la Atorvastatina sobre la PCR podría ser dosis-dependiente (Singh U, 2008), por lo que la baja dosis que ha sido empleada en nuestro ensayo clínico podría ser la causa de la ausencia de resultados en este aspecto y explicaría la diferencia con otros trabajos que han empleado una dosis superior.

Tras el periodo sin Atorvastatina, observamos que la mejoría objetivada en las cifras medias de SLEDAI y de C3 se mantienen, nuevamente sin cambios en los niveles de anticuerpos anti-DNA, y todo ello sin que haya sido modificado a lo largo del estudio el tratamiento específico para el LES. Podríamos decir que el efecto inmunomodulador de las estatinas observado permanece durante al menos seis meses tras la suspensión del fármaco.

Los marcadores inflamatorios, no mostraron tampoco variación tras el periodo sin tratamiento. En uno de los trabajos que analiza la retirada del tratamiento con estatinas en población general, aunque se describe un descenso significativo de la PCRus tras un mes de tratamiento con Fluvastatina y Valsartán, no se monitoriza su evolución tras la retirada del fármaco (Lunder M, 2012), por lo que no disponemos de datos previos a este respecto.

#### **4. Efecto del tratamiento con atorvastatina en los parámetros de arterioesclerosis subclínica:**

En 2007 se publica el primer estudio que evalúa el efecto de la Atorvastatina sobre la disfunción endotelial en pacientes con LES. En un grupo de 64 pacientes que recibieron 20mg de Atorvastatina durante ocho semanas se observa un incremento significativo de la dilatación mediada por flujo (Ferreira GA, 2007).

En 2011, otros dos ensayos clínicos emplean Atorvastatina a una dosis de 40mg diarios durante periodos de tiempo distintos.

En el primero de ellos, el LAPS, se administra el fármaco durante dos años a 200 pacientes y se compara con un grupo placebo. No se encuentran, en este caso, diferencias en la evolución de la arterioesclerosis subclínica valorada como calcificación coronaria (medida mediante TC-coronario) y como incremento del GIM (medido con ecografía doppler carotídea). Sin embargo, un porcentaje mayor de pacientes mantenía un GIM sin cambios a lo largo del seguimiento en el grupo de Atorvastatina con respecto al grupo placebo (Petri M, 2011).

En el segundo trabajo, en el que se realiza un seguimiento tras un año de tratamiento hipolipemiente, se evalúa del mismo modo la evolución de la calcificación coronaria medida mediante TC y se añade un estudio de perfusión miocárdica mediante Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT). De una forma similar al trabajo previo, se evidencia progresión de la arterioesclerosis subclínica en el grupo placebo mientras que permanecen estables el volumen de las placas y la calcificación de las mismas en el grupo tratado con Atorvastatina, y la perfusión miocárdica no muestra variaciones en ninguno de los grupos (Plazak W, 2011).

Simultáneamente, se publica otro estudio de similares características en el que se evalúa el GIM, pero en este caso emplean Rosuvastatina 10mg al día durante un año. En esta publicación se evidencia una tendencia a la disminución del GIM en carótida interna, mientras que en el grupo tratado con placebo se muestra una tendencia hacia la progresión del mismo (Mok CC, 2011).

Nosotros, a diferencia de todos los trabajos previos, empleamos la medida de la rigidez arterial mediante VOP como parámetro de arterioesclerosis subclínica. Esta técnica por ser sencilla, reproducible y no invasiva, se convierte en una herramienta fácilmente generalizable. Además, evalúa los cambios iniciales en la pared arterial que sirven de asiento para el proceso de formación de la placa de ateroma, lo que nos permite evaluar el efecto del tratamiento con Atorvastatina sobre una fase precoz y, potencialmente con mayor reversibilidad de la que se esperaría observar en fases más evolucionadas de la enfermedad arterioesclerótica. Los pobres resultados obtenidos en los trabajos que analizan el impacto de las estatinas sobre la placa carotídea o la calcificación de la placa a nivel coronario anteriormente mencionados podrían ser debidos a que el análisis del daño se realiza en una fase avanzada de la enfermedad.

En nuestro estudio la VOP media de las pacientes con LES no sufre cambios significativos tras el periodo de tratamiento con estatinas. Al emplear técnicas de medida de arterioesclerosis subclínica diferentes, nuestros datos no son comparables con los estudios publicados con anterioridad en LES. Sin embargo, existen múltiples trabajos en población general que demuestran una reducción de la VOP tras periodos variables de tratamiento con estatinas (Smilde TJ, 2000; Ferrier KE 2002; Lunder M, 2011; Ratchford EV, 2011; Lunder M 2012; Kanaki AI, 2013).

Ante la ausencia de resultados en nuestra población y la discrepancia con los hallazgos observados en población general, decidimos buscar si existía algún subgrupo de pacientes concreto que presentase respuesta al tratamiento. Observamos una gran variabilidad en cuanto a la edad de las pacientes que incluimos en nuestro análisis (entre 23 y 80 años), parámetro que junto a la TA ha demostrado presentar una correlación directa con la medida de la VOP tanto en pacientes con LES (Castejón R, 2013) como en la población general (Mattace-Raso F, 2010), por lo que decidimos realizar un subanálisis en tres grupos de edad. De esta forma, tras el tratamiento con Atorvastatina objetivamos que la VOP sufre una tendencia a la reducción en el límite de la significación estadística en las pacientes de entre 36 y 59 años, sin objetivarse cambios en las pacientes menores de 35 ni en las de más de 60 años.

Por otra parte, al dividir a las pacientes entre las que presentan una VOP patológica o una VOP normal (según su TA y edad) al inicio del estudio, objetivamos un descenso significativo tras el tratamiento con estatinas en aquellas pacientes que partían de una VOP patológica. Es importante señalar que todas las pacientes excepto una de las que presentaban una VOP patológica de forma basal y respondieron al tratamiento pertenecían al grupo de edad entre 36 y 59 años.

Es sencillo pensar que, las pacientes más jóvenes del estudio presenten una mayor elasticidad arterial, próxima a la normalidad, y que, por tanto, tengan un menor margen de respuesta al tratamiento; del mismo modo que aquellas pacientes de mayor edad, que además de presentar una mayor rigidez arterial ya han sufrido cambios irreversibles a nivel de la estructura de la pared arterial y, por tanto, también presenten una menor respuesta al tratamiento. En esta línea, el trabajo de Schamberg et al realizado sobre niños y adolescentes, no objetiva cambios en la progresión del GIM tras un periodo de tratamiento con Atorvastatina al comparar con un grupo placebo

(Schamberg LE, 2012), lo que se ajusta a la idea que a edades tempranas no es posible objetivar cambios puesto que se parte de parámetros próximos a la normalidad.

De esta manera, definimos un grupo concreto de pacientes que responden al tratamiento con Atorvastatina a dosis de 20mg al día. Este grupo es el que presenta una VOP basal patológica que, en nuestro trabajo, se encontraba en el segmento de mediana edad.

En cuanto a la evolución de los parámetros de arterioesclerosis subclínica tras un periodo de suspensión del tratamiento con estatinas, como hemos comentado con anterioridad, no existe ningún estudio en pacientes con LES. Sólo dos trabajos realizados sobre población general evalúan esta circunstancia. En el primero de ellos, administran 10mg de Fluvastatina a 15 varones sanos y realizan medición de ambos parámetros tras 30 días de tratamiento y posteriormente al quinto, séptimo y octavo mes tras la suspensión del mismo. Al analizar los resultados, observan un incremento significativo de los valores medios de dilatación mediada por flujo y un descenso del valor medio de la VOP tras finalizar el tratamiento con Fluvastatina, manteniéndose dicha mejoría hasta el quinto mes tras la suspensión del tratamiento, para posteriormente volver a las cifras basales de forma progresiva (Lunder M, 2011). El segundo trabajo que publican un año más tarde, combina la administración de Fluvastatina 10mg con Valsartán 20mg, por los efectos sinérgicos que se le atribuyen a este último sobre los efectos pleiotrópicos de las estatinas, en 40 voluntarios sanos. En este caso objetivan un incremento de la dilatación mediada por flujo y un descenso de la VOP que se mantienen hasta el séptimo mes tras la suspensión del tratamiento y posteriormente se deterioran en el décimo mes de seguimiento (Lunder M, 2012).



Al igual que en los dos trabajos mencionados anteriormente, el incremento de la elasticidad arterial alcanzado por nuestro grupo de pacientes que presenta respuesta al tratamiento (el grupo con una VOP patológica al inicio del estudio), se mantiene a lo largo del tiempo, alcanzando a los seis meses cifras de VOP inferiores a las obtenidas tras los dos meses de intervención terapéutica. Al no haber realizado análisis posteriores desconocemos el momento exacto en el que la VOP comenzaría nuevamente a ascender y, por tanto, la duración de este efecto residual del tratamiento sobre la rigidez arterial. En nuestro caso, este efecto beneficioso es más prolongado que el observado en los estudios previos al administrar exclusivamente Fluvastatina (Lunder M, 2011), quizás por un efecto de clase de la Atorvastatina o por las diferencias en las poblaciones de estudio.

Dado que el incremento de la VOP se ha correlacionado con un riesgo aumentado de padecer eventos cardiovasculares y con un incremento de la mortalidad de origen cardiovascular (Laurent S, 2001; Mattace-Raso F, 2006; Mitchell GF, 2010) es posible que esta mejoría en la VOP que objetivamos en este grupo concreto de pacientes se traduzca en una reducción de los eventos cardiovasculares. Sería importante en el futuro la realización de estudios que evalúen específicamente el efecto del tratamiento con estatinas sobre la morbi-mortalidad cardiovascular de los pacientes con LES.

## **5. Influencia del tratamiento con Atorvastatina en la cuantificación de células endoteliales circulantes y células progenitoras endoteliales:**

Nuestros resultados demuestran un descenso del número de CPE en sangre periférica tras ocho semanas de tratamiento con Atorvastatina y una posterior vuelta a las cifras basales tras el periodo de suspensión del fármaco. Hasta ahora, ninguno de los trabajos de intervención terapéutica con estatinas en pacientes con LES evalúa el efecto de este fármaco en la cuantificación de las CPE.

En población general con enfermedad cardiovascular previa, se han realizado ensayos clínicos en los que se administran a los pacientes estatinas durante un mes, objetivando un incremento de las CPE en sangre periférica tras finalizar el tratamiento (Vasa M, 2001; Schmidt-Lucke C, 2010). Sin embargo, un trabajo realizado sobre pacientes con enfermedad coronaria, confirmada angiográficamente, a los que también se administran estatinas, evidencia que el porcentaje de CPE aumenta tras un mes de tratamiento, y al realizar un segundo análisis al tercer mes de tratamiento, el número de CPE desciende significativamente con respecto a la medición previa (Hristov M, 2006). Del mismo modo, Kuwana et al, administran a pacientes con esclerosis sistémica Atorvastatina y observan un pico máximo de CPE en sangre periférica tras un mes de tratamiento y posteriormente un descenso progresivo que llega a ser inferior a la cifra basal tras 24 meses de tratamiento (Kuwana M, 2009). Estos dos últimos trabajos apoyan la idea de que un periodo de tratamiento con estatinas, tras un incremento transitorio inicial, reduce el número de CPE en sangre periférica. Nuestros resultados son concordantes con esta teoría.

Es posible que si hubiéramos realizado una determinación del porcentaje de CPE al mes de iniciado el tratamiento con estatinas hubiéramos obtenido un número

superior con respecto a la cifra basal, objetivando el incremento transitorio de las mismas descrito por Hristov et al y Kuwana et al (Hristov M, 2006; Kuwana M, 2009).

Adicionalmente, se ha descrito que el tratamiento con estatinas incrementa la funcionalidad de la CPE. Este incremento supone un aumento de la adhesión y la incorporación de las CPE en el lugar de la lesión (Walter DH, 2002; Denny MF, 2007; Deng XL, 2010). Teniendo en cuenta que los pacientes con LES tienen una elevada demanda de regeneración endotelial, las CPE se unirían rápidamente a la pared endotelial para su reparación favorecidas por el tratamiento y, de esta forma, el número de CPEC se vería reducido tras la finalización del proceso reparativo.

Los cambios propiciados por el tratamiento con Atorvastatina en la concentración de CPE no se prolongan tras la suspensión del fármaco como hemos visto anteriormente en otros parámetros. En la determinación realizada tras el periodo de 6 meses sin tratamiento, los valores alcanzan nuevamente cifras similares a las del inicio del estudio. Estos resultados apoyan que dicho descenso está propiciado por el tratamiento con Atorvastatina, puesto que el resultado desaparece con la retirada del fármaco. Además, se encuentran en consonancia con la teoría de que el descenso de su número en sangre periférica se debe a la menor demanda por parte del endotelio ya reparado. De tal manera que, tras la retirada del fármaco, hipotéticamente se inicia la lesión a nivel del endotelio y se produce el aumento del número de CPE como respuesta a este nuevo incremento de la demanda de las mismas.

Estos sutiles cambios iniciales a nivel endotelial se producen mientras que se mantiene a lo largo del tiempo el incremento de la elasticidad arterial medida mediante

VOP y el descenso paralelo de las CAC. Esto nos lleva a pensar que los cambios que se producen en las CPE preceden a los de la VOP y que los efectos conseguidos sobre esta última son también transitorios. De tal manera que, si realizásemos una nueva determinación de la VOP transcurridos unos meses, las cifras volverían a la situación basal, del mismo modo que ocurría en los trabajos realizados por el equipo de Lunder (Lunder M, 2011; Lunder M, 2012). De forma conjunta, todos estos resultados sugieren que las CPE son un marcador temprano de arterioesclerosis subclínica, como ya se ha propuesto en trabajos previos (Werner N, 2005).

Tras realizar el análisis de la evolución de la VOP durante el estudio, dividiendo a las pacientes en grupos de edad y según presentasen una VOP normal o patológica al inicio del estudio, quisimos ver si existían también diferencias en cuanto al porcentaje de CPE en estos mismos grupos.

Aunque se evidencia un descenso y posterior incremento tras la retirada del fármaco en el porcentaje de las CPE en todos los grupos, éste es algo más evidente en el grupo de pacientes con VOP patológica al inicio del estudio y en el grupo de edad intermedia.

Estos datos, unidos a los obtenidos en la medida de la rigidez arterial, apoyarían la idea ya mencionada anteriormente, de que las pacientes con VOP patológica, que se encuentran en el tramo de edad intermedia, serían las que se podrían beneficiar de un tratamiento con Atorvastatina.

## **6. Efecto del tratamiento con Atorvastatina en la cuantificación de proteínas solubles:**

De los trabajos de características similares al nuestro, que ya hemos ido comentando con anterioridad, sólo tres evalúan la acción del tratamiento con estatinas sobre factores solubles, sin encontrar variación sobre las concentraciones de IL-6, IL-10, VCAM-1 y TNF $\alpha$  en dos de ellos (De Kruif, 2009; Petri M, 2011) y observando en otro un descenso de IL-6, IL-8 y MCP-1 (Ruiz-Limon P, 2014).

En nuestro trabajo, no encontramos variaciones tras el tratamiento ni tras la suspensión del mismo en los niveles plasmáticos de las citocinas anti-inflamatorias (IL-4 e IL-10) ni en la mayoría de las citocinas inflamatorias (IL-2, IL-6, TNF). Exclusivamente, los niveles de IFN $\gamma$  se incrementan tras la toma durante 2 meses de Atorvastatina y posteriormente este valor se mantiene tras la suspensión del tratamiento.

El IFN $\gamma$  colabora en el proceso de formación de la placa de ateroma (Banchereau J, 2006) y se ha planteado que sea el responsable del incremento de la apoptosis de células progenitoras hematopoyéticas en médula ósea de los pacientes con LES (Maciejewski JP, 1995; Papadaki HA, 2001). El tratamiento con estatinas se ha relacionado con una disminución de los niveles de IFN $\gamma$  en población general (Hu Z, 2007) y de los niveles de CXCL9 (monoquina regulada por IFN) en los pacientes con LES (Ferreira GA, 2010). En nuestro trabajo, los niveles de IFN $\gamma$  se incrementan, mientras que los parámetros de arterioesclerosis subclínica mejoran y los niveles de CD34+ no sufren modificaciones.

Observamos una tendencia a la reducción de los factores de crecimiento endotelial, que en el caso del VEGF alcanza la significación estadística, y de la molécula de adhesión sVCAM-1. Tras los seis meses de la suspensión del fármaco, el VEGF vuelve a cifras basales mientras que el resto continúan descendiendo. Estas moléculas en sangre periférica, actúan como marcadores de activación y disfunción endotelial, siendo los primeros mediadores del proceso de angiogénesis y el último una molécula de adhesión celular con expresión exclusiva en la superficie de la célula endotelial. Se ha descrito que presentan una correlación positiva con la arterioesclerosis subclínica (Colombo BM, 2009) y con mortalidad de origen cardiovascular (Gustaffson J, 2012). El descenso de estos mediadores tras la toma de Atorvastatina descrito en nuestro trabajo, junto a la modificación en la concentración de las CPE y los cambios en la VOP, apoyan la idea de que dicho fármaco tiene una acción a múltiples niveles sobre la arterioesclerosis subclínica.

De todos modos, la diversidad en la evolución de la concentración de las distintas proteínas solubles, hace que seamos cautos en la interpretación de estos resultados. La complejidad del proceso inflamatorio y de la formación de la arterioesclerosis, el solapamiento en las funciones de los mediadores, así como la influencia que ejercen unos sobre otros, hace difícil desenmarañar todo el proceso y dar una explicación acertada a unos hallazgos obtenidos en una determinación puntual. Los distintos resultados encontrados en los trabajos que evalúan los niveles de estos factores en LES y controles, así como sobre los que analizan los efectos de las estatinas sobre los mismos, son una traducción de este complicado proceso.

## **7. Parámetros de seguridad:**

Sólo una paciente de nuestro estudio tuvo que ser excluída por presentar una posible reacción alérgica al fármaco, que se resolvió tras la retirada del mismo.

No se observó un incremento significativo en los niveles de CK sérica ni de transaminasas tras finalizar el periodo de tratamiento con Atorvastatina.

Estos datos y los obtenidos en los estudios de mayor duración publicados (Petri M, 2011; Plazak W, 2011; Mok CC, 2011) hacen pensar que las estatinas son un fármaco seguro en los pacientes con LES, al igual que la práctica clínica diaria nos ha demostrado que lo son en población general.

**En resumen**, tras revisar la literatura y con los datos que disponemos hasta el momento, este es el primer estudio que evalúa el efecto del tratamiento con estatinas sobre la rigidez arterial utilizando como medida la velocidad de onda de pulso y sobre las células progenitoras endoteliales circulantes, así como la evolución tras la retirada del fármaco, en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico.

Tanto la formación de la placa de ateroma como el mecanismo de la inflamación, ampliamente relacionados, son procesos en los que intervienen múltiples elementos que interactúan entre sí. Por otra parte, las estatinas, con sus efectos pleiotrópicos, actúan a muchos de los niveles de los procesos anteriormente mencionados. Esto hace que la influencia del tratamiento con Atorvastatina sobre la arterioesclerosis subclínica sea un tema de una enorme complejidad, que hace difícil dar una explicación completa a todos los hallazgos obtenidos. De todos modos, nuestros datos aportan evidencia a un tema, como ya hemos mencionado, complejo y con resultados hasta el momento algo dispares.

De una forma discreta, observamos la acción inmunomoduladora de la Atorvastatina por la reducción en la actividad de la enfermedad de las pacientes, a pesar de que no lleguemos a evidenciar cambios en los niveles de los marcadores inflamatorios, ni en las citocinas pro-inflamatorias. Los efectos sobre la arterioesclerosis subclínica son más consistentes, observando un descenso de la VOP en aquellas pacientes que presentaban una VOP patológica al inicio del estudio, que mayoritariamente se encuentran en un rango de edad de entre 36 y 59 años. En cuanto a las células progenitoras endoteliales, el tratamiento con estatinas produce un descenso en las mismas que aunque es visible en todos los grupos de edad, es algo



más marcado en el de mediana edad. Este descenso sería el reflejo de un endotelio ya reparado.

La suspensión del tratamiento durante 6 meses y la posterior evaluación de todos los parámetros, nos ha permitido observar una característica interesante de la Atorvastatina. Los efectos obtenidos sobre la elasticidad arterial, la actividad de la enfermedad, factores de riesgo cardiovascular como la tensión arterial diastólica y el colesterol HDL y factores solubles como el sVCAM-1, se mantienen a lo largo del tiempo e incluso, en algunos de ellos, mejoran una vez retirado el fármaco. En el caso de las células progenitoras endoteliales no se evidencia este efecto prolongado. Esta población celular vuelve a los valores basales tras la suspensión del fármaco, lo que hace pensar que la mejoría en la rigidez arterial es transitoria y sugiere, como ya se ha descrito con anterioridad, que son un marcador temprano de arterioesclerosis subclínica (Werner N, 2005).

Si a la mejora en la rigidez arterial, que ha demostrado estar relacionada con la mortalidad de origen cardiovascular (Laurent S, 2001; Mattace-Raso F, 2006; Mitchell GF, 2010), sumamos el efecto directo sobre factores de riesgo como son el LDL-colesterol y, probablemente, las cifras de tensión arterial diastólica, es posible que el tratamiento con Atorvastatina se traduzca en una reducción de eventos cardiovasculares en este grupo de pacientes con una alta tasa de mortalidad cardiovascular. Sería interesante confirmar estos resultados con una población más amplia y poder evaluar su impacto sobre la morbi-mortalidad cardiovascular de dichos pacientes.

A pesar de las limitaciones del trabajo, en el que estudiamos una población de pequeño tamaño y un corto periodo de administración del fármaco (dos meses), estos resultados apuntan a que un grupo seleccionado de pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico, aquellos de mediana edad que presenten una VOP patológica, podrían beneficiarse del tratamiento con estatinas.

Es posible que la mayoría de trabajos previos no hayan obtenido resultados satisfactorios a este respecto porque se han realizado sin tener en cuenta los distintos rangos de edad, además de que emplearon técnicas de medida de arterioesclerosis en fases ya avanzadas en que, presumiblemente, ya no sea reversible el proceso. Los modelos que se diseñen en un futuro deberían tener en cuenta estos dos importantes factores.

## *Conclusiones*

De los resultados obtenidos podemos obtener las siguientes conclusiones:

1. A nivel de factores de riesgo cardiovascular modificables, el periodo de tratamiento con Atorvastatina durante dos meses se traduce en una reducción en el colesterol total y el LDL-colesterol que posteriormente vuelve a los niveles basales tras la suspensión del fármaco durante 6 meses.
2. El tratamiento con Atorvastatina parece reducir la actividad del LES, disminuyendo los niveles medios de SLEDAI e incrementando los niveles de complemento C3, a pesar de que no se ven modificados los anticuerpos anti-DNA ni las concentraciones plasmáticas de marcadores inflamatorios. Esta mejoría de la actividad tras el tratamiento se mantiene al menos durante seis meses tras la suspensión del mismo.
3. Un periodo de tratamiento con Atorvastatina 20mg durante 8 semanas produce una mejoría de la elasticidad arterial medida mediante velocidad onda de pulso en el grupo de pacientes con una velocidad onda de pulso basal patológica, que se distribuyen en el tramo de edad comprendida entre los 36 y los 59 años. Este incremento de la elasticidad se mantiene 6 meses tras la suspensión del tratamiento.

4. Tras el tratamiento con Atorvastatina se produce una reducción en el porcentaje de células progenitoras endoteliales circulantes que es reversible tras la retirada del fármaco. Estos cambios son más evidentes en el grupo de pacientes con edad comprendida entre los 36 y los 59 años y en aquellas con velocidad de onda de pulso patológica al inicio del estudio.
  
5. No se observan cambios en las en las citocinas inflamatorias y anti-inflamatorias, pero sí una mejoría clara del VEGF y en la sVCAM-1.
  
6. La Atorvastatina es un fármaco seguro en los pacientes con LES, como demuestra nuestro escaso número de efectos adversos y la estabilidad del perfil hepático y la CPK a lo largo del seguimiento.

## *Bibliografía*

Abu-Shakra M, Urowitz MB, Gladman DD, Gough J. Mortality studies in systemic lupus erythematosus. Results from a single center I. Causes of death. *The Journal of Rheumatology* 1995; 22(7): 1259-1264.

Abud-Mendoza C, de la fuente H, Cuevas-Orta E, Baranda L, Cruz-Rizo J, González-Amaro R. Therapy with statins in patients with refractory rheumatic diseases: a preliminary study. *Lupus* 2003; 12: 607-611.

Amuro H, Ito T, Miyamoto R, Sugimoto H, Torii Y, Son Y, Nakamichi N, Yamazaki C, Hoshino K, Kaisho T, Ozaki Y, Inaba M, Amakawa R, Fukuhara S. Statins, inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase, function as inhibitors of cellular and molecular components involved in type I Interferon production. *Arthritis and rheumatism* 2010; 62 (7): 2073-2085.

Asanuma Y, Oeser A, Shintani A, Turner E, Olsen N, Fazio S, Linton MF, Raggi P, Stein CM. Premature coronary-artery atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *The New England Journal of Medicine* 2003; 349: 2407-2415.

Asanuma Y, Chung C, Oeser A, Shintani A, Stanley E, Raggi P, Stein CM. Increased concentration of proatherogenic inflammatory cytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to cardiovascular risk factors. *The Journal of Rheumatology* 2006; 33 (3): 539-545.

Baker JF, Zhang L, Imadojemu S, Sharpe A, Patil S, Moore JS, Mohler ER, Von Feldt J. Circulating endothelial progenitor cells are reduced in SLE in the absence of coronary artery calcification. *Rheumatology International* 2012; 32:997-1002.

Ballantyne CM, Herd JA, Dunn JK, Jones PH, Farmer JA, Gotto AMJ. Effects of lipid lowering therapy on progression of coronary and carotid artery disease. *Current Opinion in Lipidology* 1997;8:354 –361.

Banchereau J, Pascual V. Type I Interferon in Systemic Lupus Erythematosus and other autoimmune diseases. *Inmunity* 2006; 25: 383 - 392.

Bernatsky S, Boivin J.-F, Joseph L, Manzi S, Ginzler E, Gladman D, Urowitz M, Fortin PR, Petri M, Barr S, Gordon C, Bae SC, Isenberg D, Zoma A, Aranow C, Dooley MA, Nived O, Sturfelt G, Steinsson K, Alarcón G, Senécal JL, Zummer M, Hanly J, Ensworth S, Pope J, Edworthy S, Rahman A, Sibley J, El-Gabalawy H, McCarthy T, St Pierre Y, Clarke A, Ramsey-Goldman R. Mortality in systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism* 2006; 54(8): 2550-2557.

Bóyum AJ. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 1968; 21: 77-89.

Bruce IN, Urowitz M, Gladman D, Ibañez D, Steiner G. Risk factors for coronary heart disease in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism* 2003; 48(11): 3159-3167.

Buckley BH, Roberts W. The heart in systemic lupus erythematosus and the changes induced in it by corticosteroid therapy. *The American Journal of Medicine* 1975; 58: 243-264.

Cacciapaglia F, Zardi EM, Coppolino G, Buzzulini F, Margiotta D, Arcarese L, Vadacca M, Amoroso A, Afeltra A. Stiffness parameters, intima-media thickness and early atherosclerosis in systemic lupus erythematosus patients. *Lupus* 2009; 18(3): 249-256.

Castejón R, Jiménez-Ortiz C, Valero-González S, Rosado S, Mellor S, Yebra-Bango M. Decreased circulating endothelial progenitor cells as an early risk factor of subclinical atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2014; 53(4): 631-638.



Colombo BM, Murdaca G, Caiti M, Rodriguez G, Grassia L, Rossi E, Indiveri F, Puppo F. Intima-media thickness: a marker of accelerated atherosclerosis in women with systemic lupus erythematosus. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2007; 1108: 121-126.

Colombo BM, Cacciapaglia F, Puntoni M, Murdaca G, Rossi E, Rodriguez G, Nobili F, Pisciotta L, Bertolini S, Moccetti T, Dentali F, Steidl L, Ciprandi G, Afeltra A, Indiveri F, Puppo F. Traditional and non traditional risk factors in accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus: role of vascular endothelial growth factor (VEGATS Study). *Autoimmunity Reviews* 2009; 8(4): 309-315.

Costenbader KH, Liang MH, Chibnik LB, Aizer J, Kwon H, Gall V, Karlson EW. A pravastatin dose-escalation study in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology International* 2007; 27: 1071-1077.

Crisby M, Nordin-Fredriksson G, Shah PK, Yano J, Zhu J, Nilsson J. Pravastatin treatment increases collagen content and decreases lipid content, inflammation, metalloproteinases, and cell death in human carotid plaques: implications for plaque stabilization. *Circulation* 2001; 103: 926-933.

Davignon J. Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins. *Circulation* 2004; 109: III 39-43.

Deng XL, Li XX, Liu XY, Sun L, Liu R. Comparative study on circulating endothelial progenitor cells in systemic lupus erythematosus patients at active stage. *Rheumatology Int* 2010; 30: 1429-1436.

Denny MF, Thacker S, Mehta H, Somers EC, Dodick T, Barrat FJ, McCune WJ, Kaplan MJ. Interferon- $\alpha$  promotes abnormal vasculogenesis in lupus: a potential pathway for premature atherosclerosis. *Blood* 2007; 110: 2907-2915.

De Kruif MD, Limper M, Hansen HR, De Ruiter J, Spek CA, Van Gorp ECM, Ten Berge J, Rowshani AT, Ten Cate H, Meesters EW. Effects of a 3-month course of rosuvastatin in patients with systemic lupus erythematosus. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2009; 68:1654.

Dimmeler S, Aicher A, Vasa M, Mildner-Rihm C, Alder K, Tiemann M, Rutten H, Fichtlscherer S, Martin H, Zeiher AM. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via PI 3-kinase / Akt pathway. *The Journal of Clinical Investigation* 2001; 108: 391-397.

Downs JR, Clearfield M, Weis S, Whitney E, Shapiro DR, Beere PA, Langendorfer A, Stein EA, Kruyer W, Gotto AM. The AFCAPS/TexCAPS Research Group. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels. Results of AFCAPS/TexCAPS. *JAMA* 1998; 279 (20): 1615-1622.

Ebner P, Picard F, Richter J, Darrelmann E, Schneider M, Strauer B, Brehm M. Accumulation of VEGFR-2+/CD133+ cells and decreased number and impaired functionality of CD34+/VEGFR-2+ cells in patients with SLE. *Rheumatology* 2010; 49: 63-72.

El-Magadmi M, Bodill H, Ahmad Y, Durrington PN, Mackness M, Walker M, Bernstein RM, Bruce INN. Systemic lupus erythematosus: an independent risk factor for endothelial dysfunction in women. *Circulation* 2004; 110(4): 399-404.

Elshal M, Abdelaziz A, Abbas A, Mahmoud K, Fathy H, El Mongy S, El-Basyuoni S, Ahmed H, McCoy P. Quantification of circulating endothelial cells in peripheral blood of systemic lupus erythematosus patients: a simple and reproducible method of assessing endothelial injury and repair. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*:

*Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2009; 24(5): 1495-1499.

Esdaille J, Abrahamowicz M, Grodzicky T, Li Y, Panaritis C, Du Berger R, Côte R, Grover SA, Fortin PR, Clarke AE, Sénécal JL. Traditional Framingham risk factors fail to fully account for accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism* 2001; 44(10): 2331-2337.

Fernández M, McGwin G, Andrade R, Bastian HM, Fessler BJ, Reveille JD, Vilá LM, Alarcón GS. Systemic lupus erythematosus in a multiethnic US cohort, LUMINA (XLIX): Preliminary Evaluation of the Impact of Statins on Disease Activity. *Journal of Clinical Rheumatology* 2008; 14(3): 178-180.

Ferreira GA, Navarro TP, Telles RW, Andrade LEC, Sato EI. Atorvastatin therapy improves endothelial-dependent vasodilation in patients with systemic lupus erythematosus: an 8 weeks controlled trial. *Rheumatology* 2007; 46: 1560-1565.

Ferreira GA, Teixeira AL, Sato EI. Atorvastatin therapy reduces interferon-regulated chemokine CXCL9 plasma levels in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2010; 19: 927-934.

Ferrier KE, Muhlmann MH, Baguet JP, Cameron JD, Jennings GL, Dart AM, Kingwell BA. Intensive cholesterol reduction lowers blood pressure and large artery stiffness in isolated systolic hypertension. *Journal of the American College of Cardiology* 2002; 39(6): 1020-1025.

Ghittoni R, Napolitani G, Benati D, Ulivieri C, Patrussi L, Laghi Pasini F, Lanzavecchia A, Baldari CT. Simvastatin inhibits the MHC class II pathway of antigen presentation by impairing Ras superfamily GTPases. *European Journal of Immunology* 2006; 36: 2885-2893.

Gladman D, Ginzler E, Goldsmith C, Fortin P, Liang M, Urowitz M, Bacon P, Bombardieri S, Hanly J, Hay E, Isenberg D, Jones J, Kalunian K, Maddison P, Nived O, Petri M, Richter M, Sanchez-Guerrero J, Snaith M, Sturfelt G, Symmons D, Zoma A. The development and initial validation of the systemic lupus international collaborating clinics/American college of rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism* 1996; 39: 363-369.

Greenwood J, Steinman L, Zamvil SS. Statin therapy and autoimmune disease: from protein prenylation to immunomodulation. *Nature Reviews Immunology* 2006; 6: 358-370.

Grisar J, Steiner CW, Bonelli M, Karonitsch T, Schwarzinger I, Weigel G, Steiner G, Smolen JS. Systemic lupus erythematosus patients exhibit functional deficiencies of endothelial progenitor cells. *Rheumatology* 2008;47:1476-1483.

Grundy SM. The issue of statin safety: where do we stand?. *Circulation* 2005; 111(23): 3016-3019.

Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, MD; Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC, Jr, MD; Spertus JA, MD; Costa F. Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome. An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005; 112(17): 2735-2752.

Gustafsson J, Simard JF, Gunnarsson I, Elvin K, Lundberg IE, Hansson LO, Larsson A, Svenungsson E. Risk factors for cardiovascular mortality in patients with systemic lupus erythematosus, a prospective cohort study. *Arthritis Research & Therapy* 2012; 14: R46.

Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *The New England Journal of Medicine* 2005; 352: 1685-1695.

Hristov M, Fach C, Becker C, Heussen N, Liehn EA, Blindt R, Hanrath P, Weber C. Reduced numbers of circulating endothelial progenitor cells in patients with coronary artery disease associated with long-term statin treatment. *Atherosclerosis* 2007; 192: 413-420.

Hu Z, Li D, Hu Y, Yang K. Changes of CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with acute coronary syndrome and the effects of atorvastatin. *Journal of Huazhong University of Science and Technology Medical Sciences* 2007; 27(5): 524-527.

Jiménez C, Marco V. Doppler velocity analysis in occlusion and normal carotid arteries. *Cerebrovascular diseases* 2003; 16 Suppl 2:21.

Jonsson H, Nived O, Sturfelt G. Outcome in systemic lupus erythematosus: a prospective study of patients from a defined population. *Medicine (Baltimore)* 1989; 68(3): 141-150.

Kahlenberg JM, Thacker SG, Berthier CC, Cohen CD, Kretzler M, Kaplan MJ. Inflammasome activation of IL-18 results in endothelial progenitor cell dysfunction in systemic lupus erythematosus. *Journal of Immunology* 2011; 187: 6143-6156.

Kanaki IA, Sarafidis PA, Georgianos PI, Kanavos K, Tziolas IM, Zebekakis PE, Lasaridis AN. Effects of low-dose Atorvastatin on arterial stiffness and central aortic pressure augmentation in patients with hypertension and hypercholesterolemia. *American Journal of Hypertension* 2013; 26(5): 608-616.

Kashni A, Phillips CO, Foody JM. Risks associates with statin therapy. *Circulation* 2006: 2788-2797.

Khan SS, Solomon MA, McCoy JP Jr. Detection of circulating endothelial cells and endothelial progenitor cells by flow cytometry. *Cytometry Part B (Clinical Cytometry)* 2005; 64B: 1-8.

Kho KK, Quon MJ, Han SH, Lee Y, Kim SJ, Shin EK. Atorvastatin causes insulin resistance and increases ambient glycemia in hypercholesterolemic patients. *Journal of the American College of Cardiology* 2010; 55: 1209-1216.

Kiani AN, Post WS, Magder LS, Petri M. Predictors of progression in atherosclerosis over 2 years in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2011; 50: 2071-2079.

Kiani AN, Vogel-Claussen J, Arbab-Zadeh A, Magder LS, Lima J, Petri M. Semiquantified noncalcified coronary plaque in systemic lupus erythematosus. *The Journal of Rheumatology* 2012; 39(12): 2286-2293.

Kotyla PJ, Sliwinska-Kotyla B, Kucharz EJ. Tumor necrosis factor-alpha as a potential target in the treatment of systemic lupus erythematosus: a role for the HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin. *The Journal of Rheumatology* 2006; 33(11): 2361-2363.

Kureishi Y, Luo Z, Shiojima I, Balik A, Fulton D, Lefer DJ, Sessa WC, Walsh K. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. *Nature Medicine* 2000; 6(9): 1004-1010.

Kuryliszyn-Moskal A, Klimiuk P, Ciolkiewicz M, Sierakowski S. Clinical significance of selected endothelial activation markers in patients with systemic lupus erythematosus. *The Journal of Rheumatology* 2008; 35: 1307-1313.

Kuwana M, Okazaki Y, Kaburaki J. Long-term beneficial effects of statins on vascular manifestations in patients with systemic sclerosis. *Modern Rheumatology* 2009; 19: 530-535.

Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, Ducimetiere P, Benetos A. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension* 2001; 37: 1236-1241.

Lee PY, Li Y, Richards HB, Chan FS, Zhuang H, Narain S, Butfiloski EJ, Sobel ES, Reeves WH, Segal MS. Type I interferon as a novel risk factor for endothelial progenitor cell depletion and endothelial dysfunction in systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism* 2007; 56(11): 3759-3769.

Leeuw K, Smit AJ, Groot E, Van Roon AM, Kallenberg CG, Bijl M. Longitudinal study on premature atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Atherosclerosis* 2009; 206: 546-550.

Lima DS, Sato EI, Lima VC, Miranda F Jr, Hatta FH. Brachial endothelial function is impaired in patients with systemic lupus erythematosus. *The Journal of Rheumatology* 2002; 29(2): 292-297.

Llavadot J, Murasawa S, Kureishi Y, Uchida S, Masuda H, Kawamoto A, Walsh K, Isner JM, Asahara T. HMG-CoA reductase inhibitor mobilizes bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *The Journal of Clinical Investigation* 2001; 108: 399-405.

Lunder M, Janica M, Habjana S, Sabovic M. Subtherapeutic, low-dose fluvastatin improves functional and morphological arterial wall properties in apparently healthy, middle-aged males – a pilot study. *Atherosclerosis* 2011; 215: 446-451.

Lunder M, Janic M, Jug B, Sabovic M. The effects of low-dose fluvastatin and valsartan combination on arterial function: A randomized clinical trial. *European Journal of Internal Medicine* 2012; 23: 261-266.

Maciejewski JP, Selleri C, Sato T, Anderson S, Young NS. Increased expression of Fas antigen on bone marrow CD34+ cells of patients with aplastic anaemia. *British Journal of Haematology*, 1995; 91: 245-252.

Maksimowicz-McKinnon K, Magder L, Petri M. Predictors of carotid atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *The Journal of Rheumatology* 2006; 33: 2458-2463.

Manzi S, Meilahn E, Rairie J, Conte C, Medsger T Jr, Jansen-McWilliams L, D'Agostino RB, Kuller LH. Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: comparison with Framingham study. *American Journal of Epidemiology* 1997; 145(5): 408-415.

Maron DJ, Fazio S, Linton MF. Current perspectives on statins. *Circulation* 2000; 101: 207-231.

Mattace-Raso FUS, van der Cammen TJM, Hofman A, van Popele NM, Bos ML, Schalekamp MADH, Asmar R, Reneman RS, Hoeks APG, Breteler MMB, Witteman JCM. Arterial stiffness and risk of coronary heart disease and stroke: The Rotterdam Study. *Circulation* 2006; 113: 657-663.

Mattace-Raso F, The Reference Values for Arterial Stiffness Collaboration. Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: 'establishing normal and reference values'. *European Heart Journal* 2010; 31: 2338-2350.



Mausner-Fainberg K, Luboshits G, Mor A, Maysel-Auslender S, Rubinstein A, Keren G, George J. The effect of HMG-CoA reductase inhibitors on naturally occurring CD4+CD25+ T cells. *Atherosclerosis* 2008; 197(2): 829-839.

McMahon M, Hahn B. Atherosclerosis and systemic lupus erythematosus – mechanistic basis of the association. *Current Opinion in Immunology* 2007; 19: 633-639.

Mehra VC, Ramgolam VS, Bender JR. Cytokines and cardiovascular disease. *Journal of Leukocyte Biology* 2005; 78(4): 805-818.

Meroni PL, Luzzana C, Ventura D. Anti-inflammatory and immunomodulating properties of statins. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology* 2002; 23: 263-277.

Mitchell GF, Hwang S, Vasan RS, Larson MG, Pencina MJ, Hamburg NM, Vita JA, Levy D, Benjamin EJ. Arterial stiffness and cardiovascular events: The Framingham Heart Study. *Circulation* 2010; 121: 505-511.

Mok CC, Wong CK, To CH, Shan Lai JP, Sum Lam C. Effects of rosuvastatin on vascular biomarkers and carotid atherosclerosis in lupus: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Care & Research* 2011; 63(6): 875-883.

Moonen JR AJ, de Leeuw K, Gallego XJ, van Seijen Y, Kalleberg C GM, van Luyn M JA, Bijl M, Harmsen MC. Reduced number and impaired function of circulating progenitor cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Research & Therapy* 2007; 9(4): R84.

Muldoon MF, Barger SD, Ryan CM, Flory JD, Lehoczky JP, Matthews KA, Manuck SB. Effects of lovastatin on cognitive function and psychological well-being. *The American Journal of Medicine* 2000; 108: 538.

Papadaki HA, Boumpas DT, Gibson FM, Jayne DR, Axford JS, Gordon-Smith EC, Marsh JCW, Elipoulos GD. Increased apoptosis of bone marrow CD34+ cells and impaired function of bone marrow stromal cells in patients with systemic lupus erythematosus. *British Journal of Haematology* 2001; 115: 167-174.

Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, Zhu Z, Lane WJ, Williams M, OZ MC, Hicklin DJ, Witte L, Moore MA, Rafii S. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood* 2000; 95: 952-958.

Petri M, Perez-Gutthann S, Spence D, Hochberg M. Risk factors for coronary artery disease in patients with systemic lupus erythematosus. *The American Journal of Medicine* 1992; 93: 513-519.

Petri M, Kim MY, Kalunian KC, Grossman J, Hahn BH, Sammaritano LR, Lockshin M, Merrill JT, Belmont HM, Askanase AD, McCune WJ, Heath-Holmes M, Dooley MA, Von Feldt J, Friedman A, Tan M, Davis J, Cronin M, Diamond B, Mackay M, Sigler L, Fillius M, Rupel A, Licciardi F, Buyon JP, for the OC-SELENA Trial. Combined oral contraceptives in women with systemic lupus erythematosus. *The New England Journal of Medicine* 2005; 353: 2550-2558.

Petri M, Kiani AN, Post W, Christopher-Stine L, Magder LS. Lupus Atherosclerosis Prevention Study (LAPS). *Annals of the Rheumatic Diseases* 2011; 70: 760-765.

Plazak W, Gryga K, Dziedzic H, Tomkiewicz-Pajak L, Konieczynska M, Podolec P, Musial J. Influence of atorvastatin on coronary calcifications and myocardial

perfusion defects in systemic lupus erythematosus patients: a prospective, randomized, double-masked, placebo-controlled study. *Arthritis Research & Therapy* 2011; 13R: 117.

Poredos P. Intima-media thickness: indicator of cardiovascular risk and measure of the extent of atherosclerosis. *Vascular Medicine* 2004; 9(1): 46-54.

Rahman P, Urowitz M, Gladman D, Bruce IN, Genest J Jr. Contribution of traditional risk factors to coronary artery disease in patients with systemic lupus erythematosus. *The Journal of Rheumatology* 1999; 26(11): 2363-2368.

Rajagopalan S, Somers EC, Brook RD, Kehrer C, Pfenninger D, Lewis E, Chakrabarti A, Richardson BC, Shelden E, McCune WJ, Kaplan MJ. Endothelial cell apoptosis in systemic lupus erythematosus: a common pathway for abnormal vascular function and thrombosis propensity. *Blood* 2004; 103(10): 3677-3683.

Ratchford EV, Gutierrez J, Lorenzo D, McClendon MS, Della-Morte D, De Rosa JT, Elkind MS, Sacco RL, Rundek T. Short-term effect of atorvastatin on carotid artery elasticity: a pilot study. *Stroke* 2011; 42 (12): 3460-3464.

Rho YH, Chung CP, Oeser A, Solus J, Raggi P, Gebretsadik T, Shintani A, Stein CM. Novel cardiovascular risk factors in premature coronary atherosclerosis associated with systemic lupus erythematosus. *The Journal of Rheumatology* 2008; 35(9): 1789-1794.

Ridker PM, Rifai N, Pfeffer M, Sacks F, Braunwald E. Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. *Circulation* 1999; 100: 230-235.

Ridker PM, Rifai N, Lowenthal SP. Rapid reduction in C-reactive protein with cerivastatin among 785 patients with primary hypercholesterolemia. *Circulation* 2001 a; 103:1191-1193.

Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, Downs JR, Weis SE, Miles JS, Gotto AM. Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. *The New England Journal of Medicine* 2001 b; 344 (26): 1959-1965.

Rodríguez-Carrio J, Prado C, De Paz B, López P, Gómez J, Alperi-López M, Ballina-García FJ, Suárez A. Circulating endothelial cells and their progenitors in systemic lupus erythematosus and early rheumatoid arthritis patients. *Rheumatology* 2012; 51:1775-1784.

Roman M, Shanker B-A, Davis A, Lockshin M, Sammaritano L, Simantov R, Crow MK, Schwartz JE, Paget SA, Devereux RB, Salmon JE. Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *The New England Journal of Medicine* 2003; 349: 2399-2406.

Roman M, Crow M, Lockshin M, Devereux R, Paget S, Sammaritano L, Levine DM, Davis A, Salmon JE. Rate and determinants of progression of atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism* 2007; 56(10): 3412-3419.

Romero-Díaz J, Vargas-Vóracková F, Kimura-Hayama E, Cortázar-Benítez LF, Gijón-Mitre R, Criales S, Cabiedes-Contreras J, Iñiguez-Rodríguez MR, Lara-García EA, Núñez-Alvarez C, Llorente L, Aguilar-Salinas C, Sánchez-Guerrero J. Systemic lupus erythematosus risk factors for coronary artery calcifications. *Rheumatology* 2012; 51: 110-119.

Rosenson RS. Current overview of statin-induced myopathy. *The American Journal of Medicine* 2004; 116 (6): 408-416.

Rubin LA, Urowitz MB, Gladman DD. Mortality in systemic lupus erythematosus: the bimodal pattern revisited. *The Quarterly Journal of Medicine* 1985; 55(216): 87-98.

Ruiz-Limon P, Barbarroja N, Perez-Sanchez C, Aguirre MA, Bertolaccini ML, Khamasta MA, Rodriguez-Ariza A, Almadén Y, Segui P, Khraiweh H, Gonzalez-Reyes JA, Villalba JM, Collantes-Estevez E, Cuadrado MJ, Lopez-Pedrerera C. Atherosclerosis and cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus: effects of in vivo statin treatment. *Annals of the Rheumatic Diseases*; 2014; 0: 1-9.

Sabio JM, Zamora-Pasadas M, Jiménez-Jáimez J, Albadalejo F, Vargas-Hitos J, Rodríguez del Águila MDM, Hidalgo-Tenorio C, Gonzalez-Gay MA, Alonso JJ. Metabolic syndrome in patients with systemic lupus erythematosus from southern Spain. *Lupus* 2008; 17: 849-859.

Schanberg LE, Sandborg C, Barnhart HX, Ardoin SP, Yow E, Evans GW, Mieszkalski KL, Ilowite NT, Eberhard A, Imundo LF, Kimura Y, von Scheven E, Silverman E, Bowyer SL, Punaro M, Singer NG, Sherry DD, McCurdy D, Klein-Gitelman M, Wallace C, Silver R, Wagner-Weiner L, Higgins GC, Brunner HI, Jung L, Soep JB, Reed AM, Provenzale J, Thompson SD. Use of atorvastatin in systemic lupus erythematosus in children and adolescents. *Arthritis & rheumatism* 2012; 64 (1): 285-296.

Schimdt-Lucke C, Fichtlscherer S, Rossig L, Kamper U, Dimmeler S. Improvement of endothelial damage and regeneration indexes in patients with coronary artery diseases after 4 weeks of statin therapy. *Atherosclerosis* 2010; 211: 249-254.

Sever PS, Dahlöf B, Poulter NR, Wedel H, Beevers G, Caulfield M, Collins R, Kjeldsen SE, Kristinsson A, Mclnnes GT, Nieminen M, O'Brien E, Ostergren J; ASCOT investigators. Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial--Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2003; 361: 1149-1158.

Shang Q, Tam LS, Li EK, Yip GW, Yu CM. Increased arterial stiffness correlated with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2008; 17(12): 1096-1102.

Shantsila E, Watson T, Lip GYH. Endothelial progenitor cells in cardiovascular disorders. *Journal of the American College of Cardiology* 2007; 49(7): 741-752.

Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, MacFarlane PW, McKillop JH, Packard CJ. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *The New England Journal of Medicine* 1995; 333(20): 1301-1307.

Singh U, Devaraj S, Jialal I, Siegel D. Comparison effect of atorvastatin (10 versus 80 mg) on biomarkers of inflammation and oxidative stress in subjects with metabolic syndrome. *American Journal of Cardiology* 2008; 102: 321-325.

Smilde TJ, van den Bergmortel FW, Wollersheim H, van Langen H, Kastelein JJ, Stalenhoef AF. The effect of cholesterol lowering on carotid and femoral artery wall stiffness and thickness in patients with familial hypercholesterolaemia. *European Journal of Clinical Investigation* 2000; 30 (6): 473-480.

Sollet A. Estudio preliminar del efecto de la atorvastatina en la modulación de la rigidez arterial y los marcadores biológicos implicados en la arterioesclerosis subclínica en pacientes con lupus eritematoso sistémico. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid.

Somers EC, Zhao W, Lewis EE, Wang L, Wing JJ, Sundaram B, Kazerooni EA, McCune WJ, Kaplan MJ. Type I interferons are associated with subclinical markers of cardiovascular disease in a cohort of systemic lupus erythematosus patients. *PLoS ONE* 2012; 7(5): e37000.

Sozer V, Uzun H, Gelisgen R, Kaya M, Kalayci R, Tabak O, Arican N, Konukoglu D. The effects of atorvastatin on oxidative stress in L-NAME treated rats. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 2013; 73(7): 591-597.

Sposito AC, Mansur AP, Coelho OR, Nicolau JC, Ramires JA. Additional reduction in blood pressure after cholesterol-lowering treatment by statins (lovastatin or pravastatin) in hypercholesterolemic patients using angiotensin-converting enzyme inhibitors (enalapril or lisinopril). *American Journal of Cardiology* 1999; 83: 1497-1499.

Steinnetz M, Pelster B, Lucanus E, Arnal JF, Nickenig G, Werner N. Atorvastatin-induced increase in progenitor cell levels is rather caused by enhanced receptor activation of NF-kappaB ligand (RANKL) cell proliferation than by bone marrow mobilization. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2013; 57: 32-42.

Tristano AG, Fuller K. Immunomodulatory effects of statins and autoimmune rheumatic diseases: novel intracellular mechanism involved. *International Immunopharmacology* 2006; 6: 1833-1846.

Urowitz M, Bookman A, Koehler B, Gordon D. The bimodal mortality pattern of systemic lupus erythematosus. *The American Journal of Medicine* 1976; 60: 221-225.

Urowitz M, Ibañez D, Gladman D. Atherosclerotic vascular events in a single large lupus cohort: prevalence and risk factors. *The Journal of Rheumatology* 2007; 34: 70-75.

Valdivielso P, Gómez-Doblas J.J, Macias M, Haro-Liger M, Fernández-Nebro A, Sánchez-Chaparro M.A, González-Santos P. Lupus-associated endothelial dysfunction, disease activity and arteriosclerosis. *Clinical and Experimental Rheumatology* 2008; 26: 827-833.

Vasa M, Fichtlscherer S, Adler K, Aicher A, Martin H, Zeiher AM, Dimmeler S. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation* 2001; 103: 2885-2890.

Walter DH, Rittig K, Bahlmann FH, Kirchmair R, Silver, M, Murayama T, Nishimura H, Losordo DW, Asahara T, Isner JM. Statin therapy accelerates reendothelization: a novel effect involving mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Circulation* 2002; 105: 3017-3024.

Werner N, Kosiol S, Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, Link A, Böhm M, Nickenig G. Circulating Endothelial Progenitor Cells and Cardiovascular Outcomes. *The New England Journal of Medicine* 2005; 353: 999-1007.

Westerweel PE, Luijten RK, Hoefer IE, Koomans HA, Derksen RH, Verhaar MC. Haematopoietic and endothelial progenitor cells are deficient in quiescent systemic lupus erythematosus. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2007; 66(7): 865-870.



WOSCOPS Study Group. Influence of pravastatin and plasma lipids on clinical events in the West of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). *Circulation* 1998; 97: 1440-1445.

Yamazaki T, Nohara R, Daida H, Mitsumasa H, Kaku K, Kawamori R, Kishimoto J, Kurabayashi M, Masuda I, Sakuma I, Yokoi H, Yoshida M. Intensive lipid-lowering therapy for slowing progression as well as inducing regression of atherosclerosis in Japanese patients: Subanalysis of the JART study. *International Heart Journal* 2013; 54(1):33-39.

Zhang X, Jin J, Peng X, Ramgolam VS, Markovic-Plese S. Simvastatin inhibits IL-17 secretion by targeting multiple IL-17-regulatory cytokines and by inhibiting the expression of IL-17 transcription factor RORC in CD4 lymphocytes. *Journal of Immunology* 2008; 180: 6988-6996.