



Revista Médica de la  
Universidad de Costa Rica

<http://www.revistamedica.ucr.ac.cr>



### Investigación original

## ACCIÓN DE LA SIMVASTATINA EN LA CONTRACCIÓN DE MÚSCULO LISO DE ANILLO TRAQUEAL INDUCIDA POR ESTÍMULO QUÍMICO Y TÉRMICO

Rodríguez Lastra, Jesús<sup>1</sup> y Ramírez Mérida, Luis<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Médico Neumonólogo. Profesor Titular e Investigador PPI nivel I. Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Ciencias Médicas, Universidad de Carabobo, Venezuela.

<sup>2</sup>Magister en Biotecnología. Profesor Asistente Facultad de Ciencias y Tecnología, Departamento de Biología Universidad de Carabobo, Venezuela.

### Resumen

La contracción del músculo liso traqueal está vinculada a la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  al interior celular y la depleción de los depósitos intracelulares. Simvastatina, relaja la arteria basilar por disminución de la concentración intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$ . El objetivo del trabajo fue conocer el efecto de la simvastatina sobre la contracción de la musculatura lisa de tráquea aislada de rata, antes y después del estímulo con acetilcolina y agua fría. Se emplearon 8 ratas anestesiadas con tiobarbital sódico 60 mg/Kg i.p, para extraer la tráquea, se cortaron los anillos, se estimularon con acetilcolina  $10^{-3}$  M y agua fría 18 °C con y sin simvastatina. Las mediciones se realizaron por ImageTool® V. 3.0 (UTHSCSA). Las medias aritméticas del diámetro del músculo traqueal sin la incubación en simvastatina disminuyeron significativamente para el estímulo de acetilcolina y agua fría ( $p = 0,000$  y  $p = 0,046$ ) respectivamente; al agregar simvastatina se encuentra disminución del diámetro traqueal con el estímulo de agua fría la cual es estadísticamente significativa ( $p = 0,002$ ) para la acetilcolina no es estadísticamente significativa ( $p = 0,084$ ). Las medias de las velocidades de contracción de la tráquea al incubar acetilcolina/simvastatina y agua fría/simvastatina, no fueron significativos estadísticamente ( $p=0,082797$  y  $p = 0,797599$ ). Se concluye que hay disminución del diámetro traqueal al estimular la tráquea con agua fría y acetilcolina. Al agregar

simvastatina y agua fría, se produce el efecto constrictor y disminución del diámetro traqueal ya que se utilizan otras vías de entrada de calcio que no dependen del colesterol.

**Palabras claves:** Simvastatina, contracción traqueal, agua fría, acetilcolina

**Abstract:**

The tracheal smooth muscle contraction is associated with a significant entry of  $Ca^{2+}$  into the cell and depletion of intracellular stores. Simvastatin, relaxes the basilar artery by decreasing intracellular  $Ca^{2+}$ . The objective was to study the effect of simvastatin on smooth muscle contraction of isolated rat trachea before and after being stimulated with acetylcholine and cold water. 8 rats were anesthetized with sodium tiobarbital 60 mg/kg ip, to remove the windpipe and cut the rings, were stimulated with  $10^{-3}$  M acetylcholine and cold water 18 ° C with and without simvastatin. The measurements were made by ImageTool ® V. 3.0 (UTHSCSA). The arithmetic mean diameter of the tracheal muscle incubation without simvastatin significantly decreased for the stimulation of acetylcholine and cold water ( $p = 0.000$  and  $p = 0.046$ ) respectively, by adding simvastatin is tracheal diameter decreased with the stimulus of cold water which is statistically significant ( $p = 0.002$ ) while that for acetylcholine is not statistically significant ( $p = 0.084$ ). The mean speeds of contraction of the trachea by incubating acetylcholine/simvastatin and cold water/simvastatin, were not statistically significant ( $p = 0.082797$   $p = 0.797599$ ). We conclude that tracheal diameter is reduced by stimulating the trachea with cold water and acetylcholine. Adding simvastatin and cold water, the effect constrictor and decreased tracheal diameter as using other calcium entry pathways that are independent of cholesterol.

**Key word:** Simvastatin, tracheal contraction, cold water, acetylcholine

Recibido: Enero 2010. Aceptado: Febrero 2010. Publicado: Marzo 2010.

## INTRODUCCION:

El asma es una enfermedad crónica de tipo inflamatoria, que se caracteriza por el estrechamiento de las vías respiratorias, debido a la inflamación de la mucosa, la gran secreción de moco y la contracción del músculo de vías respiratorias. La respuesta hiperactiva y el daño de las células epiteliales de vías aéreas, están asociados comúnmente con asma [1].

En la crisis asmática se produce un broncoespasmo, es decir, una contracción del músculo liso de vías respiratorias. Actualmente, se conoce muy bien la mayor parte del proceso de la contracción del músculo liso, en el cual los niveles de calcio intracelular ( $[Ca^{2+}]_i$ ) son uno de los elementos principales para la contracción y relajación, además del papel que ejerce la temperatura del aire inhalado y su relación con la mayor entrada de  $Ca^{2+}$  al músculo liso [2].

Aunado a ello, existe una relación directa entre el colesterol y el incremento de los depósitos de calcio intracelular [3], ya que en los microdominios de membrana existe un alto porcentaje de colesterol, y es en estos sitios donde se encuentran ubicados los canales de calcio así como otras proteínas involucradas en procesos de señalización celular que inducen contracción [4,5]. Por esta razón, la disminución de colesterol a nivel celular limita la disponibilidad de  $Ca^{2+}$  porque se disminuye la entrada de este ión al interior de la célula, esta reducción en los niveles de  $Ca^{2+}$  disminuye la contracción del músculo liso en las arterias [3].

Simvastatina es un inhibidor de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) reductasa, enzima responsable de la conversión de la HMG-CoA a mevalonato, que es un metabolito clave en la

biosíntesis del colesterol por lo que al inhibir esta enzima, se podría lograr una disminución de la concentración de colesterol lo que reduciría la contracción del músculo liso, por la menor entrada de  $Ca^{2+}$  a la célula, evento este que pudiera ser de interés en los pacientes asmáticos [6].

De ahí que se decidió estudiar un fármaco habitualmente utilizado para disminuir la aterosclerosis y enfermedades arteriales, para mejorar el asma, cuyo proceso fisiopatológico tiene una característica común, la acción de la musculatura lisa sobre el calibre del vaso en una y sobre la musculatura traqueal en la otra.

## METODOLOGÍA

### Muestra.

La muestra estuvo constituida por 8 ratas BALB-C macho adultas, provenientes del Bioterio de la FCS, alimentadas *ad libitum* en un régimen de luz: oscuridad de 12:12 horas.

### Procedimiento de extracción del anillo traqueal.

Ocho ratas macho con peso promedio de 450 gramos fueron anestesiadas con tiobarbital sódico  $60 \text{ mg.Kg}^{-1}$  i.p, luego de verificar la ausencia de reflejos nociceptivos y realizando los procedimientos procurando ocasionar el mínimo sufrimiento del animal, se les extrajeron de 9 a 10 mm de tráquea y se cortó, con ayuda de una tijera quirúrgica, un anillo del segmento cervical traqueal, la cual fue lavada y sumergida en una solución de Krebs Ringer Bicarbonato. La preparación de la tráquea se equilibró por 30 minutos y el baño del tejido se reemplazó continuamente con solución fresca temperada a  $37^\circ \text{C}$ . Las tráqueas fueron aireadas continuamente a través

de una bomba de salida continua. El anillo traqueal se colocó en una cámara con un soporte central de acrílico; diseñada para estos fines, la cual permitía la perfusión continua del tejido durante el experimento.

#### Obtención de las imágenes en video.

Todo el protocolo experimental empleado para evaluar el fenómeno de la contracción se filmó con una cámara digital de Video Sony DCR HC 30. Las imágenes se digitalizaron en una computadora con capturadora de Video, con una resolución de 256 MB. El procesamiento de las imágenes se realizó mediante un software analizador de imágenes, Image Tool, ® V. 3.0 (UTHSCSA). La calibración se realizó a 1.8 mm usando como referencia el grosor de la aguja insertada en la cámara. Se realizó la medición del diámetro de la tráquea por su cara interna, de cada tráquea se obtuvieron 6 anillos y se les realizó ocho mediciones. La simvastatina se preparó a una concentración de  $3 \times 10^{-6}$  M [7].

#### Efecto de la acetilcolina, agua fría y simvastatina en la contracción bronquial.

Bajo la cámara de video, la preparación traqueal se incubó con una solución de Acetilcolina a una concentración de  $10^{-3}$  M. Se lavó la preparación y se le colocó agua fría a 18°C, tal como recomiendan González y Santacana (2000) [8], de nuevo se lava el tejido con solución salina 0,9% a 37 °C hasta atemperar. Se coloca simvastatina a  $3 \times 10^{-6}$  M hasta que la cámara alcanza igual concentración, se incubó por 20 min., se lavó con solución fisiológica a 37°C y se colocó Acetilcolina a  $10^{-3}$ M y se estabilizó. Finalmente se perfundió con agua fría a 18 °C. Se analizó y midió el diámetro traqueal.

#### Velocidad de contracción traqueal.

Empleando las imágenes capturadas durante la grabación del video, se calculó la velocidad de contracción del anillo traqueal de la rata, a los estímulos térmicos y a la acetilcolina, antes y después de la incubación con simvastatina midiendo el diámetro antes de la contracción haciendo correr el video y al transcurrir 40 segundos que es el tiempo reportado por otros autores para que se produzca y complete el período contráctil en el músculo liso de tráquea [9].

### RESULTADOS

Se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para conocer si la distribución de los valores del diámetro traqueal se hacia de forma normal, encontrándose para todos una significación asintótica bilateral mayor de 0,687 por lo que al ser mayor de un 5%, se encontró que todos los valores se distribuyen de manera normal, por lo que se aplicaron pruebas estadísticas paramétricas.

TABLA No. 1 MEDIAS DE LAS MEDICIONES EXPERIMENTALES DEL DIÁMETRO DE TRÁQUEA DE RATA AISLADA BAJO EL EFECTO DE LA ACETILCOLINA Y AGUA FRÍA SIN SIMVASTATINA.

Medición Diámetro Traqueal n = 8	Mínimo (mm)	Máximo (mm)	Media (mm)	DS (±)
Sin Simvastatina	2,97	3,39	3,20	0,11
con Ach	2,78	3,20	2,94	0,14
con Agua Fría	2,71	3,31	3,06	0,19

En la tabla No. 1 se observan las medias de los diámetros traqueales sin simvastatina, podemos observar que la

media del diámetro basal es de 3,20mm., la cual al ser estimulada con acetilcolina alcanza el valor promedio de 2,94mm, lo que permite apreciar una disminución del diámetro traqueal, frente a este estímulo al colocarse el agua fría la media aritmética alcanzada fue de 3,06mm apreciándose también que se produce una contracción, éstas disminuciones fueron estadísticamente significativas;  $p = 0,000$  en el primer caso y  $p = 0,046$  en el segundo.

**TABLA No. 2. MEDIAS DE LAS MEDICIONES EXPERIMENTALES DEL DIÁMETRO DE TRÁQUEA DE RATA AISLADA BAJO EL EFECTO DE LA ACETILCOLINA Y AGUA FRÍA CON SIMVASTATINA.**

Medición Diámetro Traqueal n = 8	Mínimo (mm)	Máximo (mm)	Media (mm)	DS (±)
Simvastatina	2,96	3,45	3,25	0,16
Simvastatina y Ach	2,71	3,41	3,11	0,21
Simvastatina y Agua Fría	2,32	3,14	2,78	0,32

La tabla No.2 presenta los valores de las medias aritméticas del diámetro traqueal incubada con simvastatina al ser estimulado con acetilcolina y agua fría. El diámetro basal promedio fue de 3,25mm., al agregarle el estímulo de acetilcolina se obtiene una media de 3,11mm. y con el agua fría 2,78mm. Se observó una disminución de la media aritmética por el estímulo de la acetilcolina unido a la simvastatina pero esta disminución no es estadísticamente significativa ( $p = 0,084$ ), mientras que el diámetro traqueal disminuye por el estímulo del agua fría en la tráquea incubada con simvastatina, estas diferencias si fueron estadísticamente significativas ( $p = 0,002$ ).

En la figura No. 1 se presentan las imágenes de la tráquea sometida a los diferentes estímulos obtenidos en la investigación.

**TABLA No.3 MEDIA ARITMÉTICA DE LAS VELOCIDADES DE CONTRACCIÓN (mm/seg) Y PRUEBA DE KENDALL A LOS ESTÍMULOS DE ACETILCOLINA SIN Y CON INCUBACIÓN DE SIMVASTATINA**

Medición n = 8	Media	DS (±)	P
Velocidad de Contracción al estímulo de Ach (mm/seg)	0,001767	0,001617	
Velocidad de Contracción al estímulo de Ach con Simvastatina (mm/seg)	0,000248	0,000061	0,082797

**TABLA No.4 MEDIA ARITMÉTICA DE LAS VELOCIDADES DE CONTRACCIÓN (mm/seg) Y PRUEBA DE KENDALL A LOS ESTÍMULOS DE AGUA FRÍA SIN Y CON INCUBACIÓN DE SIMVASTATINA**

Medición n = 8	Media	DS (±)	p
Velocidad de Contracción al estímulo de Agua Fría (mm/seg)	0,000397	0,000350	
Velocidad de Contracción al estímulo de Agua. Fría con Simvastatina (mm/seg)	0,000513	0,000424	0,797599

Las medias de las velocidades de contracción de la tráquea sin la incubación con simvastatina se presentan en las Tablas No. 3 y 4. La media aritmética de la velocidad de contracción para la acetilcolina fue de 0,001767 mm/seg, cuando se incubó con

simvastatina y se le agregó este estímulo fue de 0,000248 mm/seg la velocidad, a estos valores se le aplicó una prueba Kendall y los resultados no fueron significativos estadísticamente ( $p=0,082797$ ). Para la velocidad de contracción del anillo traqueal cuando se estimuló con agua fría sin la presencia de simvastatina, la media fue de 0,000397 mm/seg, mientras que la velocidad de la contracción de la tráquea incubada con simvastatina al agregarse el estímulo del agua fría fue de 0,000513mm/seg. Igualmente se realizó una prueba Kendall y los resultados no fueron estadísticamente significativos ( $p=0,797599$ ).

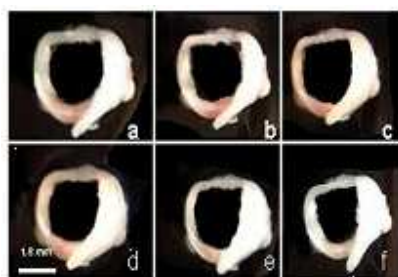


Figura No. 1 imágenes de la tráquea a) Normal b) Estimulada con Ach c) Estimulada con Agua Fría. d) Con Simvastatina e) Estimulada con Ach y f) estimulada con Agua Fría.

## DISCUSIÓN

Para la contracción del músculo liso se requiere la presencia de  $Ca^{2+}$  procedente de reservorios intracelulares, pero también se sabe que estos iones provienen desde el exterior de la célula a través de la membrana de la misma [10]. Estos canales de calcio están ubicados en sitios específicos de la membrana que son ricos en colesterol y se ha demostrado en músculo liso vascular que la simvastatina inhibe la formación del colesterol

endógeno y afectan la "Rafts" lipídica, comprometiendo de esta manera las proteínas que conforman los canales de  $Ca^{2+}$  de la membrana celular y los procesos de señalización que permiten tardíamente la apertura de canales de  $Ca^{2+}$  en el sarcolema [11].

Se conoce que la acetilcolina es un neurotransmisor que actúa a nivel celular del músculo liso bronquial sobre receptores de membrana tipo muscarínico y que su efecto es la broncoconstricción, pero este efecto se produce reclutando células musculares produciendo una frecuencia cada vez mayor de ondas de calcio, llegándose a producir incrementos en forma de picos de calcio desencadenando el mismo efecto de forma sucesiva en células vecinas. Este efecto, aún si se bloqueara los canales de voltaje de  $Ca^{2+}$  tipo L, lograría solo una inhibición parcial del mismo, pero la contracción tendría lugar [12,13]. Estos resultados fueron obtenidos en esta investigación, ya que la acetilcolina produjo una contracción de la tráquea aislada de rata, datos estos que se asemejan a los reportados por otros estudios donde el efecto contráctil de la acetilcolina es significativo tanto para anillos traqueales íntegros como sin epitelio [14].

Ya hemos señalado el efecto relajador que tiene los inhibidores de la HGM-CoA Reductasa sobre la musculatura lisa. Por su parte, Bergdahl y col (2003) [15] han señalado que entre estos inhibidores la lovastatina y la simvastina relajan la arteria basilar de rata por disminución de la concentración intracelular de  $Ca^{2+}$  a través de la inhibición de los canales tipo L de  $Ca^{2+}$  cuando se utiliza un inhibidor de este canal como la nifedipina, resultados similares se encuentran cuando se estimula el músculo traqueal con

acetilcolina después de ser incubado con simvastatina, ya que no se logra una contracción muscular significativa. Los resultados obtenidos en esta investigación son semejantes a los obtenidos en músculo liso vascular utilizando la acetilcolina como estímulo y la simvastatina como inhibidor del mismo, por lo que el mecanismo celular implicado tanto en el músculo liso vascular como en el de las vías aéreas es el mismo, esto pudiera abrir una brecha en estudios que permitan, utilizando marcadores fluorescentes de calcio, confirmar la disminución intracelular del mismo y poder utilizar este medicamento para obtener mejoras en los pacientes asmáticos a través de su efecto inhibidor de la contracción por acetilcolina. Se ha estudiado los efectos broncodilatadores de un fármaco que se utiliza en el sistema cardiovascular, la nifedipina para la inhibición de los canales de calcio [16] y que tiene el mismo efecto sobre las células musculares lisas bronquiales. Sería entonces de utilidad probar este otro fármaco para lograr efectos dilatadores en bronquios.

Ya hemos señalado que el estímulo a la tráquea con agua fría produce broncoconstricción [8]. De igual manera los resultados de esta investigación demuestran cómo se produce una contracción del anillo traqueal al ser estimulado con agua fría. Se ha señalado recientemente el papel de la proteína quinasa C (PKC) sobre la contracción de la tráquea a bajas temperaturas, y se ha involucrado en los efectos de este estímulo la activación de la PKC [17,18], ya que a bajas temperaturas se activa la vía de la lipooxigenasa, lo que trae como resultado una respuesta fisiológica de las vías aéreas con la disminución del diámetro bronquial. Recientemente se ha

descubierto el papel de una bomba sodio-calcio que pudiera tener participación en el efecto del frío sobre el músculo bronquial [19].

Al incubar con simvastatina y estimular con agua fría, se encontró en estos resultados que este fármaco no inhibe la contracción que se produce por agua fría. Se puede afirmar que este efecto del agua fría sobre la músculo liso bronquial, no utiliza para su producción los canales de calcio relacionados con la "rafts lipídica", sino que utiliza fundamentalmente una vía ya mencionada de bomba de Sodio - Calcio, la cual no funciona vinculada al colesterol de la membrana, y por ello no se inhibe con la simvastatina. Aunque teorías anteriores han señalado que los cambios de la temperatura tiene una influencia directa sobre las células musculares lisas de vías respiratorias, afectando el potencial de membrana, la actividad  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa, y la respuesta contráctil de esas células a la Histamina, y que esta contracción es directamente proporcional a la temperatura [20]. Ambos mecanismos productores de la contracción explicarían el hecho de que la simvastatina no actúe inhibiendo la contracción por agua fría.

De lo anterior se puede afirmar que la simvastatina y la regulación del colesterol, influyen en los canales de calcio de la membrana de las células musculares lisas de las vías aéreas al ser estimuladas con agua fría.

El cálculo de la velocidad de contracción y la relajación del músculo se reporta principalmente en músculo aislado, señalándose la velocidad como el cambio de longitud en segundos [21,22], no encontrándose referencias de velocidades de contracción para el anillo traqueal de manera íntegra. Los músculos usados por los diferentes autores son de animales

cuyo volumen celular es mayor al de la rata [23,24]. Sin embargo, otros estudios han reportado velocidades de contracción para la tráquea de ovinos neonatos de 45,1  $\mu\text{m}/\text{seg}$ ., mientras que para los ovinos adultos las velocidades de contracción que han hallado son de 25,1  $\mu\text{m}/\text{seg}$  [25]. Parece ser importante la presencia de cartílago en la velocidad de contracción de la tráquea, y se ha referido que en ausencia de cartílago en tráquea aislada de perro, se hace más rápida la velocidad de contracción del músculo bronquial [26]. Las velocidades encontradas en la presente investigación, son más lentas que las presentadas por los autores antes descritos, esto es debido a que se utilizó tráquea de rata aislada y se sabe que hay diferencias de respuestas de las células musculares dependiendo de las propiedades biomecánicas del músculo liso de la vía aérea basado en las diferentes estructuras celulares de los animales, diferentes edades y el tipo de animales de experimentación; es decir, es imposible comparar la tráquea de rata con la de otros animales de experimentación. Al analizar las velocidades de contracción sin simvastatina y en las tráqueas incubadas durante 20 minutos con este inhibidor de la HMG-CoA reductasa, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, por lo que pudiera parecer que la simvastatina no tuviera efecto sobre la velocidad de contracción de la tráquea, sin embargo se ha demostrado al menos en músculo liso vascular; que a largo plazo el uso de la simvastina mejora la característica contráctil de la arteria carótida en pacientes de más de un año de tratamiento [27,28]. Las diferencias no significativas encontradas en esta investigación pueden deberse a que como se dijo anteriormente, la velocidad de contracción depende de la presencia en la

tráquea del cartílago que reduce la velocidad contráctil del músculo, porque el músculo traqueal se fija en los dos extremos de cada anillo en forma de herradura, por lo que al contraerse el músculo afronta y une los extremos del cartílago y esto ejerce una resistencia adicional que pudiera explicar el por qué no se observa una modificación de las velocidades en presencia de simvastatina, porque aunque se produce la contracción, ésta es más lenta que si estuviera el músculo aislado. La presencia del anillo traqueal no permite apreciar la velocidad de contracción con plenitud con la simvastatina y sin ella; es decir, la velocidad de contracción no es un elemento importante para demostrar el efecto de la simvastatina sobre la contracción del músculo liso traqueal como lo es la reducción del diámetro del mismo, que si permitió apreciar la actividad contráctil

### CONCLUSIÓN.

La tráquea produce una contracción con disminución de su diámetro cuando se estimula con agua fría y acetilcolina. La longitud del músculo no es un buen indicador de los cambios a los estímulos por lo impreciso de su demarcación en la tráquea. Al agregar simvastatina y agua fría, se produce un efecto constrictor apreciándose una disminución del diámetro traqueal, este efecto de no inhibir la respuesta contráctil puede deberse a que este estímulo utiliza otras vías de entrada de calcio al interior de la célula muscular lisa, que no dependen del colesterol. En presencia de simvastatina la acetilcolina no contrae la tráquea, lo que se explica porque se bloquean los canales de calcio dependientes del colesterol por el efecto de este fármaco. Las velocidades



de contracción no presentaron diferencias con o sin simvastatina para ninguno de los dos estímulos, esto se debe a la presencia de cartílago en la tráquea que retarda el efecto constrictor del músculo por lo que no es una medición útil para estos fines.

Al no haberse estudiado con anterioridad el efecto de la simvastatina en músculo liso de vías aéreas, y al encontrarse resultados prometedores en su efecto de relajación del músculo liso traqueal, éstos resultados podrían ser contrastados con otras técnicas, para así poder introducir este fármaco en el arsenal terapéutico del médico en el tratamiento de las enfermedades bronquiales obstructivas.

### Agradecimientos.

Al profesor Antonio Eblen por su ayuda incondicional. Al CDCH por su financiamiento parcial para poder realizar esta investigación CDCH-UC 1846, al departamento de Parasitología y de Bioquímica de la FCS de la Universidad de Carabobo por su colaboración, a la Dra Marisol Ruiz Meana el Hosp. Vall D'Hebron Barcelona España por su ayuda y sus consejos y por último a la Lic. Karem Peña por toda su ayuda en el trabajo experimental y su estímulo a seguir.

### Bibliografía

- GINA. National Heart, Lung and Blood Institute, World Health Organization. Brief summary. Global initiative for asthma. Global strategy for asthma management and prevention. Bethesda, MD: Global Initiative for Asthma, National Heart, Lung and Blood Institute 2002, 176 p.
- Santacana G, Chen W. Role of Na<sup>+</sup> in guinea pigs trachealis contraction induced by cooling. *Respiration* 1988; 53: 24-30.
- Hill B, Dixon J, Sturek M. Effect of atorvastatin on intracellular calcium uptake in coronary smooth muscle cells from diabetic pigs fed an atherogenic diet. *Atherosclerosis* 2001 Nov;159 (1):117-24.
- Barabe, F., Pare, G., Fernandes, M. J., Bourgoin, S. G., and Naccache, P. H. Cholesterol-modulating Agents Selectively Inhibit Calcium Influx Induced by Chemoattractants in Human Neutrophils. *J. Biol. Chem.* 2002; 277, 13473-13478.
- Barbuti, A., Gravante, B., Riolfo, M., Milanese, R., Terragni, B., DiFrancesco, D. Localization of pacemaker channels in lipid rafts regulate channel kinetics. *Circ Res* 2004; 94, 1325 – 1331.
- Heinke, S., Schwarz, G., Figulla, H., Heinemann, S. The influence of statins on the free intracellular calcium concentration in human umbilical vein endothelial cells. *BMC Cardiovasc Disord* 2004 May; 4;4:4.
- Álvarez de Sotomayor, M., Perez-Guerrero, C., Herrera, M.D., Marhuenda, E. Effect of simvastatin on vascular smooth muscle responsiveness: involvement of Ca(2+) homeostasis. *Eur J Pharmacol* 2001 Mar16; 415(2-3):217-24.
- González, O., Santacana, G. Effect of the Airway Epithelium on the Contraction of Rat Isolated Trachea under Conditions of Low Temperature. *Respiration* 2000; 67:439-443.
- Driska SP, Laudadio RE, Wolfson MR, Shaffer TH. A method for isolating adult and neonatal airway smooth muscle cells and measuring shortening velocity. *J Appl Physiol.* 1999 Jan;86(1):427-35.
- Bai Y, Sanderson MJ. The contribution of Ca<sup>2+</sup> signaling and Ca<sup>2+</sup> sensitivity to the regulation of airway smooth muscle contraction is different in rats and mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2009 Jun;296(6):L947-58.
- Insel PA, Patel HH. Membrane rafts and caveolae in cardiovascular signaling. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2009 Jan;18(1):50-6.
- Sanders, K.M. Mechanisms of calcium handling in smooth muscles. *J. Appl. Physiol* 2001; 91:1438-1449.
- Fagan, K.A., Smith, K.E., Cooper, D.M. Regulation of the Ca<sup>2+</sup>-inhibitable adenylyl cyclase type VI by capacitative Ca<sup>2+</sup> entry requires localization in cholesterol-rich domains. *J Biol Chem* 2000 Aug; 275(34):26530-7.
- Ramírez, L. Rodríguez, J. Efecto de simvastatina en la contracción de músculo liso de anillo traqueal íntegro y sin epitelio inducida por acetilcolina y agua fría. *Revista Electronica de PortalesMedicos.com* 2009; Vol. IV; n° 20; 453
- Bergdahl, A., Persson, E., Hellstrand, P., Swärd, K. Lovastatin induces relaxation and inhibits L-type Ca(2+) current in the rat basilar artery. *Pharmacol Toxicol* 2003 Sep;93(3):128-34.

16. Ito, S., Kume, H., Oguma, T., Ito, Y., Kondo, M., Shimokata, K., Suki, B., Naruse, K. Roles of stretch-activated cation channel and Rho-kinase in the spontaneous contraction of airway smooth muscle. *Eur J Pharmacol* 2006 Dec 15; 552(1-3):135-42.
17. Huang CK, Munakata M, Baraban JM, Menkes H. Protein kinase C and tracheal contraction at low temperature *J Pharmacol Exp Ther* 1987; 243: 270-280
18. Dempsey EC., Cool CD., Littler CM. Lung disease and PKCs. 2007; 55 (6): 545-5
19. Hirota S A. Luke L.J. Sodium and asthma: something borrowed, something new? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 293: L1369-L1373.
20. Nolen-Walston RD, Kuehn H, Boston RC, Mazan MR, Wilkins PA, Bruns S, Hoffman AM. Reproducibility of airway responsiveness in horses using flowmetric plethysmography and histamine bronchoprovocation. *J Vet Intern Med* 2009 May-Jun;23(3):631-5.
21. Blanc FX, Coirault C, Oliviero P, Lecarpentier Y. Relaxation of tracheal smooth muscle is impaired in innate airway hyperresponsiveness *Eur Respir J*. 2009 Aug;34(2):417-24.
22. Ford LE, Gilbert SH. Mechanism and significance of early, rapid shortening in sensitized airway smooth muscle. *Can J Physiol Pharmacol* 2007 Jul;85(7):747-53.
23. Wang L, Chitano P, Murphy TM. Maturation of guinea pig tracheal strip stiffness. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005 Dec;289(6):L902-8.
24. Blanc FX, Langeron O, Coirault C, Salmeron S, Lambert F, Riou B, Lecarpentier Y. Mechanical properties of tracheal smooth muscle are impaired in the rabbit with experimental cardiac pressure overload. *Chest* 2004 Jan;125(1):236-42.
25. Laudadio RE, Wolfson MR, Shaffer TH, Driska, SP. Developmental differences in the contractile response of isolated ovine tracheal smooth muscle cells *Pediatr Pulmonol* 2009 Jun;44(6):602-12.
26. Jiang H, Stephens NL. Contractile properties of bronchial smooth muscle with and without cartilage. *J Appl Physiol* 1990 Jul;69(1):120-6.
27. Ubels FL, Muntinga JH, van Doormaal JJ, Reitsma WD, Smit AJ. Effects of initial and long-term lipid-lowering therapy on vascular wall characteristics. *Atherosclerosis* 2001 Jan;154(1):155-61.
28. Paraskevas KI, Hamilton G, Mikhailidis DP. Statins: an essential component in the management of carotid artery disease. *J Vasc Surg* 2007 Aug;46(2):373-386.

### Correspondencia:

Jesús Rodríguez Lastra, Luis G. Ramírez Mérida

e-mail: [lgramire@uc.edu.ve](mailto:lgramire@uc.edu.ve)  
[luisguillermolgrm@hotmail.com](mailto:luisguillermolgrm@hotmail.com)

Universidad de Carabobo, Venezuela.