

EFEITOS HIPOLIPEMIANTE E PLEIOTRÓPICOS DAS ESTATINAS

J. Martins e Silva⁽ⁱ⁾, Carlota Saldanha^{(i), (ii)}

Resumo

As estatinas actuam através da inibição da enzima moduladora da biosíntese do colesterol, de que resulta um efeito hipolipemiante comum, com redução da colesterolemia e do nível sérico do colesterol e das lipoproteínas de baixa densidade (LDL).

A par daquela acção, as estatinas originam efeitos adicionais secundários à inibição da síntese de isoprenoides, independentes da inibição da biossíntese do colesterol.

Entre estes efeitos observados (*in vitro*, em modelos animais e na clínica), destacam-se as seguintes: modulação da função endotelial, remodelação da parede vascular, estabilização e reversão da lesão aterosclerótica, redução da área de enfarte e cardioprotecção, acções anti-inflamatória, anti-oxidante e anti-imunitária, modulação da angiogénese, acção anti-trombótica, prevenção e redução da doença isquémica e redução de todas as causas de mortalidade.

Na sua essência, os efeitos pleiotrópicos das estatinas afectam mecanismos que influenciam a estabilidade da placa de ateroma, além de revelarem outras potencialidades de aplicação clínica mais alargada. A tendência actual vai no sentido de recomendar ensaios clínicos mais aprofundados sobre os efeitos adicionais das estatinas, de modo a esclarecer diferenças de acção e repercussões antagónicas dose-dependentes, antes da sua utilização clínica em doentes com normocolesterolemia e outras patologias que eventualmente beneficiem daqueles efeitos.

Summary

The therapeutic effect of statins are obtained by a reduction of 3-hydroxy-3-methyl coenzyme A reductase activity, which catalyzes the rate-limiting step in cholesterol biosynthesis. In consequence, a reduction in cholesterolemia and cholesterol low density lipoprotein (LDL) is obtained.

⁽ⁱ⁾ Unidade de Biopatologia Vascular do Instituto de Medicina Molecular e

⁽ⁱⁱ⁾ Instituto de Biopatologia Química da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa

In addition to steroid biosynthesis, statins also inhibit isoprenoids synthesis. This effect is independent of the inhibition of cholesterol biosynthesis.

Among the pleiotropic effects of statins that have been reported (*in vitro*, in animal models and in medical practice) are the following: modulation of the endothelial functions, remodelling of the vascular wall, stabilization and reversion of atherosclerotic injuries, reduction of the infarct area, cardioprotection, anti-inflammatory, anti oxidant and anti-immunologic effects, angiogenic modulation, anti-thrombic protection, prevention and reduction of the cardiovascular ischemic disease and reduction of all the mortality causes.

The current trend goes in the direction to recommend clinical assays focused on the pleiotropic effects of statins, in order to clarify their mechanism of action and special repercussions, for a better use in patients that eventually benefit of those effects.

Introdução

A actividade inicialmente identificada para as estatinas* (Quadro 1) consistia na inibição da enzima reguladora da síntese do colesterol, a redutase do hidroximetilglutaril-coenzima (HMG-CoA redutase)¹, de que resulta a diminuição da síntese e da concentração intracelular do colesterol (Fig. 1). As estatinas aumentam também a expressão do receptor para as LDL-colesterol, originando a redução dos níveis sanguíneos de LDL-colesterol². A LDL é a lipoproteína transportadora do colesterol que existe em maior concentração no plasma/soro humano³.

A redução da hipertrigliceridemia e o aumento dos níveis de HDL, particularmente nos doentes com síndrome metabólico, parecem ser obtidos mais eficazmente pela administração de fibratos⁴⁻⁶ e niacina^{7,8}.

Estabilização e regressão das lesões ateroscleróticas

Numa meta-análise de dez ensaios clínicos que incluiu quase 80.000 indivíduos medicados com diversos tipos de estatinas foi comprovada⁹, a redução de eventos coronários (27%), de acidentes vasculares cerebrais (18%) e de todas as causas de mortalidade (15%). Parece não haver dúvida de que as estatinas, ao inibirem a síntese do colesterol, diminuem também a participação da colesterolemia na formação e desenvolvimento das placas de ateroma¹⁰. Acresce que aquele efeito parece ser potenciado pela intervenção das estatinas na inibição directa de componentes inflamatórios^{11,12} reconhecidamente associados à aterogénese¹³.

O risco da doença isquémica do miocárdio diminui acentuadamente nos doentes tratados com estatinas¹⁴⁻¹⁸,

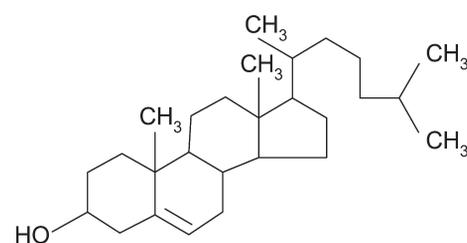
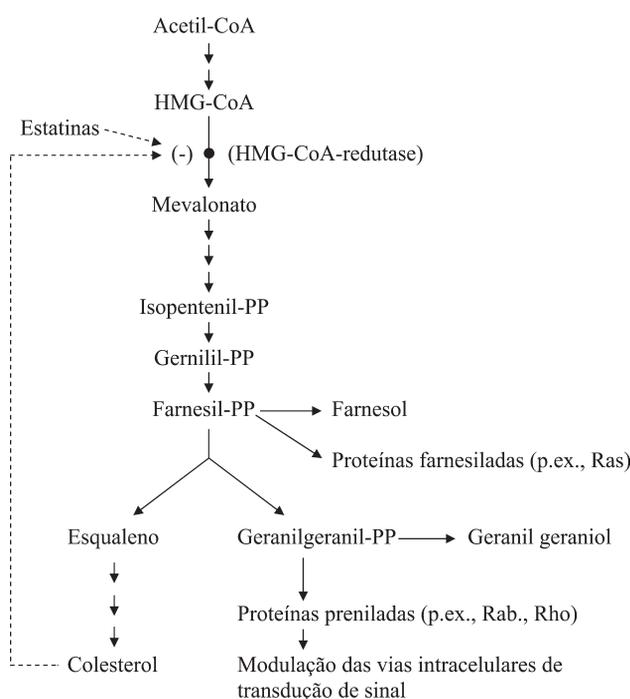
* Não obstante haver diferenças, por vezes relevantes, os efeitos adicionais (independentes da inibição da HMG-CoA redutase) produzidos pelas diversas estatinas são atribuídos neste texto, sem especificação, a todo o grupo de compostos, sob a designação genérica de "estatinas".

** Abreviaturas mais utilizadas: ADMA: asymmetric dimethyl arginine; HDL – high density lipoprotein (lipoproteína de alta densidade); HMG-CoA: 3-hydroxy- β -methylglutaryl-coenzyme A; LDL – low density lipoprotein (lipoproteína de baixa densidade); NO – oxide nitric (monóxido de azoto); NOS: nitric oxide synthase; PCSK9 – proprotein convertase subtilisin (kexin type 9); PPAR- α - peroxisome proliferator – activated receptor α ; SREBP-2 – sterol regulatory element binding protein - 2; VEGF – vascular endothelial growth factor.

Quadro 1 - Principais tipos de estatinas com utilização clínica corrente

Substância (a)	Processo de obtenção (b)	
Atorvastatina	Síntese	
Fluvastatina	Síntese	
Lovastatina	Fermentação microbiana	Primeira estatina comercializada
Pravastatina	Fermentação microbiana	
Rosuvastatina	Síntese	
Simvastatina	Fermentação microbiana	

- (a) A Cerivastatina, por ter sido retirada do mercado recentemente, não é considerada neste Quadro.
 (b) A descoberta da primeira estatina como inibidor da HMG-coenzima A teve por base a observação de que alguns microorganismos (designadamente da estirpe *Penicillium*) produzem inibidores endógenos da síntese do mevalonato como mecanismo de defesa contra outros organismos que dependem desse mevalonato para a síntese do respectivo citoesqueleto e parede celular. As primeiras estatinas comercializadas foram isoladas a partir do bolor *Aspergillus terreus*.



(b) Fórmula estrutural do colesterol;

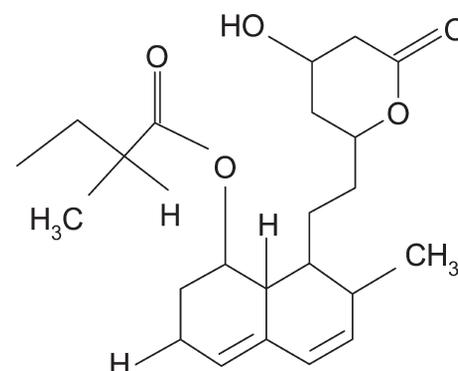
(c) Fórmula estrutural do composto ML-236B (depois designado *mevastatina*) originalmente isolado por Kuroda e Endo (1) a partir de culturas de *Penicillium citrinum*. Todas as estatinas com acção terapêutica que estão a ser utilizadas na clínica derivam, com pequenas alterações estruturais, da mevastatina.

Fig. 1 (a) Esquema simplificado da via de biossíntese do colesterol e do geranyl-geranyl pirofosfato (geranyl-geranyl-PP). A síntese de ambos os produtos é regulada na etapa (-) catalisada pela redutase do β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA (HMG-CoA), a qual é sensível ao retrocontrolo pelo produto final endógeno (colesterol) e também à acção inibidora das estatinas. Os efeitos pleiotrópicos das estatinas, independentes da síntese do colesterol, são desencadeados a partir da modificação pós-transdução de proteínas-alvo, por fixação de intermediários isoprenóides. Esta “prenilação” proteica afecta particularmente proteínas intervenientes em vias intracelulares de transdução de sinal (p.ex., a superfamília Ras). O farnesol e o geranylgeraniol são álcoois (respectivamente com 15 e 20 átomos de carbono) que exercem diversos tipos de actividades metabólicas e funcionais. Por ex., o farnesol induz ou previne a vasoconstrição e acentua a apoptose celular, enquanto o geranylgeraniol é um indutor potente da apoptose;

sendo atribuída a estes compostos uma participação relevante na prevenção primária e secundária da cardiopatia isquémica¹⁹ e da aterosclerose em animais²⁰.

Diversos ensaios clínicos com fármacos hipolipemiantes revelaram diminuição do desenvolvimento da aterosclerose e aterotrombose^{17, 21, 22}, certificada por angiografia²³⁻²⁵. A angiografia coronária revelou-se particularmente útil na localização das obstruções por lesão aterosclerótica e na sua revascularização pós-terapêutica²⁶. Todavia a angiografia perde valor no prognóstico clínico de pequenas obstruções, pois que uma oclusão quase assintomática pode evoluir rapidamente para uma situação obstrutiva crítica, por eventual formação de um trombo ou vasoespasmolocal²⁷.

Também tem sido observado que a terapêutica hipolipemiante, apesar de originar uma nítida melhoria clínica e laboratorial, tende a ocorrer ainda antes de haver regressão das placas de ateroma^{28, 29}, e sem diferenças evidentes na angiografia coronária³⁰.

A melhoria da estenose vascular de origem aterosclerótica era evidente por angiografia ao fim de quatro anos de tratamento, embora não fosse detectável ainda dois anos antes, no seguimento de um período inicial em que haviam sido corrigidos os valores lipídicos no soro^{27, 31}. Os resultados referidos sugeriam que a acção da estatina poderia incidir na parede arterial, na composição san-

guínea e no fluxo de perfusão intravascular^{11, 32}.

Efectivamente, as estatinas parecem estabilizar as placas fibrolipídicas “silenciosas”, melhoram a função endotelial³³ e contribuem para a remodelação arterial²⁷. Observações correntes sugerem que o principal benefício das estatinas a nível da parede arterial resulta mais da estabilização da placa de ateroma do que da regressão das lesões ateroscleróticas³⁴. Foi proposto, a partir de estudos *in vitro*, que o efeito das estatinas na vasodilatação endotelial-dependente e na restauração da actividade endotelial poderia ser, também, directamente mediada pelo aumento da Ca^{2+} nas células do endotélio³⁵ (Fig. 2).

Mecanismo e diversidade dos efeitos pleiotrópicos

A indução precoce da melhoria clínica e a constatação, em doentes e estudos experimentais, de diversos efeitos independentes da correcção da colesterolemia^{36, 37}, abriam um amplo campo de intervenção adicional das estatinas. A *pleiotropia**** atribuível às estatinas resultaria da inibição da síntese de intermediários isoprenoides da via do mevalonato (e da biossíntese do colesterol), em particular o farnesil pirofosfato e o geranylgeranyl pirofosfato (Fig. 1)².

Os isoprenoides participam na modificação pós-tradução de um con-

*** Diferentes efeitos de expressão de um gene, na origem de características aparentemente não relacionadas (p.ex., fenotipo, sistemas, órgãos, funções)

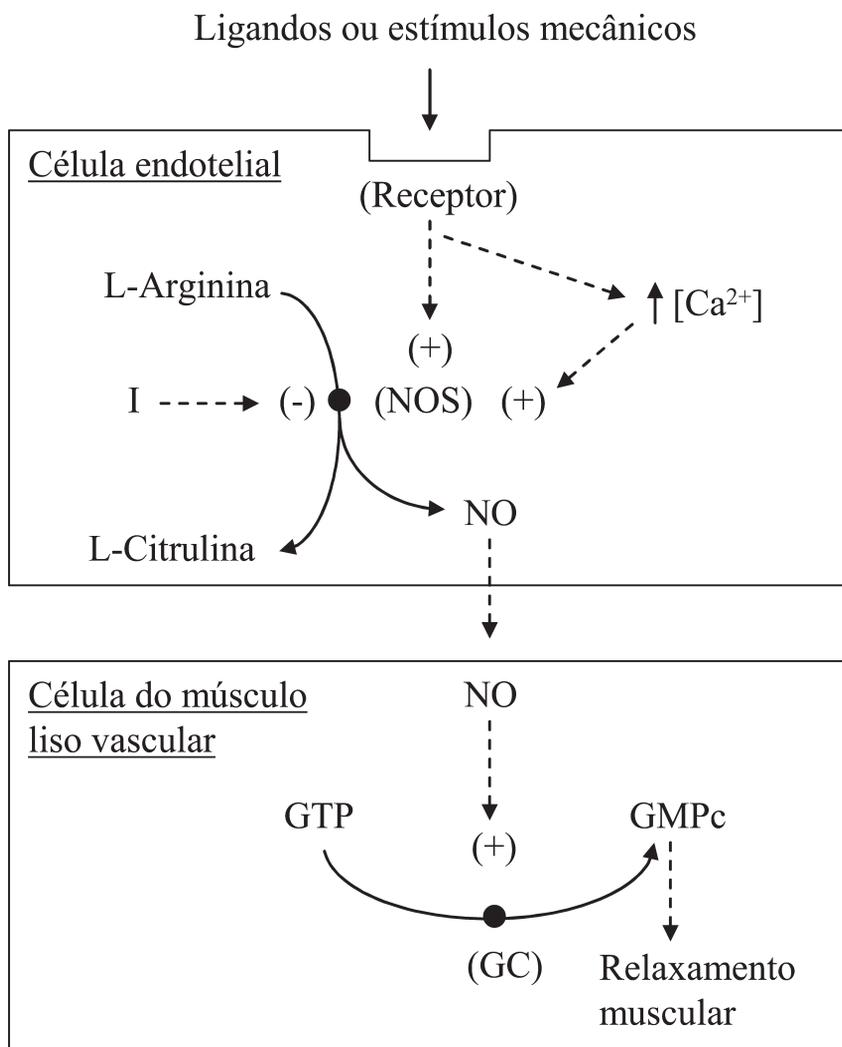


Fig. 2 Esquema da síntese do monóxido de azoto (NO) na célula endotelial a partir da L-arginina, por acção da enzima específica, NO sintase (NOS). A isoforma endotelial da NO sintase (eNOS) terá expressão constitutiva também nas plaquetas, células T, eritrócitos e cardiomiócitos. Após ser formado, o NO difunde imediatamente para a circulação sanguínea (onde tem vida média inferior a 4 min) e células alvo adjacentes. Ao unir-se à forma solúvel da enzima guanilato ciclase (Gc) das células do músculo liso vascular, o NO induz a síntese do guanosina-monofosfato cíclico (GMPc) a partir do guanosina 5'-trifosfato (GTP). O aumento local do GMPc activa diversos processos celulares, designadamente o vaso-relaxamento e a activação, adesão e agregação das plaquetas à íntima vascular. Diversas outras substâncias (autócrinas e parácrinas) com actividade semelhante ou antagónica são sintetizadas pelo endotélio e plaquetas, mediante estímulo locais. O aumento da concentração de cálcio (Ca²⁺) intracelular e, portanto, a síntese do NO na sequência da interacção de um ligando com o respectivo receptor na membrana citoplasmática, activa a NOS. A formação de NO também tende a aumentar em situações de agressão ou disfunção endotelial, originando uma resposta vasodilatadora de compensação local. A NOS sintase é inibida reversivelmente por inibidores (I) endógenos (p.ex., N^G-monometil-L-arginina, NMAA, dimetil-arginina assimétrica, ADMA; dimetil-arginina simétrica, SDMA) e diversos compostos sintéticos, análogos da arginina (p.ex., N^G-nitro-L-arginina, L-NAME; N-imino-etil-L-orнитina, L-NIO), sendo aquele efeito revertido pelo aumento da concentração do substrato da reacção (L-arginina).

junto de proteínas intracelulares que, ao intervirem na transdução de sinal, afectam, p.ex., a regulação do crescimento e diferenciação celular, a expressão genética, o ordenamento do citoesqueleto e mortalidade celular, o transporte proteico e lipídico, o transporte nuclear e a defesa do hospedeiro³⁸. Por conseguinte, a inibição da síntese daqueles isoprenoides é causa do pleiotropismo lipido-independente referido para as estatinas (Quadro 2).

Relativamente à angiogénese, foi revelado experimentalmente que as estatinas exerciam um efeito bifásico dose-dependente: a angiogénese era activada (*in vitro* e em murganhos) por concentrações baixas (equivalente a doses baixas-médias usuais em terapêutica humana) e reprimida por níveis elevados daquelas substâncias³⁹. O efeito angioestático de concentrações elevadas das estatinas estaria relacionado com a diminuição da expressão do VEGF, aumento da apoptose endotelial, redução da vascularização e do crescimento tumoral.

A hipercolesterolemia, além de induzir disfunções endoteliais, também promove a angiogénese⁴⁰. O crescimento da placa aterosclerótica dependerá da angiogénese. Factores pro-angiogénicos favorecem a revascularização da placa e, por consequência, a sua progressão⁴¹. A reversão das lesões ateroscleróticas provocada pelas estatinas estaria eventualmente associada à sua acção angioestática que, ao inibir a revascularização, reduzia também o desenvolvimento da placa de aterosclerose.

Aquele efeito angioestático parece ser mediado, em parte, pela di-

Quadro 2 - Principais efeitos e ou mecanismos de acção atribuídos às estatinas

-
- Inibição da síntese do colesterol e acção hipolipemiante.
 - Restauração da função endotelial e melhoria da produção de monóxido de azoto (NO).
 - Reversão das lesões ateroscleróticas e estabilização da placa de ateroma.
 - Remodelação da parede vascular, redução da área de enfarte e cardioprotecção.
 - Acção anti-inflamatória e diminuição da auto-imunidade.
 - Efeitos anti-oxidantes.
 - Modulação dose-dependente da angiogénese (pró-angiogénese ou anti-angiogénese).
 - Efeitos antitrombóticos.
 - Prevenção (primária e secundária) e redução da doença isquémica cardio- e cerebrovascular.
 - Redução de todas as causas de mortalidade.
-

metilarginina assimétrica (ADMA), que é um dos inibidores endógenos da NO sintase⁴², sendo a inibição revertida pelo substrato natural da enzima, a L-arginina (Fig. 2). Doses baixas de estatinas com efeito pró-angiogénico, administradas a murganhos hipercolesterolémicos, reduzem a síntese do colesterol e dos compostos isoprenoides⁴². Utilizando um modelo de isquémia em murganhos foi comprovado que a ADMA regula, no mesmo sentido, a angiogénese e também a produção de NO endotelial⁴³.

Em resumo, entre outros efeitos pleiotrópicos¹⁹, as estatinas potenciam a síntese do NO^{35, 40}, têm acção antioxidante^{20, 44, 45}, restauram funções alteradas dos sistemas neurohormonal e autónomo⁴⁶, revertem a remodelação anormal do

miocárdio^{47, 48}, e, como foi sugerido, provocam a regressão das lesões ateroscleróticas⁴⁹, melhoram a função endotelial coronária^{50, 51} e promovem a angiogénese^{11, 52}.

Mais recentemente, foi demonstrado que as estatinas exercem acção imunológica, designadamente na redução de processos auto-imunitários em que intervém, p. ex., o interferão γ ⁵³. Ao reduzirem a produção do interferão γ pelas células T activadas, as estatinas diminuem também o efeito aterogénico e inflamatório produzido por aquela citocina. O efeito anti-inflamatório das estatinas⁵⁴ poderá justificar a melhoria do estado clínico na doença cardiovascular³⁶, independentemente da redução da colesterolémia⁵⁵. A terapêutica com estatinas diminuída os níveis plasmáticos da proteína C-reativa¹², sendo aquela redução mais evidente nos do-

entes com inflamação persistente⁵⁶, inclusive nos que apresentavam valores baixos de LDL-colesterol⁵⁷.

Controlo sobre os receptores para a LDL e acção hipolipemiante

Adicionalmente, as estatinas assim como a diminuição do teor de colesterol na dieta ou intracelular, activariam a expressão do SREBP-2⁵⁸, o qual é um factor de transcrição nuclear que se afigura essencial na regulação dos níveis de expressão dos receptores de LDL e da síntese do colesterol no fígado⁵⁸. A SREBP-2 induz a síntese dos receptores para a LDL-colesterol (LDLR) nos hepatócitos e estimula a expressão da serina protease PCSK9, que degrada aqueles receptores⁵⁹ (Fig. 3). A proteólise dos LDLR pela PCSK9 ocorre entre o aparelho de Golgi (onde provoca a modulação proteica final) e o local de internalização membranar daqueles receptores⁵⁹.

A protease PCSK9 é uma glicoproteína expressa a níveis elevados em células com capacidade de proliferação e diferenciação, designadamente no fígado e também no intestino e rins⁶⁰. A acção antagónica de ambas as proteínas (SREBP-2 e PCSK9) sobre os níveis de receptores celulares da LDL parece estar na origem de um mecanismo de contrarregulação que limita a captação excessiva de LDL-colesterol nos hepatócitos e células-alvo do organismo⁶¹. Assim, enquanto níveis elevados de PCSK9 provocam o aumento da concentração plasmática de LDL-colesterol (por diminuir a sua captação), sucede o inverso quando a PCSK9 diminui. A diminuição da PCSK9,

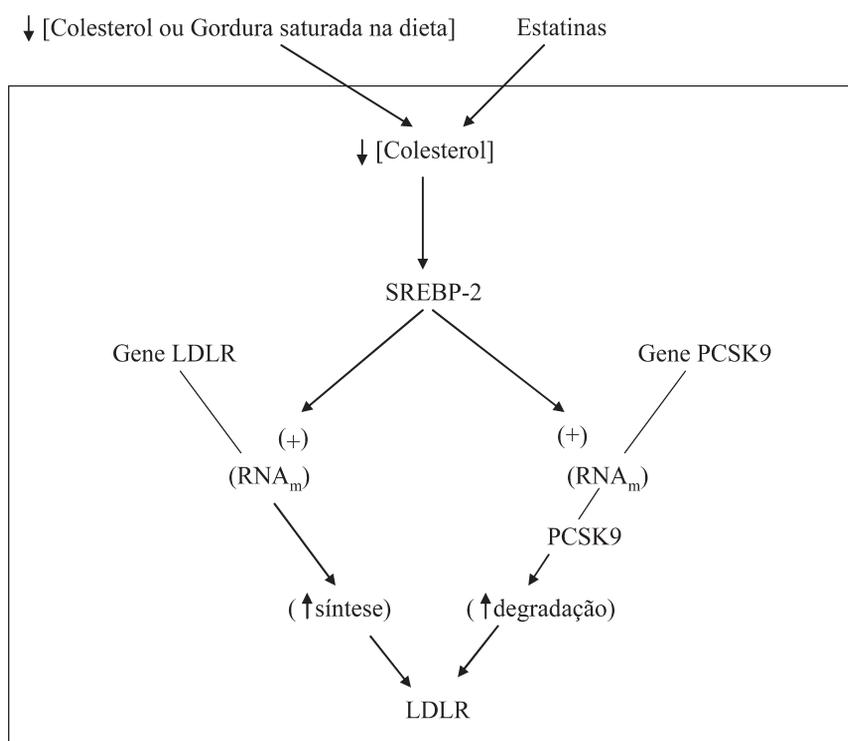


Fig. 3 A expressão dos genes do receptor proteico para a LDL (LDLR) e da proproteína convertase (PCSK9) é regulada coordenadamente pelo factor de transcrição nuclear SREBP-2 (que estimula a transcrição do respectivo ácido ribonucleico mensageiro, RNA_m). Por seu lado, o factor SREBP-2 tende a ser activado pela acção lipolipemiante das estatinas com redução da colesterolemia. Através daqueles mecanismos, a PCSK9, activada pela SREBP-2, induz a proteólise dos LDLRs, cuja síntese é também estimulada por este factor transcripcional. Devido a este efeito antagónico, a captação de LDL-colesterol em excesso poderá ser limitada, por diminuírem os níveis do LDLR disponíveis. O SREBP-2 é sintetizado como precursor inactivo, associado às membranas do retículo-endoplásmico. A redução dos níveis celulares de colesterol constitui o mecanismo que activa a conversão do precursor do SREBP na sua forma activa, ao fim de duas etapas de clivagem sequencial no aparelho de Golgi, até ser libertada a fracção activa representada pela extremidade amina-terminal da proteína inicial. As transformações da forma precursora requerem a sua associação a outra proteína, de transporte e clivagem (SCAP), no percurso entre o retículo endoplásmico e o aparelho de Golgi, após o que a forma activa penetra no núcleo para actuar como factor de transcrição. A PCSK9 é um do oito membros do grupo das proproteínas-convertase presentes nas células de mamíferos; estas enzimas são serina-proteases Ca²⁺-dependentes, homólogas das endoproteases subtilisina (bacteriana) e cixina (das leveduras), fundamentais para a activação de péptidos e proteínas intracelulares por proteólise limitada. A PCSK9 (ou NARC1, *de neural apoptosis regulated convertase-1*), à semelhança da maioria das restantes glicoproteínas, é sintetizada sob a forma de um precursor inactivo (zimogénio), em que o respectivo sítio catalítico está bloqueado por um pró-segmento enquanto a molécula transita do retículo endoplásmico para o aparelho de Golgi. À semelhança das SREBPs, a activação (proteolítica) decorre em duas etapas sequenciais: após a primeira clivagem, o pró-segmento mantém-se unido ao sítio catalítico, impedindo a activação da enzima; o aumento de H⁺ e Ca²⁺ no aparelho de Golgi desencadeia a segunda clivagem da molécula, com dissociação completa do pró-segmento, ficando a enzima activa.

como sucede numa estirpe de murghanos deficientes naquela protease, aumenta substancialmente os níveis de LDLR e a sua sensibilidade à acção hipolipemiante das estatinas⁶².

Poderá concluir-se que a administração precoce e mantida de estatinas, em particular se decorrer na presença de inibidores da PCSK9^{62, 63}, não só reduz directamente a concentração de LDL-colesterol como ainda potencia o mecanismo que regula a sua captação pelos tecidos. Entretanto, é de referir que as estatinas também aumentam a expressão genética da LDLR e da PCSK9⁶⁴, pelo que a indução desta protease poderá atenuar a redução da LDL-colesterol. Recentemente foi descoberta a existência de dois tipos de “mutações sem-sentido” na população norte-americana (2,6% na etnia negra e 3,2% na caucasiana), caracterizadas por deficiência em PCSK9 e níveis de LDL-colesterol entre 15 a 20% abaixo do normal. Aquelas fracções da população (a qual foi observada aproximadamente durante 15 anos), apresentaram uma substancial redução de risco cardiovascular (entre cerca de 90% na população negra e 50% na branca)⁶⁵.

Os efeitos da mutação (duas com “ganho” de funções e quatro com “perda” da função) no gene da PCSK9 foram confirmados *in vitro*⁶⁶, em células hepatocitárias (HepG2), em que foi introduzido o gene deficiente através de um vector adenovírus. As mutações com perda da função induziram o aumento da expressão da LDLR e da sua internalização, sucedendo o inverso nas mutações com ganhos da função (que *in vivo* estão associadas a hipercolesterolemia). Adicionalmente, a transferência do meio de incubação das

células activadas para outro que continha células não activadas induzia rapidamente o mesmo tipo de resposta das células originais, sugerindo que a PCSK9 ou um factor dela dependente seria secretado no meio da cultura.

As implicações potenciais da diminuição continuada da PCSK9 no controlo da colesterolemia e das complicações ateroscleróticas, em particular por serem induzíveis pelas estatinas, justificam particular atenção e actuação clínica condizente⁶¹, decerto com grande desenvolvimento futuro.

Também alguns fibratos evidenciam propriedades cardioprotectoras lipídeo-independentes^{67, 68}. Estes efeitos pleiotrópicos foram atribuídos à modulação do receptor nuclear PPAR- α , o qual, à semelhança das diversas isoformas da SREBR^{58, 69}, exerce acção reguladora no metabolismo lipídico (no fígado e músculo) e na homeostasia da glicose⁷⁰. Este aspecto, que sai do âmbito do presente trabalho, será analisado noutra oportunidade.

Agradecimentos

É expresso à Sr^a D. Emília Alves o nosso reconhecimento pela cuidadosa e paciente preparação dactilográfica do presente texto.

REFERÊNCIAS

1. Endo A. – The discovery and development of HMG-CoA reductase inhibitors. *J. Lip. Res.* 1992; 33:1569-1582.
2. Goldstein G.L., Brown M.S. – The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. *Annu. Rev. Biochem.* 1977; 46:897-930.
3. Glagov S., Weisenberg E., Zarins C., Stankunavicius K., Kolettis G.J. – Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N. Engl. J. Med.* 1987; 316:1371-1375.
4. Tenenbaum A., Motro M., Fisman E.Z., Tanne D., Boyko V., Behar S. – Bezafibrate for the secondary prevention of myocardial infarction in patients with metabolic syndrome. *Arch Intern. Med.* 2005; 165:1154-1160.
5. Keech A., Simes R.J., Barter P., FIELD Study Investigators. – Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial. *Lancet* 2005; 366:1849-1861.
6. Bloomfield H.E. – The role of fibrates in a statin world. *Arch. Intern. Med.* 2006; 166:715-716.
7. Carlson L.A. – Nicotinic acid: the broad-spectrum lipid drug. A 50th anniversary review. *J. Intern. Med.* 2005; 258:94-114.
8. Pejic R.N., Lee D.F. – Hypertriglyceridemia. *J. Am. Board Fam. Med.* 2006; 19:310-316.
9. Cheung B.M., Lauder I.J., Lau C.P., Kumana C.R. – Meta-analysis of large randomized controlled trials to evaluate the impact of statins on cardiovascular outcomes. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2004; 57:640-651.
10. Herd J.A., Ballantyne C.M., Farmer J.A., Ferguson J.J.3rd, Jones P.H., West M.S., Gould K.L., Gotto A.M.Jr. – Effects of fluvastatin on coronary atherosclerosis in patients with mild to moderate cholesterol elevation. Lipoprotein and Coronary Atherosclerosis Study [LCAS]. *Am. J. Cardiol.* 1997; 80:278-286.
11. Vaughan C., Murphy M.B., Buckley B.M. – Statins do more than just lower cholesterol. *Lancet* 1996; 348:1079-1082.
12. Ridker P.M., Cannon C.P., Morrow D., Rifai N., Rose L.M., McCabe C.H., Pfeffer M.A., Braunwald E.; Pravastatin or Atrovastatin Evaluation and Infection-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 (PROVE IT-TIMI 22) Investigators – C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352:20-28.
13. Ehrenstein M.R., Jury E.C., Mauri C. – Statins for atherosclerosis – as good as it gets? *N. Engl. J. Med.* 2005; 352:73-75.
14. The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease (LIPID) Study Group. – Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a local range of initial cholesterol events. *N. Engl. J. Med.* 1998; 339:1349-1357.
15. Cannon C.P., Braunwald E., McCabe C.H., Rader D.J., Rouleau J.C., Belder R., Joyal S.V., Hill K.A., Pfeffer M.A., Skene A.M.; Pravastatin or Atrovastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 Investigators – Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350:1495-1504.
16. Horwich T.B., MacLellan W.R., Fonarow G.C. – Statin therapy is associated with improved survival in ischemic and non-ischemic heart failure. *J. Am. Cell. Cardiol.* 2004; 43:642-648.
17. Pfeffer M.A., Sacks F.M., Moye L.A., Brown L., Rouleau J.L., Hartley L.H., Rouleau J., Grimm K., Sestier F., Wiekemeyer W. et al. – Cholesterol and Recurrent Events: a secondary prevention trial for normolipidemic patients. Care Investigators. *Am. J. Cardiol.* 1995; 76(suppl.):98C-106C.
18. Pfeffer M.A., Sacks F.M., Moye L.A., East C., Goldman S., Nash D.T., Rouleau J.R., Rouleau J.L., Sussey B.A., Theroux P., Vanden Belt R.J., Braunwald E. – Influence of baseline lipids on effectiveness of pravastatin in the CARE Trial. Cholesterol and Recurrent Events. *J. Am. Cell. Cardiol.* 1999; 33:125-130.
19. Liao J.K. – Effects of statins on 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A reductase inhibition beyond low-density lipoprotein cholesterol. *Am. J. Cardiol.* 2005; 96:24F-33F.
20. Rikitake Y., Kawashima S., Takeshita S., Yamashita T., Azumi H., Yasuhara M., Nishi H., Inoue N., Yokoyama M. – Anti-oxidative properties of fluvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, contribute to prevention of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 2001; 154:87-96.
21. Frick M.H., Elo O., Haapa K., Heinonen O.P., Heinsalmi P., Helo P., Huttunen J.K., Kaitaniemi P., Koskinen P., Manninen V. – Helsinki Heart Study primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia. *N. Engl. J. Med.* 1987; 317:1237-1245.
22. Rubins H.B., Robins S.J., Collins D., Fye C.L., Anderson J.W., Elam M.B., Faas F.H., Linares E., Schaefer E.J., Schechtman G., Wilt T.J., Wittes J. – Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high density lipoprotein cholesterol; Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Intervention Trial Study Group. *N. Engl. J. Med.* 1999; 341:410-418.
23. Azen S.P., Mack W.J., Cashin-Hemphill L., LaBree L., Shircore A.M., Selzer R.H., Blackenhorn D.H., Hodis H.N. – Progression of coronary artery disease predicts clinical coronary events. Long-term follow-up from the Cholesterol Lowering Atherosclerosis Study. *Circulation* 1996; 93:34-41.
24. Rosenson R.S., Tangney C.C. – Antiatherothrombotic properties of statins: implications for cardiovascular event reduction. *J. Am. Med. Ass.* 1998; 279:1643-1650.
25. Popma JJ, Sawyer M., Selwyn A.P., Kinlay S – Lipid-lowering therapy after coronary revascularization. *Am. J. Cardiol.* 2000; 86:18H-28H.
26. Little W.C., Downes T.R., Applegate R.J. – The underlying coronary lesion in acute myocardial infarction: implications for coronary angiography. *Clin. Cardiol.* 1991; 14:868-874.
27. Mintz G.S., Painter J.A., Pichard A.D., Kent R.V., Satler L.F., Popma J.J., Chuang Y.C., Bucher T.A., Sokolowicz L.E., Leon M.B. – Athero-

- rosclerosis in angiographically "normal" coronary artery reference segments: an intravascular ultrasound study with clinical correlations. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1995; 25:1479-1485.
28. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group – Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994; 344:1383-1389.
 29. Shepherd J., Cobbe S.M., Ford I., Isles C.G., Lorimer A.R., MacFarlane P.W., McKillop J.H., Packard C.J. – Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolaemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N. Engl. J. Med.* 1995; 333:1301-1307.
 30. Topol E.J., Nissen S.E. – Our preoccupation with coronary luminology. The dissociation between clinical and angiographic findings in ischemic heart disease. *Circulation* 1995; 92:2333-2342.
 31. MAAS Investigators. – Effect of simvastatin on coronary atheroma: the Multicentre Anti-Atheroma Study (MAAS). *Lancet* 1994; 344:633-638.
 32. Blumenthal R.S., Kapur N.K. – Can a potent statin actually regress coronary atherosclerosis? *J. Am. Med. Assoc.* 2006; 295:1583-1584.
 33. Treasure C.B., Klein J.L., Weintraub W.S., Talley J.D., Stillabower M.E., Kosinski A.S., Zhang J., Boccuzzi S.J., Cedarholm J.C., Alexander R.W. – Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N. Engl. J. Med.* 1995; 332:481-487.
 34. Dupuis J. – Mechanisms of acute coronary syndromes and the potential role of statins. *Atheroscler. Suppl.* 2001; 2:9-14.
 35. Heinke S., Schwartz G., Figulla H.R., Heineemann S.H. – The influence of statins on the free intracellular calcium concentration in human umbilical vein endothelial cells. *BMC Cardiovasc. Disorders* 2004; 4:4.
 36. Blake G.J., Ridker P.M. – Are statins anti-inflammatory? *Curr. Control Trials Cardiovasc. Med.* 2000; 1:161-165.
 37. Bonetti P.O., Lerman L.O., Napoli C., Lerman A. – Statin effects beyond lipid lowering – are they clinically relevant? *Eur. Heart. J.* 2003; 24:225-248.
 38. Edwards P.A., Ericsson J. – Sterols and isoprenoids: signalling molecules derived from the cholesterol biosynthetic pathway. *Annu. Rev. Biochem.* 1999; 68:157-185.
 39. Weis M., Heeschen C., Glassford A.J., Cooke J.P. – Statins have biphasic effect on angiogenesis. *Circulation* 2002; 105:739-745.
 40. Laufs U., La Fata V., Plutzky J., Liao J.K. – Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG-CoA reductase inhibitors. *Circulation* 1998; 97:1129-1135.
 41. Moulton K.S., Heller E., Konerding M.A., Flynn E., Palinski W., Folkman J. – Angiogenesis inhibitors endostatin or TNP-470 reduce internal neovascularisation and plaque growth in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 1999; 99:1726-1732.
 42. Jang J.J., Ho, H.K., Kwan H.H., Fajardo L.F., Cooke J.P. – Angiogenesis is impaired by hypercholesterolemia: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2000; 102:1414-1419.
 43. Achan V., Ho H.K., Heeschen C., Stuehlinger M., Jang J.J., Kimoto M., Vallance P., Cooke J.P. – ADMA regulates angiogenesis: genetic and metabolic evidence. *Vasc. Med.* 2005; 10:7-14.
 44. Girona J., La Ville A.E., Sola R., Plana N., Masana L. – Simvastatin decreases aldehyde production derived from lipoprotein oxidation. *Am. J. Cardiol.* 1999; 83:846-851.
 45. Wagner A.H., Köhler T., Rükschloss U., Just I., Hecker M. – Improvement of nitric oxide-dependent vasodilation by HMG-CoA reductase inhibitors through attenuation of endothelial superoxide anion formation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000; 20:61-69.
 46. Pliquett R.U., Cornish K.G., Peuler J.D., Zucker I.H. – Simvastatin normalizes autonomic neural control in experimental heart failure. *Circulation* 2003; 107:2493-2498.
 47. Hayashidani S., Tsutsui H., Shiomi T., Sulmatsu N., Kinugawa S., Ide T., Wen J., Takeshita A. – Fluvastatin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor, attenuates left ventricular remodeling and failure after experimental myocardial infarction. *Circulation* 2002; 105:868-873.
 48. Dechend R., Fiebeler A., Park J.K., Muller D.N., Theur J., Mervaala E., Bieringer M., Gulba D., Dietz R., Luft F.C., Haller H. – Amelioration of angiotensin II – induced cardiac injury by a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor. *Circulation* 2001; 104:576-581.
 49. Lefer D.J. – Statins as potent anti-inflammatory drugs. *Circulation* 2002; 106:2041-2042.
 50. O'Driscoll G., Green D., Taylor R.R. – Simvastatin, an HMG-coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month. *Circulation* 1997; 95:1126-1131.
 51. Williams J.K., Sukhova G.K., Herrington D.M., Libby P. – Pravastatin has cholesterol-lowering independent effects on the arterial wall of atherosclerotic monkeys. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1998; 31:684-691.
 52. Kureishi Y., Luo Z., Shiojima I., Bialik A., Fulton D., Lefer D.J., Sessa W.C., Walsh K. – The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. *Nat. Med.* 2000; 6:1004-1010.
 53. Kwak B., Mulhaupt F., Myit S., Mach F. – Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat. Med.* 2000; 6:1399-1402.
 54. Rosenson R.S., Tangney C.C., Casey L.C. – Inhibition of proinflammatory cytokine production by pravastatin. *Lancet* 1999; 353:983-984.
 55. Nissen S.E., Tuzcu E.M., Schoenbagen P., Crowe T., Sasiela W.J., Tsai J., Orszam J., Magorien R.D., O'Shaughnessy C., Ganz P.; Reversal of Atherosclerosis with Aggressive Lipid Lowering (REVERSAL) Investigators – Statin therapy, LDL cholesterol, C-reactive protein, and coronary artery disease. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352:29-38.
 56. Ridker P.M., Rifai N., Pfeffer M.A., Sacks F.M., Moyer L.A., Goldman S., Flaker G.C., Braunwald E. – Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infar-

- tion in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation* 1998; 98:839-844.
57. Ridker P.M. – High-sensitivity C-reactive protein, inflammation, and cardiovascular risk: from concept to clinical practice to clinical benefit. *Am. Heart J.* 2004; 148(1 Suppl):S19-S26.
 58. Eberlé D., Hegarty B., Bossard P., Ferré P., Foufelle F. – SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis. *Biochimie* 2004; 86:839-848.
 59. Maxwell K.N., Fisher E.A., Breslow J.L. – Overexpression of PCSK9 accelerates the degradation of the LDLR in a post-endoplasmic reticulum compartment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005; 102:2069-2074.
 60. Seidah N.G., Benjannet S., Wickham L., Marcinkiewicz J., Jasmin S.B., Stifani S., Basak A., Prat A., Chretien M. – The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): liver regeneration and neuronal differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003; 100:928-933.
 61. Tall A.R. – Protease variants, LDL and coronary heart disease. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354:1310-1311.
 62. Rashid S., Curtis D.E., Garuti R., Anderson N.N., Bashmakov Y., Ho Y.K., Hammer R.E., Moon Y.A., Horton J.D. – Decreased plasma cholesterol and hypersensitivity to statins in mice lacking PCSK9. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*; 2005; 102:5374-5379.
 63. Basak A. - Inhibitors of proprotein convertases. *J Mol Med.* 2005; 83:844-855.
 64. Dubuc G., Chamberland A., Wassef H., Davignon J., Seidah N.G., Bernier L., Prat A. – Statins upregulate PCSK9, the gene encoding the proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase-1 implicated in familial hypercholesterolemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004; 24:1454-1459.
 65. Cohen J.C., Boerwinkle E., Mosley T.H., Jr., Hobbs H.H. – Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354:1264-1272.
 66. Cameron J., Holla O.L., Ranheim T., Kulseth M.A., Berge K.E., Leren T.P. – Effect of mutations in the PCSK9 gene on the cell surface LDL receptors. *Hum. Mol. Genet.* 2006; 15:1551-1558.
 67. Otvos J.D., Collins D., Freedman D.S., Shalurova I., Schaefer E.J., McNamara J.R., Bloomfield H.E., Robins S.J. – Low-density lipoprotein and high-density lipoprotein particle subclasses predict coronary events and are favourably changed by gemfibrozil therapy in the Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Intervention Trial. *Circulation* 2006; 113:1556-1563.
 68. Barter P.J., Rye K.A. – Cardioprotective properties of fibrates. Which fibrate, which patients, what mechanisms? *Circulation* 2006; 113:1553-1555.
 69. Shimano H. – Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs): transcriptional regulators of lipid synthetic genes. *Prog. Lipid Res.* 2001; 40:439-452.
 70. Lefebvre P, Chinetti G, Fruchart J.-C., Staels B. – Sorting out the roles of PPAR alpha in energy metabolism and vascular homeostasis. *J. Clin. Invest.* 2006; 116:571-580.